



**LUIZA MARIA AMARAL FROSSARD DE PAULA**

**USO DE REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS NO CONTROLE DE  
FUNGOS EM SALAMINHOS**

**LAVRAS - MG  
2021**

**LUIZA MARIA AMARAL FROSSARD DE PAULA**

**USO DE REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS NO CONTROLE DE FUNGOS EM  
SALAMINHOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos para obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Eduardo Mendes Ramos

Orientador

**LAVRAS – MG  
2021**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Paula, Luiza Maria Amaral Frossard de.

Uso de revestimentos comestíveis no controle de fungos em  
salaminhos / Luiza Maria Amaral Frossard de Paula. - 2021.

67 p.

Orientador(a): Eduardo Mendes Ramos.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Ciência dos Alimentos. 2. Produtos cárneos. 3. Fungo em  
alimentos. I. Ramos, Eduardo Mendes. II. Título.

**LUIZA MARIA AMARAL FROSSARD DE PAULA**

**USO DE REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS NO CONTROLE DE FUNGOS EM  
SALAMINHOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 6 de agosto de 2021.

Dra. Alcineia de Lemos Souza Ramos UFLA

Dr. Paulo Rogério Fontes UFV

Dr. Eduardo Mendes Ramos  
Orientador (UFLA)

**LAVRAS – MG  
2021**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à minha família, minha base, meu porto seguro.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Eduardo Mendes Ramos, pela oportunidade de crescimento profissional. Obrigada pelos ensinamentos, paciência e por acreditar no meu trabalho.

À Prof. Dra. Alcinéia de Lemos Souza Ramos pelas colaborações, disponibilidade em ajudar e participar da banca.

Ao professor Paulo Rogério pela gentileza em participar da banca, colaborando e enriquecendo ainda mais o trabalho.

À Hans Knudsen, da SACCO Brasil, por disponibilizar cultura de fungos e natamicina para a realização do projeto.

À Universidade Federal de Lavras, em especial, ao Departamento de Ciência dos Alimentos, pela oportunidade da formação acadêmica.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, pela concessão da bolsa de Pesquisa.

Aos amigos do Laboratório de Carnes, Maira, Bruna, Johnathan, Marcelo, Lorrany, Adelaide, Marielle, Ana Paula, Angélica, Douglas e Lorena. Obrigada pela amizade e convivência harmoniosa diariamente.

À amiga feita no DCA, Ana Paula Lima, pelo incentivo e ombro amigo.

Às amigas feitas no apto. 202. Lugar onde tive apoio como se fosse família.

Por fim, agradeço a todos aqueles, que de alguma forma, contribuíram para a concretização deste trabalho/sonho.

Muito obrigada.

*“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”*  
*(José de Alencar)*

## RESUMO

Durante a maturação de produtos cárneos fermentados, o ambiente se torna propício para o crescimento de fungos na superfície do produto, que muitas vezes pode ser considerado indesejável e não aceito pelos consumidores, sendo necessária a utilização de antifúngicos industrialmente na produção, permitidos pela legislação brasileira, apesar de relatos de serem prejudiciais à saúde. O presente trabalho teve o objetivo de avaliar os efeitos do uso de revestimentos e antifúngicos na superfície de salaminhos sobre as etapas de fermentação e secagem e nas características do produto final. Para tal, foram elaborados salames com revestimentos de quitosana (QUIT), alginato (ALG), alginato + sorbato de potássio (AL+SO), sorbato de potássio (SORB) e natamicina (NATA), sendo as análises realizadas nos tempos 0, 7, 14 e 21 dias. As modificações durante a maturação do produto foram avaliadas por análises físicas e químicas, enquanto os efeitos antifúngicos dos tratamentos por meio de análise da imagem digital e pela análise sensorial pelo teste de Perfil Descritivo Otimizado (PDO). Durante a maturação, os tratamentos não influenciaram ( $P>0,05$ ) as perdas de massa, pH, acidez, teor residual de nitrito, oxidação lipídica, cor interna, textura e umidade. Para a quantificação do crescimento fúngico, a análise digital correlacionada com a análise sensorial realizada pelo método de PDO, mostraram que os tratamentos NATA e SORB obtiveram maior eficiência antifúngica no salaminho e os revestimentos QUIT e ALG não foram efetivos contra o fungo *Penicillium nalgiovense*.

**Palavras-chave:** *Penicillium nalgiovense*. Quitosana. Alginato. Sorbato. Natamicina. PDO.

## ABSTRACT

During the maturation of fermented meat products, the environment becomes conducive to the growth of fungi in the surface of the product. This might often be considered undesirable and not accepted by consumers, which creates the need for the industrial use of antifungal in the production. These are allowed by the Brazilian legislation despite reports that they are harmful to health. This study aimed to evaluate the effects of the use of coatings and antifungal in the surface of dry sausages in the stages of fermentation and drying, and in the characteristics of the final product. For that, we elaborated dry sausages with the coating of chitosan (QUIT), alginate (ALG), alginate + potassium sorbate (AL+SO), potassium sorbate (SORB), and natamycin (NATA). The analyses were made in times of 0, 7, 14 and 21 days. The changes during the maturation of the product were evaluated by physicochemical analysis, and the antifungal effects of the treatments by digital image analysis and by sensorial analysis of the Optimized Descriptive Profile (ODP). During maturation, the treatments did not influence on ( $P>0.05$ ) the losses of mass, pH, acidity, nitrite residual content, lipid oxidation, internal colour, texture, and humidity. For the quantification of fungi growth, digital analysis correlated to sensorial analysis performed by the DOP method have showed that the NATA and SORB treatments have obtained higher antifungal efficiency in dry sausages, and the QUIT and SORB coatings were not effective against the *Penicillium nalgiovense* fungi.

**Keywords:** *Penicillium nalgiovense*. Chitosan. Alginate. Sorbate. Natamycin. ODP.

## LISTRA DE FIGURAS

Figura 1 - Etapas de produção de salaminho.....	17
Figura 2 - Questionário pela plataforma <i>Google Forms</i> .....	36
Figura 3 – Imagem de referência utilizada no formulário online.....	37
Figura 4 - Perda de massa (PM) dos salaminhos durante o período de maturação (dias; D).....	41
Figura 5 - Valores médios da umidade (A), atividade de água (B), pH (C) e acidez (D) dos salaminhos durante a maturação.....	42
Figura 6 - Valores médios de índice TBARS (A) e nitrito residual (B) durante 21 dias de maturação dos salaminhos.....	44
Figura 7 - Notas dos salames submetidos à diferentes tratamentos quanto à quantidade de fungo superficial nos tempos dois e sete dias de maturação.....	46
Figura 8 - Média ( $\pm$ desvio padrão) dos índices de cor da superfície dos salames, submetidos à aplicação dos tratamentos, obtidas pela análise no ColorGrab pelas duas cores em maior proporção nos tempos 2 e 7 dias de maturação.....	48

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	14
2.1 Salame .....	14
2.1.1 Salaminho.....	16
2.2 Fungos em alimentos.....	20
2.2.1 Desenvolvimento de fungos na elaboração de salames.....	21
2.2.2 Principais antifúngicos utilizados industrialmente.....	24
2.2.3 Antifúngicos alternativos.....	25
2.3 Revestimento comestíveis .....	26
2.3.1 Revestimentos de alginato.....	27
2.3.2 Revestimentos de quitosana.....	28
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
3.1 Elaboração dos salames.....	31
3.2 Tratamentos .....	31
3.3 Análises .....	34
3.3.1 Análise de pH .....	34
3.3.2 Perda de massa .....	34
3.3.3 Quantificação de fungos na superfície .....	35
3.3.4 Umidade e atividade de água.....	37
3.3.5 Acidez titulável.....	37
3.3.6 Oxidação lipídica.....	38
3.3.7 Teor de nitrito residual .....	38
3.3.8 Cor instrumental .....	39
3.3.9 Textura instrumental.....	39
3.3.10 Gradiente de umidade interna.....	39
3.4 Análise estatística .....	40
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	41
4.1 Avaliação durante a maturação.....	41
4.1.1 Análises físicas e químicas .....	41
4.1.2 Crescimento dos fungos .....	44

4.2 Avaliação dos salames.....	48
5 CONCLUSÕES.....	51
REFERÊNCIAS.....	52
ANEXOS.....	62

## 1 INTRODUÇÃO

O salame é um embutido feito a partir de carne suína ou, suína e bovina, moídas, que passam por um processo de fermentação láctica e secagem durante a maturação, que aumenta a qualidade sensorial e vida útil do produto. A etapa de maturação é a que exige maior atenção durante o processo, devido a necessidade do controle da umidade e da temperatura da câmara, que influenciam diretamente na secagem e qualidade do produto. Nesta etapa o desenvolvimento de fungos na superfície dos salames é uma consequência natural das condições de processo.

O desenvolvimento de fungos durante a maturação é considerado um fator de qualidade, pois auxiliam no controle da perda de umidade durante o processo de secagem e contribuem com o desenvolvimento de sabores desejáveis no produto. No entanto, o desenvolvimento de fungos indesejáveis pode ocorrer e, além da possibilidade de alterar a aparência e sabor característico, pode representar um problema de saúde pública pelas toxinas que podem produzir. A falta de um controle efetivo das condições ambientais das câmaras de maturação, especialmente a temperatura e a umidade relativa do ar, favorece o desenvolvimento de uma microbiota fúngica indesejável.

O uso de culturas fúngicas iniciadoras no processo previne a presença de fungos indesejáveis, garantindo a segurança microbiológica e permitindo a obtenção de um produto mais uniforme com relação ao sabor, aroma e cor. Fungos pertencentes ao gênero *Penicillium nalgiovense*, com formação de colônias brancas, são os mais usados como cultura iniciadoras em salame. No entanto, para o consumidor brasileiro, a presença de fungos na superfície de salames não é uma característica de qualidade desejável.

No Brasil, ainda existem muitas indústrias cujo controle do processo de maturação é deficiente. Para controlar o desenvolvimento de fungos na superfície de salames, a legislação brasileira permite o uso de antifúngicos. Os mais utilizados são a natamicina e o sorbato de potássio. Entretanto, esses compostos possuem registros de serem tóxicos. Com a crescente preocupação do consumidor com o uso de ingredientes sintéticos, a indústria tem procurado novas tecnologias para a prevenção de fungos nestes produtos.

Uma alternativa, como barreira antimicrobiana e aumento da vida útil do produto, é a utilização de revestimentos comestíveis e naturais, que dentre suas propriedades funcionais há a barreira ao vapor de água, retenção de compostos aromáticos e a possibilidade de incorporação de aditivos.

O alginato, derivado de algas marinhas marrons, é um filme comestível eficaz mais amplamente utilizado. Revestimentos de alginato de sódio são eficazes na redução da perda de água e podem incorporar diferentes agentes ativos, como antioxidantes naturais e antimicrobianos. Já a quitosana, é um polissacarídeo catiônico que é derivado da desacetilação de quitina, um componente principal dos exoesqueletos de crustáceos. Devido à sua não toxicidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade, além de atividade antimicrobiana intrínseca contra bactérias e fungos, a quitosana é amplamente utilizada como agente antimicrobiano.

A quitosana, como uma boa barreira contra a oxigenação, tem a capacidade de formar filme, sendo natural e comestível, já o alginato, forma um revestimento no salame, auxiliando no processo de secagem, controlando a saída de água, evitando a má formação do produto por uma secagem irregular.

Assim, será feita a avaliação dos filmes de quitosana e alginato, como também dos antifúngicos natamicina, sorbato de potássio, e o sorbato de potássio com aplicação de alginato, comparando assim a efetividade de cada tratamento na inibição do fungo *Penicillium nalgiovense*, o auxílio deles na secagem dos salaminhos, além de uma análise sensorial correlacionando seus resultados com o da inibição dos fungos em todos os tratamentos.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Salame

O salame é um embutido cru, fermentado, maturado e dessecado que poderá ser ou não defumado. É um produto cárneo industrializado obtido de carne suína ou suína e bovina moídas, adicionado de toucinho, ingredientes, embutido em envoltórios naturais ou artificiais (BRASIL, 2000). Mudanças bioquímicas, físicas, microbiológicas e sensoriais são resultados da produção de salame que ocorrem em uma mistura de carne durante a maturação em condições de temperatura e umidade relativa (UR) do ar controladas (CASABURI *et al.*, 2007).

As características físicas e químicas dos salames, além de fornecer informações nutricionais, também são utilizadas como um dos parâmetros para avaliar a qualidade do produto (DALLA SANTA, 2008).

Os produtos, fermentados e maturados, são alimentos tradicionais produzidos e consumidos em diferentes áreas do mundo. Pelos altos requisitos dos consumidores, são produtos seguros e de alta qualidade, marcando sua importância no mercado (FAO, 2008; ASEFA *et al.*, 2010).

São preservados num primeiro momento pela conversão dos açúcares em ácidos orgânicos, com consequente redução do pH, e subsequente redução da atividade de água pela secagem, estendendo a segurança e vida útil do produto final (TERRA, 1998; MORENO *et al.*, 1999).

A maior parte das transformações bioquímicas e microbiológicas ocorre na etapa de fermentação, devido à participação de enzimas microbianas e da própria carne, gerando as características sensoriais desejadas como cor, sabor, aroma, textura e vida útil (TERRA, 1998).

No início do período da secagem, por volta do terceiro dia na sala de maturação, o ácido láctico vai se transformando em lactato, tornando-se mais agradável e menos azedo (RAMOS, 2005).

As condições de temperatura e umidade nas etapas de fermentação e secagem durante o processamento são muito importantes, pois contribuem para o desenvolvimento da microbiota e perda de água ideal do produto (TERRA, 1998).

A fermentação é um dos processos mais antigos utilizados como forma de conservação de alimentos, porém, no passado, era resultado natural da microbiota presente na carne e no ambiente.

Atualmente, sabe-se que a fermentação sem controle pode produzir produtos com menor qualidade e até mesmo inseguros para o consumo (ESSID *et al.*, 2007; CIROLINI *et al.*, 2010).

A fermentação láctica é uma das mais importantes fermentações da indústria de alimentos, que além de atuar na conservação dos alimentos, também confere características sensoriais agradáveis. Todos os microrganismos envolvidos neste tipo de fermentação são bactérias, que produzem predominantemente ácido láctico a partir de açúcares (PRADO *et al.*, 2000).

Durante a fermentação, há a utilização de culturas *starters*, o que permite maior uniformidade entre os produtos, menor tempo de fermentação e boa conservação. Normalmente são utilizadas as bactérias lácticas que promovem a segurança e estabilidade do produto e cultura de *Staphylococcus coagulase* negativa capaz de estabilizar a cor, prevenir a rancificação e realçar compostos aromáticos dos produtos cárneos (VURAL, 1998; DROSINOS *et al.*, 2005; CIROLINI *et al.*, 2010).

Também é possível a utilização da glucono-delta-lactona (GDL), que é uma substância neutra e, segundo a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 272, de 2019, é classificada como acidulante. Quando adicionada à mistura de carnes, é hidrolisada e em ácido glucônico, promovendo a diminuição do pH do salame. O uso de GDL permite o início e a padronização do processo de acidificação, logo após a sua adição na massa do produto. Altas concentrações de GDL podem afetar negativamente o sabor e a consistência dos embutidos (HANSEN, 2001).

Após a etapa de fermentação, ainda na câmara de maturação, ocorre a secagem do embutido, que reduz a atividade de água a níveis capazes de inibir a multiplicação de microrganismos patogênicos e deterioradores (TERRA, 1998).

A diminuição do pH ocorrida pela fermentação também tem efeito positivo na secagem, uma vez que se aproxima do ponto isoelétrico das proteínas musculares, reduzindo a capacidade de retenção de água pela carne, com conseqüente redução na atividade de água (MENDES *et al.*, 2014). Dependendo do tipo do salame, estes podem perder cerca de 30 a 40% do seu peso inicial.

O controle da umidade relativa do ar na câmara de maturação é decisivo, principalmente na secagem do produto, uma vez que este deve ser gradual e uniforme (TERRA, 1998; RAMOS, 2005).

Quando o fluxo de água é incorreto, ocorre o defeito conhecido como anel de desidratação, ou seja, quando o fluxo do interior do embutido para o meio é muito alto, podendo ocorrer o

dessecamento excessivo na superfície do salame, formando uma crosta seca que impede a saída de água do interior (FREY, 1983; RAMOS, 2005).

### 2.1.1 Salaminho

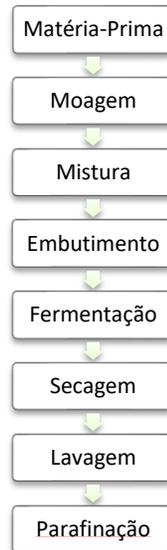
De acordo com a origem ou o processo de obtenção, a legislação brasileira, através da Instrução Normativa N° 22, de 31/07/2000, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), designa nove tipos de salames (Salame, Salaminho, Salaminho tipo Alemão, Salame tipo Calabrês, Salame tipo Friolano, Salame tipo Napolitano, Salame tipo Hamburguês, Salame tipo Italiano, Salame tipo Milano), sendo que a diferenciação entre eles está no tipo e na quantidade de matéria-prima, na granulometria da carne e do toucinho, na presença de condimentos e na composição química final do produto.

Internacionalmente, os salames são classificados em dois grandes grupos de acordo com a tecnologia de fabricação e o pH final do produto. Os salames do norte da Europa são elaborados com carne bovina e suína, submetidos a uma fermentação de curta duração e rápido abaixamento de pH. Os salames do sul da Europa ou do Mediterrâneo apresentam em sua formulação, predominantemente, carne suína. Sua fermentação é de longa duração, os valores de pH são sempre superiores a 5,0, os quais juntamente com a adição de especiarias, conferem ao produto aroma e sabor envolventes. O Salaminho fabricado no Brasil, enquadra-se no segundo grupo, pois é, predominantemente, obtido a partir de carne suína, maturado por um período aproximado de 30 dias, apresentando aroma e sabor suaves e pH em torno de 5,4 (TERRA, 1998; ZANARDI *et al.*, 2004).

O salaminho deve ser produzido a partir de carne suína, mínimo de 60%, e deve ter granulometria entre 6 e 9 mm; a atividade de água máxima de 0,90, umidade máxima de 35%, gordura máxima de 32%, proteína mínima de 25% e carboidrato máximo de 4% (BRASIL, 2000).

De forma geral, o processamento de salaminho segue o fluxograma da Figura 1. O início do processo ocorre com a seleção e preparo dos ingredientes. O emprego de matérias-primas e ingredientes de boa procedência são imprescindíveis à qualidade do produto.

Figura 1 - Etapas de produção de salaminho.



Fonte: Da autora (2021).

A carne suína utilizada deverá ser de animais jovens, com coloração mais clara e com proteínas com propriedades de melhor ligação à massa e, juntamente com a carne bovina e gordura suína, são cortadas e moídas em granulometria de 6 a 9 mm, sendo a massa cárnea embutida em tripas de calibre de até 50 mm. A gordura empregada na elaboração de embutidos fermentados é predominantemente a gordura subcutânea de suínos (toucinho) (AGUIAR, 2000).

A qualidade microbiológica final dos salames é fortemente influenciada pelas condições microbiológicas da carne e do toucinho, sendo que este último não sofre ação significativa da fermentação, e aos cuidados higiênicos-sanitários em todas etapas do processo desde o abate até os utensílios utilizados, evitando a contaminação (DEGENHARDT; SANT'ANNA, 2007).

O sal, cloreto de sódio (NaCl), desempenha um papel importante na textura e aroma dos produtos cárneos reestruturados, devido à solubilização das proteínas miofibrilares e atuação como um pró-oxidante nos sistemas cárneos, ativando componentes que aceleram a auto oxidação dos lipídeos e interagindo com os tecidos da carne produzindo compostos aromáticos desejáveis (ORDÓÑEZ, 2005).

Já o nitrito, como principal agente de cura em produtos curados, tem os efeitos resumidos em: formação da cor vermelha característica; inibição da multiplicação de bactérias patogênicas,

especialmente o *Clostridium botulinum*; contribuição para o desenvolvimento de sabor típico de carne curada e retardamento da rancidez oxidativa (MARCO *et al.*, 2006).

O nitrato atua como fonte de nitrito, permitindo que a carne mantenha um nível de nitrito eficaz para sua conservação. O nitrato é reduzido a nitrito mediante um processo bacteriano, mas para que a quantidade reduzida seja significativa, é necessário um número de bactérias razoavelmente alto, que pode ser prejudicial aos produtos cárneos curados e dificilmente sabe-se da quantidade de nitrito que pode se formar. A tolerância ao nitrito varia amplamente entre diferentes grupos de bactérias, existindo diversas explicações das propriedades bacteriostáticas do nitrito (ORDÓÑEZ, 2005).

No entanto, o uso de compostos nitrosos potencialmente tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos está relacionado com a formação de compostos N-nitrosos, como a N-nitrosamina (HOUSER *et al.*, 2003).

No Brasil, a quantidade residual máxima de nitrito, expressa como nitrito de sódio, permitida para produtos curados é de 150 ppm. Sua redução, no entanto, é limitada pelos riscos relativos ao desenvolvimento do *Clostridium botulinum* (BREWER, 2004).

Apesar dos conservantes serem permitidos para utilização em alimentos e serem seguros, teores de nitrato e nitrito acima de 300 mg/kg de peso corporal são considerados tóxicos ao ser humano e pode ocasionar inúmeros problemas de saúde, bem como ser até mesmo letal (PIERSON *et al.*, 1983).

Os riscos mais evidentes da alta ingestão de nitrito são devido a incidência de metaemoglobinemia no sangue e a formação de substâncias denominadas nitrosaminas (GUIMARÃES, 2019).

O açúcar também é um ingrediente do processamento, proporcionando aroma à carne curada e permitindo o desenvolvimento de algumas bactérias desejáveis, produtoras do aroma. O açúcar evita o salgamento excessivo, moderando o sabor, ao mesmo tempo em que ajuda na diminuição da umidade (ORDÓÑEZ, 2005). Durante a fermentação, as bactérias irão consumir o açúcar presente na massa, e produzirão o ácido láctico, que abaixará o pH até o adequado para o início da secagem.

A etapa de mistura consiste em preparar a massa das carnes e do toucinho moídos na granulometria desejada e misturar com os demais componentes da formulação, cloreto de sódio, nitrito e nitrato, o açúcar e a *cultura starter*. Esta etapa pode ser conduzida de duas formas: em

*cutter*, que é onde a moagem e mistura dos ingredientes ocorre simultaneamente ou consecutivamente, ou então as matérias-primas cárneas são previamente moídas na granulometria desejável e depois os componentes são homogeneizados em misturadeira (RAMOS, 2005).

O próximo passo da produção de salaminho é o embutimento. Tradicionalmente, a massa é embutida em tripa de colágeno com diâmetro de até 50 mm. Independentemente do tipo, a tripa deve permitir a saída de água e a retração do produto durante a secagem. (VARNAM; SUTHERLAND, 1998).

Após o embutimento, o produto é levado para a câmara de maturação, ambiente controlado, onde ocorrerá a fermentação e secagem por um período de aproximadamente 30 dias. A temperatura e umidade relativa do ar da câmara podem ser controladas como descritas na Tabela 1.

Tabela 1- Controle da temperatura e umidade relativa (UR) na câmara de maturação

<b>Tempo (dias)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>UR (%)</b>
1	25	95
2	24	93
3	23	90
4	22	85
5	21	82
6	20	75
7	18	75
↓	↓	↓
30	18	75

Fonte: Ramos (2005).

Após o processo de maturação e a finalização, há a imersão rápida do salame para revestimento externo em uma camada protetora com cera parafinada (50% cera abelha e 50% parafina), garantindo a qualidade, aparência e durabilidade (RAMOS, 2005).

Devido às condições de maturação, alta temperatura e alta umidade, pode ocorrer a proliferação de fungos na camada externa do salame.

## 2.2 Fungos em alimentos

Constituindo um grande grupo de seres vivos, os fungos podem ser encontrados em quase todos os nichos ecológicos. Seres eucariontes heterotróficos, altamente eficientes na degradação de ampla gama de substratos (AZEVEDO, 1997). Em alimentos, os fungos filamentosos são os mais estudados, por serem produtores de micotoxinas e metabólitos secundários, o que se caracterizam pela elevada toxicidade em animais e seres vivos.

Produtores de micotoxinas, os fungos filamentosos em sua maioria por espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* são relevantes pelo envolvimento com contaminação de alimentos e produção de micotoxinas (IARC, 1993). Ocorrem naturalmente em alimentos agrícolas pré e pós-colheita, e por influência de condições químicas da matriz, umidade, temperatura e pH (BELLÍ *et al.*, 2004).

Para ser definido como micotoxina, o metabólito secundário deve-se satisfazer os critérios de ser causador de doenças em animais ou homens, ocorrer na natureza, ser produzido por fungos e ser agudo ou cronicamente tóxico (PASTORE; MACEDO, 2004).

De acordo com Pitt e Hocking (2009), os principais fatores que afetam a multiplicação de fungos em alimentos são desencadeados pela disponibilidade de água livre (atividade de água), o efeito de solutos específicos, a concentração de íons hidrogênio (pH), a temperatura do processo e de estocagem, a atmosfera de armazenamento, a consistência do alimento e as características nutricionais, influenciando, assim, diretamente nas características intrínsecas dos alimentos.

A deterioração fúngica causa grandes impactos nos alimentos, podendo diminuir o poder germinativo, alteração no sabor e aroma, descoloração e mudança química e nutricional (PASTER; BULLERMAN, 1988).

A produção de micotoxinas nos alimentos são, atualmente, a maior preocupação em relação aos fungos nos alimentos, podendo apresentar grandes prejuízos à saúde de animais e seres humanos (BRITO *et al.*, 2015).

Em produtos cárneos, as aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 são consideradas algumas das micotoxinas mais importantes (PIZZOLATO MONTANHA *et al.*, 2018). Aflatoxinas (AFs) são metabólitos fúngicos altamente tóxicos, teratogênicos, mutagênicos e cancerígenos, sendo a aflatoxina B1 (AFB1) a mais comum e com maior potencial toxigênico (IARC, 1993; ATHERSTONE *et al.*, 2014).

As AFs são produzidos por fungos do gênero *Aspergillus*, principalmente pelas espécies *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* (JAGER *et al.*, 2013; ATHERSTONE *et al.*, 2014), *Aspergillus parvisclerotigenus* e *Aspergillus minisclerotigenes*, (UDOMKUN, PATCHIMAPORN *et al.*, 2017) e menos comumente por *Aspergillus nomius* (KURTZMAN *et al.*, 1987; UDOMKUN, P. *et al.*, 2017). Estes fungos estão distribuídos por todo o mundo e podem se multiplicar em uma variedade de alimentos (JAGER *et al.*, 2013).

Além das AFs, a ocratoxina A (OTA) é uma importante micotoxina que foi encontrada em carnes curadas (VÖLKEL, 2011).

Espécies de *Aspergillus*, como *A. carbonarius*, *A. westerdijkiae*, *A. steynii*, *A. niger* e *A. ochraceus* e o *Penicillium*, *P. verrucosum* e *P. nordicum* são os principais responsáveis pela ocorrência de ocratoxina em alimentos (SCHMIDT-HEYDT *et al.*, 2011).

A OTA pode ser transferida de alimentos contaminados com micotoxinas administrados aos porcos e, posteriormente, do consumo dessa carne por seres humanos (LUSKY *et al.*, 1995), ou por contaminação direta do fungo nas camadas externas da carcaça (IACUMIN *et al.*, 2011).

### **2.2.1 Desenvolvimento de fungos na elaboração de salames**

A multiplicação de fungos na superfície de salames é um grande desafio para as indústrias de processamento de carnes, visto que limitam a troca de massa entre o produto e a câmara de maturação. Com a redução da saída de água, o produto demora mais para atingir os limites de atividade de água estipulados. A presença de fungo é consequência natural do seu processo tecnológico de fabricação (BRASIL, 2000), podendo ser considerado como fator de qualidade, completando as mudanças bioquímicas envolvidas na maturação do produto (CASTRO *et al.*, 2000).

Os fungos vêm sendo utilizados na produção de produtos cárneos fermentados há muitos séculos e tem um papel importante no desenvolvimento do aroma e do sabor destes produtos (COOK, 1995).

Em produtos fermentados e maturados, suas propriedades como baixa atividade de água (Aa), baixo pH, alto teor de sal e de nutrientes importantes para a população microbiana (SONJAK *et al.*, 2011; SIMONCINI *et al.*, 2015) podem influenciar o metabolismo de fungos, facilitando a biossíntese de micotoxinas (GQALENI *et al.*, 1997).

As variações de temperatura e umidade na produção de produtos durante as fases de fermentação, maturação e secagem, além da longa duração para a fabricação do produto influencia a multiplicação de fungos na superfície (RODRÍGUEZ *et al.*, 2012).

Em termos de qualidade do produto, especialmente durante a maturação, os fungos que se multiplicam na superfície contribuem para o desenvolvimento de aromas e sabores específicos de produtos à base de carne resultantes de suas atividades lipolíticas e proteolíticas (LUDEMANN *et al.*, 2004).

Além disso, conferem efeitos antioxidantes devido ao consumo de oxigênio (BRUNA *et al.*, 2003), contribuem para a cor (SPOTTI *et al.*, 2008) e características sensoriais, impedem a secagem excessiva da superfície, melhora a textura e, com ação proteolítica, limita a dureza excessiva dos fermentados (SUNESSEN; STAHNKE, 2003).

No salame, esse processo permite a formação de uma aparência esbranquiçada típica e protege da deterioração causada por outros fungos (PERRONE *et al.*, 2015).

O *Penicillium nalgiovense* e, em menor grau, o *Penicillium chrysogenum* aparecem em coberturas na maturação desses produtos. Ambas as espécies são usadas como culturas iniciadoras padrão para melhorar e padronizar a qualidade final produto (IACUMIN *et al.*, 2011).

Se as estirpes utilizadas não forem cuidadosamente selecionadas ou seu crescimento não é controlado durante a fabricação do produto, fungos indesejados podem se desenvolver, causando deterioração (ASEFA *et al.*, 2010) e, eventualmente, o crescimento de fungos toxigênicos, principalmente do gênero *Aspergillus* e *Penicillium spp.* (DELGADO *et al.*, 2015).

Durante a fermentação e secagem, ocorre formação de pequenas colônias que, com o passar do tempo, cobrem integralmente o embutido. Esses fungos pertencem ao gênero *Penicillium* e *Aspergillus* com colorações que vão do branco ao verde e verde azulado e desempenham importante papel na qualidade do embutido cárneo (TERRA, 1998). Os fungos *Penicillium nalgiovense* e *Penicillium chrysogenum*, de coloração esbranquiçada, quando recobrem a superfície do embutido, regulam a desidratação do produto, deixando-o seco uniformemente.

O crescimento de fungos ao longo da fermentação em salames ocorre pelas condições do ambiente e a disponibilidade de matéria orgânica. Os fungos preferem ambientes com alta umidade, mas, quando submetidos a um ambiente desidratado, esporulam e permanecem como forma de resistência (MATOS, 2009; CIROLINI *et al.*, 2010).

De maneira geral, após os esporos se dispersarem, o desenvolvimento dos fungos depende de sua interação com o oxigênio, umidade, temperatura, pH e atividade de água. A maioria é aeróbia com temperatura ótima de crescimento entre 20 °C e 30 °C, umidade relativa superior a 70% e capazes de se adaptar a baixos valores de atividade de água (MATOS, 2009).

A presença de fungos na superfície de salames pode conduzir a efeitos desejáveis como: o sabor típico mediado por oxidação do lactato, proteólise, degradação de aminoácidos e lipólise (GRAZIA *et al.*, 1986; LÜCKE; HECHELMANN, 1987).

Além disso, apresenta efeito antioxidante, que ao proteger contra a luz, consome oxigênio e peróxidos degradantes. Isso pode ser considerado como um efeito positivo no sabor, uma vez que o ranço é geralmente referido como um atributo negativo nos produtos à base de carne. A baixa atividade de água (cerca de 0,85) é favorecida pelo aumento da concentração de aminoácidos devido a atividade proteolítica desenvolvida na superfície e pelos longos períodos de maturação (BLOM *et al.*, 1996; HAGEN *et al.*, 1996; BRUNA *et al.*, 2001).

Em relação aos efeitos negativos, normalmente estão associados ao crescimento de fungos indesejáveis, que produzem metabólitos secundários, chamados de micotoxinas, que além dos efeitos tóxicos agudos, também são carcinogênicos, podem provocar efeitos degenerativos no fígado, além de dificultar a desidratação do salame e causar o aparecimento de orifícios na tripas, sendo este último efeito ocasionado pela multiplicação do fungo de coloração preta (TERRA, 1998; MATOS, 2009).

Por conta de práticas inadequadas de sanitização do ambiente ou por descontrole dos parâmetros de umidade e temperatura, os fungos indesejáveis se apresentam e com eles, os efeitos deletérios sobre os salames. Ocasionalmente, outros fungos podem formar uma película em torno do embutido impedindo a desidratação e retardando a fabricação do produto (TERRA, 1998).

A presença de mofos na superfície do produto é característica do processo tecnológico, sendo considerada conveniente para o desenvolvimento de um aroma especial. Dessa forma, pode-se utilizar a aplicação de culturas iniciadoras nos envoltórios do produto, o que permite a seleção de estirpes de ação benéfica, evitando-se a presença dos indesejáveis fungos produtores de toxinas.

A utilização de antifúngicos também é feita, como forma de evitar o crescimento tanto desejável quanto indesejável desses fungos em salames.

### 2.2.2 Principais antifúngicos utilizados industrialmente

A inibição do crescimento de fungos em salames é feita a partir de antifúngicos que são empregados na produção com o objetivo de conservar e evitar seu crescimento no produto, além de garantir vida útil mais extensa.

Os mais utilizados industrialmente são a natamicina e o sorbato de potássio que, apesar de cumprir o papel de evitar o crescimento fúngico indesejável, podem causar reações tóxicas ao consumidor.

A natamicina é um antibiótico natural produzido pela fermentação realizada com *Streptomyces natalensis*. Seu mecanismo de ação é se conectar no interior da membrana celular do fungo para produzir uma mudança de permeabilidade da mesma, o que provoca a perda de materiais celulares essenciais. A natamicina é efetiva contra uma extensa lista de cepas de fungos, melhorando a aparência estética e a vida de prateleira dos alimentos. Reduz o risco de produção de micotoxinas não afetando a aparência, sabor, aroma e cor dos alimentos, não interfere na atividade desejada de culturas em produtos fermentados. Os microrganismos indesejados não desenvolvem resistência frente ao composto e é muito mais efetiva que os conservantes químicos em mínimas concentrações (OBREGÓN, 2004).

A utilização da natamicina em alimentos é variada, desde queijos (aplicação em superfície em uma solução), produtos cárneos (podem ser tratados com solução em *spray*), e bebidas como sucos de frutas. No entanto, sua ingestão acima do permitido pode causar reações negativas no organismo, como náuseas, vômito e diarreia (SULOFF *et al.*, 2003).

De acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n° 272, de 14 de março de 2019, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), é permitido o uso da natamicina (Pimaricina) (*International Numbering System* - INS 235) como conservante, para tratamento de superfícies de produtos cárneos embutidos no limite máximo de 0,002 g/100 g, somente para tratamento da superfície da peça inteira de produtos embutidos, equivalente a 1 mg/dm<sup>2</sup> aplicado na superfície a uma profundidade máxima de 5 mm, sendo proibido a aplicação na massa..

Já os sorbatos (ácido sórbico e seus sais de sódio, potássio e cálcio) são considerados aditivos GRAS (*generally recognized as safe*) e por isso têm grande importância, sendo largamente utilizado pela indústria de alimentos. De maneira geral, são considerados um conservante eficaz,

atuando efetivamente contra microrganismos patogênicos e de deterioração em produtos cárneos, principalmente quando usado em combinação com nitrito (SOFOS, 1989).

Collins e Moustafa (1986) mencionam que o ácido sórbico, um ácido graxo insaturado de seis carbonos, é classificado pela Administração de Drogas e Alimentos (*Food and Drug Administration* - FDA) como um ingrediente alimentar, geralmente reconhecido como seguro que é metabolizado pelo corpo humano da mesma forma que outros ácidos graxos. O ácido sórbico e seus sais de potássio e sódio têm sido usados em uma ampla variedade de produtos alimentares como inibidores de crescimento microbiano.

No Brasil, em embutidos cárneos, o ácido sórbico, de acordo com a RDC n° 272, de 14 de março de 2019, da ANVISA, tem limite máximo de aplicação de 0,02 g/100g na superfície, sendo proibido a aplicação na massa.

Kitano *et al.* (2002) mostraram que quando em combinação de sais de ferro, os produtos da oxidação do sorbato de potássio eram mutantes e tóxicos, mostrando a não total segurança do produto, lado outro (Walker, 1990) e colocando-o como tóxico, mostrando, assim, a necessidade de antifúngicos não sintéticos, sem riscos para a saúde.

### **2.2.3 Antifúngicos alternativos**

Alguns consumidores têm exigido alimentos mais naturais com baixos níveis de aditivos químicos e menos processados, porém com longa duração. A legislação alimentar tem restringido o uso de alguns antimicrobianos sintéticos por causa da possibilidade de toxicidade para os consumidores (SOUZA, 2007).

Outro fator relevante para busca por conservantes naturais é que muitos microrganismos patogênicos adquirem resistência aos antibióticos, havendo necessidade de serem substituídos por produtos de origem natural (SARTORATTO *et al.*, 2004).

Nesse sentido, os produtos derivados de plantas e fungos têm surgido como opção de compostos efetivos capazes de fornecer segurança microbiológica para os alimentos, com melhor aproveitamento de suas propriedades naturais (FARIA *et al.*, 2006).

A estabilidade intrínseca dos alimentos frente ao ataque de microrganismos é devida à presença de algumas substâncias naturalmente presentes. Os condimentos, por exemplo, contêm vários óleos essenciais com atividade antimicrobiana, como eugenol do cravo, um poderoso

antioxidante que conserva os alimentos, aldeído cinâmico e eugenol na canela, um bom conservante e aromatizante, além de apresentar excelente atividade fungicida e inseticida (FRANCO *et al.*, 2008).

A avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de manjeriço pulverizado em superfície de salame mostrou resultados promissores, parece ser um opção como composto antifúngico, possibilitando seu uso como substituto de aditivos químicos (SAGGIORATO *et al.*, 2012).

Outro antimicrobiano natural. cuja aplicação tem sido amplamente pesquisada com o intuito de evitar ou retardar a deterioração microbiana de alimentos. é a quitosana e seus derivados, e nos últimos anos têm recebido uma atenção especial, graças aos resultados promissores neste âmbito de aplicação (QIUPING; WENSHUI, 2007).

A quitosana é uma forma desacetilada da quitina que existe naturalmente nas conchas de crustáceos e na parede celular dos fungos. Além de ser biodegradáveis, possui propriedades biológicas como biocompatibilidade, não-toxicidade, e atividades antimicrobiana e antioxidante (DUTTA *et al.*, 2009).

Como forma de aplicação e incorporação, são utilizados os chamados revestimentos comestíveis, carregando esses antifúngicos em sua composição.

### **2.3 Revestimento comestíveis**

Os revestimentos comestíveis são capazes de aumentar a vida útil de alimentos e têm sido desenvolvidos com o objetivo de diminuir a perda de umidade, reduzir a oxidação lipídica e a descoloração, melhorar a aparência de alimentos em embalagens individualizadas, sendo uma alternativa aos filmes de origem sintética que são empregados em produtos alimentícios (CARDOSO *et al.*, 2016).

Atuam principalmente como barreira a gases e vapor de água, modificando a atmosfera interna dos alimentos, diminuindo a degradação e aumentando a vida útil dos mesmos, além de atuarem também como carreadores de compostos antimicrobianos, antioxidantes (MAIA *et al.*, 2005), possuindo também alto potencial para evitar a deterioração dos alimentos (HOANG ; VU, 2016).

As pesquisas em relação às embalagens têm sido enfocadas em filmes e revestimentos comestíveis à base de biopolímeros, como proteínas, polissacarídeos e lipídios, que podem ser completamente biodegradados em compostos naturais, como CO<sub>2</sub>, água, metano, hidrogênio e biomassa, dentro de um período consideravelmente curto de tempo (KROCHTA; DEMULDER-JOHNSTON, 1997).

Vários filmes e revestimentos com polissacarídeos comestíveis, como amido e seus derivados, alginatos, carragenas, éteres de celulose e pectina também são utilizados para melhorar a qualidade dos produtos de carne e aves (KESTER; FENNEMA, 1986).

A aplicação de um revestimento comestível demonstrou propriedades antioxidantes promissoras devido ao seu papel protetor contra a transmissão de oxigênio através da matriz alimentar. Segundo Ustunol (2009), os revestimentos comestíveis não se destinam a substituir os materiais sintéticos das embalagens, mas a trazer uma proteção secundária aos alimentos quando a embalagem primária for aberta.

O interesse do uso de polissacarídeos (gelatina, alginato, pectina) baseia-se em sua aceitação como aditivos alimentares, biodegradabilidade e processos de fabricação fáceis (CRIADO *et al.*, 2020).

Apesar das vantagens, os filmes de revestimento podem apresentar reações alérgicas e intolerância a seus componentes, como proteínas do glúten ou as do leite, sendo uma desvantagem apresentadas por alguns consumidores (GENNADIOS *et al.*, 1997).

Os biopolímeros mais utilizados na elaboração de filmes e coberturas comestíveis são as proteínas (gelatina, caseína, ovoalbumina, glúten de trigo, zeína, proteínas do leite e proteínas miofibrilares), os polissacarídeos (amido e seus derivados, pectina, celulose e seus derivados, alginato, carragena, quitosana) e os lipídios (monoglicerídeos acetilados, ácido esteárico, ceras e ésteres de ácido graxo, ceras) ou a combinação dos mesmos (KHAN *et al.*, 2013).

Materiais que podem ser usados como revestimentos comestíveis para melhorar a segurança dos alimentos e o prazo de validade dos alimentos à base de alginato e quitosana já foram relatados para prolongar a vida útil de alimentos cárneos (CARDOSO *et al.*, 2016).

### **2.3.1 Revestimentos de alginato**

Os alginatos são copolímeros binários polianiônicos, lineares, de  $\beta$ -(1-4)-ácido D-manurônico (M) ligado e seu epímero C-5  $\alpha$ -(1-4) ácido L-gulurônico (G) e geralmente são apresentados como sal de sódio (DRAGET *et al.*, 1990; MENG *et al.*, 2010).

Os alginatos são polissacarídeos de ocorrência natural que existem amplamente nas paredes celulares e espaços intracelulares de muitas espécies de algas marinhas (*Phaeophyceae*) (SWEENEY *et al.*, 2014).

É o revestimento comestível eficaz mais amplamente utilizado. São eficazes na redução da perda de água e podem incorporar diferentes ativos agentes, como antioxidantes naturais e antimicrobianos (KIM *et al.*, 2018).

Os revestimentos de alginato prolongam o prazo de validade de produtos à base de carne, e requerem um agente polimerizador, como cloreto de cálcio, que pode dar amargura (EARLE, 1968; LAZARUS *et al.*, 1976). O cálcio é o cátion gelificante mais comum e eficaz, embora magnésio, manganês, alumínio, ferroso ou férrico também podem ser usados (KESTER; FENNEMA, 1986).

Por ser um polissacarídeo, formam revestimentos não gordurosos tornando-os desejável para aplicação como envoltórios em produtos à base de carne (LABELL, 1991). Eles são bons barreiras aos gases, no entanto, devido à sua natureza hidrofílica, são barreiras precárias à umidade.

Conforme relatado por Wanstedt *et al.* (1981), revestimentos de alginato têm sido utilizados para retardar o desenvolvimento de sabores oxidativos na carne pré-cozidos. O revestimento com alginato de sódio a 2% com conservantes melhorou aparência geral, cor, suculência, sabor, textura e palatabilidade geral da carne de búfalo (CHIDANANDAIAH *et al.*, 2009).

### 2.3.2 Revestimentos de quitosana

A quitosana é derivada da desacetilação parcial ou total da quitina, um componente presente na carapaça de crustáceos como caranguejo, siri, camarão e lagostas, além de possuir propriedades antimicrobiana e antioxidante, a quitosana é capaz de formar filmes (KURITA, 2006) e têm demonstrado ser eficiente contra vários microrganismos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* (ZHENG; ZHU, 2003; LI *et al.*, 2007), *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus faecalis*, *Salmonella entérica*, *S. paratyphi*, *Pseudomonas aeruginosa* (YADAV; BHISE, 2004), *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Shigella dysenteriae*, *Aeromonas hydrophila*, *Fusarium*,

*Alternaria*, *Helminthosporium* (SILVA *et al.*, 2006), *Sacharomyces cerevisiae*, *S. ludwigii*, *Zygosaccharomyces baillii*, *Cryptococcus albidus*, *Candida sp.*, *Rhodotorula sp.* (RHOADES; ROLLER, 2000) além de atuar reduzindo significativamente o risco potencial de germinação de esporos de *Clostridium sp.* (JUNEJA *et al.*, 2006).

Essa atividade antimicrobiana pode ser explicada pelos grupos amínicos da quitosana que quando em contato com os fluidos fisiológicos, possivelmente são protonados e se ligam a grupos aniônicos desses microrganismos. Esse processo resulta na aglutinação das células microbianas e assim, a inibição do crescimento (KUMAR, 2000). Em contrapartida, estudos mais recentes associam a atividade antimicrobiana às propriedades físico-químicas do polímero e às características da membrana do microrganismo (QI *et al.*, 2005).

Já em carnes, a adição de quitosana mostrou uma significativa redução de bactérias do ácido láctico por Arslan e Soyer (2018) e ainda mostra que as contagens de *Enterobacteriaceae* diminuíram significativa em salames. (SOULTOS *et al.*, 2008) relataram que a adição direta de quitosana em salsichas de porco frescas suprimiram o crescimento de fungos e leveduras durante o armazenamento.

Diversos autores têm reportado a aplicação em produtos cárneos de biofilmes produzidos a partir de quitosana (OUATTARA *et al.*, 2000; SAGOO *et al.*, 2002; KRISTO *et al.*, 2008).

E como material de revestimento, a quitosana se destaca por ser uma boa barreira à permeação de oxigênio (SATHIVEL *et al.*, 2007).

(JEON *et al.*, 2002) descobriram que os revestimentos de quitosana são eficazes na proteção de lipídios da oxidação quando aplicado em arenques e filetes de bacalhau. Suman *et al.* (2010) mostraram que o revestimento de carne moída com quitosana reduziu o TBARS (ácido tiobarbitúrico reativo substâncias) e melhorou a cor vermelha da superfície da carne em comparação com amostras não revestidas.

Zimoch-Korzycka *et al.* (2015) apresentaram que os filmes de HPMC (hidroxipropilmetilcelulose) -quitosana eram adequados para carnes e produtos à base de carne devido às propriedades termomecânicas, de barreira e antimicrobianas desejadas propriedades.

O estudo de Soutos *et al.* (2008) mostrou que a quitosana pode ser usada para prolongar o prazo de validade de linguiças de porco frescas devido às suas propriedades antimicrobianas e antioxidantes.

A diminuição da qualidade da carne é causada principalmente por deterioração microbiana e oxidação de lipídios e proteínas. Portanto os revestimentos devem atuar bidireccionalmente, reduzindo a taxa de crescimento microbiano e inibindo a processo de oxidação (KULIG *et al.*, 2017).

Podem possuir ótimas propriedades físico-químicas para serem aplicadas em superfícies de alimentos. Foi estudado a conveniência de conectar alginato e quitosana devido à melhoria de suas propriedades térmicas e mecânicas, bem como à estabilidade química (KULIG *et al.*, 2016).

O complexo polieletrólito de alginato de sódio com a quitosana é formado pela interação entre os grupos funcionais dissociados: um grupo carboxila aniônico de alginato e um grupo amino catiônico de quitosana. Devido ao uso de polímeros de carga oposta e à aplicação de reação otimizada condições (pH, temperatura, razão de polímeros, ordem e velocidade de mistura, característica química dos complexação de polieletrólitos) impede a necessidade de reticuladores químicos adicionais e resulta na formação da estrutura de hidrogel. Posteriormente, o hidrogel obtido pode ser aplicado diretamente para a superfície dos produtos (KULIG *et al.*, 2017).

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

O experimento foi realizado no Laboratório de Tecnologia de Carnes e Derivados (LabCarnes) do Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA) da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

#### **3.1 Elaboração dos salames**

As carnes suína e bovina e o toucinho congelados foram adquiridos no mercado local, em Lavras, MG. As carnes foram descongeladas (a 4 °C/24h) e, então limpas de hematomas, excessos de tecido conectivo, gordura, cortadas em pedaços menores e higienizadas com solução de ácido láctico 0,75% e mantidas cobertas por um filme plástico, em geladeira comercial (4 °C), sobre uma grade, por 24h para uma pré-secagem. O toucinho foi descongelado (a 4 °C), 24h antes do processamento.

Os salames foram elaborados, de acordo com a formulação apresentada na Tabela 2. As carnes bovina e suína e o toucinho foram individualmente moídos em moedor (modelo PB-22; Becarro Equipamentos Industriais Ltda, Rio Claro, SP, Brasil), em disco com furos de 14 mm. A seguir, as carnes bovinas foram novamente moídas em discos com furos de 6 mm. Após a moagem, as carnes e o toucinho foram misturados e, então, moídos em disco de 14 mm. A massa cárnea foi transferida para uma misturadeira (modelo MJI-35; Indústrias Jamar, Tupã, SP, Brasil), onde os demais ingredientes foram adicionados e misturados por 10 min até homogeneização. A massa final foi embutida em tripa de colágeno (calibre 45 mm), previamente hidratada em solução salina (10% NaCl) por 20 min, formando gomos de aproximadamente 250 gramas cada, com comprimento médio de 15 centímetros.

#### **3.2 Tratamentos**

Como agentes antifúngicos foram utilizados os aditivos natamicina (INS 235; Natacid M; SACCO Brasil, Campinas, São Paulo, Brasil) e sorbato de potássio (INS 202; Art Alimentos e Aditivos, São Paulo, São Paulo, Brasil), autorizados como conservantes para tratamento da

superfície de salames pela RDC nº 272, de 14 de março de 2019, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Tabela 2 - Formulação para elaboração dos salaminhos

<b>Ingredientes</b>	<b>Quantidade (%)</b>
Carne suína	56
Carne bovina	16
Toucinho	20
Leite em pó	2,7
Sal refinado	2,2
Vinho tinto seco	1,5
Açúcar refinado	0,40
Glicose	0,25
Glutamato monossódico (GMS)	0,30
Cultura iniciadora Lyocarni RHM33 <sup>1</sup>	0,03
Nitrito de sódio <sup>2</sup>	0,02
Eritorbato de sódio <sup>2</sup>	0,05
Condimento para salame Seasoning Blends <sup>2</sup>	0,50

<sup>1</sup> SACCO Brasil, Campinas, SP, São Paulo.

<sup>2</sup> New Max Industrial, Americana, SP, Brasil.

Fonte: Da autora (2021).

Foram preparados diferentes filmes de revestimento comestíveis contendo alginato de sódio (Êxodo Científica, Hortolândia, São Paulo, Brasil), maltodextrina (D.E 20; New Max Industrial LTDA, Americana, São Paulo, Brasil), cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ; Êxodo Científica, Hortolândia, São Paulo, Brasil), carboximetilcelulose (CMC; Sigma Aldrich, Cotia, São Paulo, Brasil) e quitosana (densidade 30 g/mL e grau de deacetilação > 85%; Polimar, Fortaleza, CE, Brazil).

O filme de alginato foi preparado, segundo (EARLE, 1968). Foram utilizadas as seguintes suspensões como revestimento: suspensão I – contendo alginato de sódio (1,0% m/v) e maltodextrina (9% m/v), preparados em água destilada a 70 °C sob agitação por 2h; e suspensão II – contendo cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) 5,3% (m/v) e carboximetilcelulose (CMC) 1,7%, como suspensão polimerizadora.

O filme de quitosana foi preparado segundo estudo de Arslan e Soyer (2018), com uma solução de quitosana 1,5% (m/v) em ácido acético 4%, após agitação e aquecimento por 3 horas.

As suspensões foram resfriadas e mantidas a 4 °C por 12h. Antes da utilização, as suspensões foram previamente homogeneizadas por 30 minutos no agitador e mantidas à temperatura ambiente.

Os gomos de salames após serem embutidos foram aleatorizados em seis tratamentos:

- 1) CONT – tratamento controle, sem aplicação de filme e e solução antifúngica;
- 2) QUIT – gomos imersos na suspensão de quitosana 1,5% por 30 segundos;
- 3) ALG – gomos imersos na suspensão I por 30 segundos, mantidos pendurados por 30 segundos à temperatura ambiente e, em seguida, imersos na suspensão II por mais 30 segundos para polimerização do filme;
- 4) SORB – gomos uniformemente aspergidos com borrifador com suspensão de sorbato de potássio 20%.
- 5) AL+SO – gomos imersos na suspensão I por 30 segundos, mantidos pendurados por 30 segundos à temperatura ambiente e, em seguida, imersos na suspensão II por mais 30 segundos para polimerização do filme; posteriormente, os gomos foram uniformemente aspergidos com borrifador com suspensão de sorbato de potássio 20%.
- 6) NATA – gomos uniformemente aspergidos com borrifador com suspensão de natamicina 5,0%.

Após os tratamentos, os gomos foram mantidos pendurados por 1h à temperatura ambiente para a secagem das superfícies e, em seguida, uniformemente aspergidos com suspensão de cultura de esporos liofilizados de *Penicillium nalgiovense* (1 mg/mL). A cultura utilizada foi a Lyocarni FPN-63 (SACCO Brasil, Campinas, SP, São Paulo), previamente diluída em água mineral 1h antes da aplicação para completa hidratação.

Após a inoculação, as amostras foram armazenadas em câmara climática tipo BOD (modelo EL202; Eletrolab Ltda., São Paulo, SP, Brasil) com controle de temperatura. Um pequeno umidificador ultrassônico (Allergy Free; GTech Brasil Ltda, Barueri, SP, Brasil) foi colocado na câmara e as amostras mantidas a 25 °C/1 dia e depois a 22 °C/1 dia, com o umidificador ligado na metade da nebulização máxima. No terceiro dia, as amostras foram transferidas para outra câmara climática (modelo EL131/4; Eletrolab Ltda., São Paulo, SP, Brasil) com controle de temperatura e umidade relativa (UR), sendo mantidas na seguinte programação: 20 °C/2 dias a 85% UR; 18 °C/2

dias a 80% UR; e 16 °C a 75% UR no restante da maturação/secagem. A perda de massa dos gomos foi acompanhada durante a etapa de maturação/secagem pela pesagem individual nos dias 0, 2, 5, 7, 14 e 21 dias, quando alcançaram uma perda de massa de cerca de 40%.

### **3.3 Análises**

Durante as fases de elaboração do produto, foram realizadas amostragens nos tempos 0, 7, 14 e 21 dias, para a condução das análises de pH, atividade de água (Aa), acidez titulável, índice de TBARS, teor residual de nitrito e teor de água.

No 21º dia de maturação, os produtos foram considerados acabados (~ 40% de perda de massa) e avaliados quanto à cor e à textura instrumental e gradiente de umidade interna.

O acompanhamento da perda de massa foi registrado ao longo do período de maturação, nos tempos 0, 2, 5, 7, 14, 21 e 21 dias.

As amostragens para a quantificação instrumental e microbiológica de fungos na superfície externa foram realizadas nos tempos 2 e 7 dias de maturação, no gomo inteiro do salame, antes da remoção da tripa de colágeno e realização das demais análises anteriormente citadas. Em seguida, as peças foram cortadas em três seções transversais (removendo-se as pontas) e trituradas, de forma a garantir uma amostragem representativa para as replicatas de cada análise a ser realizada.

#### **3.3.1 Análise de pH**

Os valores de pH foram medidos por meio da inserção de um eletrodo de um pHmetro portátil (Testo 206-pH2; Testo do Brasil, Campinas, SP, Brasil), em cada uma das três seções do salame.

#### **3.3.2 Perda de massa**

A perda de massa foi registrada através do controle do peso do salame ao longo do período de maturação, nos tempos 0, 2, 5, 7, 14, 21 e 21 dias.

### 3.3.3 Quantificação de fungos na superfície

A dinâmica da multiplicação do fungo *Penicillium nalgiovense* na superfície do salame foi avaliada digitalmente, por análise fotográfica, descrita por Bueno *et al.* (2019), e sensorialmente, pelo método de perfil descritivo otimizado (PDO), descrito por Silva *et al.* (2012).

Nos dias dois e sete de maturação, os salames foram fotografados sempre na mesma face (marcadas com uma pequena mancha com esmalte na parte superior) com um celular (4000x3000 pixels; Samsung® Galaxy S10e). A partir dessas imagens, foram feitas análise instrumental e sensorial da multiplicação do fungo.

Para a análise instrumental, as fotos foram analisadas pelo aplicativo ColorGrab (Version 3.9.2, 2021, para o sistema operacional Android; Loomatix Ltd), utilizando a função *color map*. Os parâmetros RGB das cores das paletas foram obtidos e convertidos para o sistema CIELAB ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), considerando o iluminante D65 (luz do dia) e ângulo do observador  $10^\circ$ . A saturação ( $C^*$ ), ângulo de tonalidade ( $h$ ) e brancura (BR) foram calculados conforme equações 2.1, 2.2 e 2.3, respectivamente (RAMOS; GOMIDE, 2007; PATHARE *et al.*, 2013).

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{0,5} \quad (2.1)$$

$$h = \tan^{-1}(b^*/a^*) \quad (2.2)$$

$$BR = \sqrt{100 - L^{*2} + a^{*2} + b^{*2}} \quad (2.3)$$

Os índices de cor foram obtidos a partir da média de duas cores com maior proporção (IMG2) na paleta.

A avaliação da percepção sensorial foi realizada após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFLA (CAAE: 46446021.5.0000.5148), tendo os voluntários aceitados o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE). Para a validação do método utilizado, foi analisado sensorialmente as fotos, a partir do perfil descritivo otimizado (PDO) de forma totalmente online, com questionários pela plataforma *Google Forms* (como mostrado na Figura 2).

Figura 2- Questionário pela plataforma *Google Forms*.



Avaliação visual da presença de fungos em salaminhos

Avaliação visual da presença de fungos em salaminhos

Amostra 6 - De 1 a 10, quão coberto de fungo o salame está? \*

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Sem fungo           Coberto de fungo

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Fonte: Da autora (2021).

Foi feita a seleção de 30 candidatos para responder à apresentação de imagens de referência (Figura 3), uma com nenhum crescimento aparente de fungo (pontuação 1) e a outra, totalmente coberta pelo fungo branco (pontuação 10). Os painelistas avaliaram 36 imagens no total (12 imagens de cada repetição, 6 do dia 2 e 6 do dia 7), caracterizando o quanto de fungo havia multiplicado no salame, com notas de 1 a 10.

Figura 3 – Imagem de referência utilizada no formulário *online*.



O salame da esquerda é referência para nota 1, enquanto o da esquerda para nota 10.

Fonte: Da autora (2021).

### 3.3.4 Umidade e atividade de água

A umidade foi determinada em triplicata pelo método gravimétrico padrão em estufa a 105 °C (AOAC, 2000), sendo expressa em porcentagem. A atividade de água (Aa) foi realizada em triplicata em aparelho AQUALAB® CX2 (Decagon Devices Inc., Pullman, EUA), por meio da determinação do ponto de orvalho, seguindo-se as orientações do fabricante.

### 3.3.5 Acidez titulável

Cerca de 5 g de amostra foi homogeneizada (Turratec TE 102; TECNAL, Piracicaba, SP, Brasil) em 50 mL de água destilada por 60 segundos e a acidez determinada por titulação (MATOS *et al.*, 2007). O homogenato foi titulado com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,02 M, utilizando-se a fenolftaleína como indicador. Os resultados foram expressos em porcentagem de ácido láctico (g de ácido láctico/100 g de salame).

### 3.3.6 Oxidação lipídica

A oxidação lipídica foi avaliada em triplicata pela determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) com adaptações do método de extração aquosa descrito por (PIKUL *et al.*, 1989). Em 5 g de amostra triturada, foram adicionados 15 mL de ácido perclórico 3,86% e 1 mL do antioxidante hidroxibutiltolueno (BHT) 0,15% (m/v). A mistura foi homogeneizada (Turratec TE 102; TECNAL, Piracicaba, SP, Brasil) por 60 segundos e filtrada. Uma alíquota de 5 mL do filtrado foi transferido para um tubo de ensaio, adicionado de 5 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,02 M e os tubos incubados em banho-maria fervente por 30 min. Após incubação, o tubo foi resfriado em água com gelo por 30 min, e a absorvância da mistura lida a 532 nm, em espectrofotômetro (Genesys 10 UV; Thermo Scientific Varian, São Paulo, Brasil) contra o branco (TBA 0,02 M e ácido perclórico 3,86 % na proporção de 1:1).

A concentração de malonaldeído (MDA) foi determinada a partir de curva analítica elaborada com 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) e os resultados expressos em miligramas de malonaldeído por quilograma de amostra (mg de MDA/kg).

### 3.3.7 Teor de nitrito residual

A determinação em triplicata do teor de nitrito de sódio residual (NO<sub>2</sub>R) foi realizada, com adaptações do método oficial n° 973.31 da AOAC (2000), conforme descritas por Guimarães *et al.* (2021). Dez gramas de amostra foram homogeneizados (Turratec TE 102; TECNAL, Piracicaba, SP, Brasil) em 40 mL de água destilada a 80 °C. Em seguida, o homogenato foi transferido para um frasco *Erlenmeyer* de 500 mL, colocado em banho-maria à 80°C durante 2h e agitado ocasionalmente. A solução foi filtrada, diluída com água destilada (na proporção adequada para análise) e uma alíquota de 2 mL foi homogeneizada com 0,2 mL do reagente de sulfanilamida (1% em HCl 0,5 M). Após cinco minutos sob abrigo de luz, foram adicionados 0,2 mL do reagente *N*-(1-naftil) etilenodiamina (NED; 0,1%) e a solução foi agitada e mantida em repouso durante 15 min sob abrigo de luz, para o desenvolvimento da cor. A leitura da absorvância foi feita em 540 nm e o NO<sub>2</sub>R determinado a partir de curva analítica elaborada com nitrito de sódio (NaNO<sub>2</sub>), sendo os resultados expressos em mg/kg.

### 3.3.8 Cor instrumental

A avaliação objetiva da cor foi realizada na superfície interna em três seções transversais obtidas dos salames acabados, fazendo-se uso de um espectrofotômetro CM-700d (*KonicaMinolta Sensing Inc.*, Japão). Para a obtenção dos índices de cor, foram estabelecidos o iluminante D65, o ângulo de 10° para o observador e o modo de luz especular excluída (SCE). Os índices de cor luminosidade ( $L^*$ ), índice de vermelho ( $a^*$ ), índice de amarelo ( $b^*$ ), de saturação ( $C^*$ ) e ângulo de tonalidade ( $h$ , graus) foram registrados, para cada repetição, considerando-se o valor médio de cinco leituras (replicatas) realizadas em diferentes pontos da superfície das três seções.

### 3.3.9 Textura instrumental

Amostras de cada tratamento foram analisadas pelo teste de Análise de Perfil de Textura (TPA), segundo (MATOS *et al.*, 2007), utilizando-se um texturômetro (TA.XT2i; Stable Micro System Inc.) conectado a um computador equipado com o programa *Texture Expert*®. De cada seção (replicatas) de salame, foram obtidos três cilindros de 2 cm de altura e 2 cm de diâmetro, com ajuda de um molde metálico, que foram comprimidas (à temperatura ambiente) duas vezes, até 50% de seu tamanho, com um prato de compressão de 7,5 cm de diâmetro. A curva de deformação com o tempo foi obtida à velocidade de compressão de 3,0 mm/s, a partir da qual foram gerados cinco parâmetros de textura (RAMOS; GOMIDE, 2007): dureza (N); coesividade; adesividade (N × mm); elasticidade (mm); e mastigabilidade (N × mm).

### 3.3.10 Gradiente de umidade interna

A umidade interna foi determinada, segundo o método descrito no item 3.3.4. No entanto, foi utilizado somente o miolo do salame, após separação da crosta externa do interior. Esse miolo foi obtido a partir do corte do interior do produto, com um molde metálico cilíndrico de 2cm de diâmetro e de 2cm de altura.

A umidade interna foi expressa em porcentagem e, posteriormente, comparado àquele do salame.

### 3.4 Análise estatística

O experimento foi disposto em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), no esquema fatorial 6x4, com os fatores tratamentos (CONT, ALG, AL+SO, NATA, QUIT, SORB) e tempos de maturação (0, 7, 14 e 21 dias). Todo o experimento foi conduzido em 3 repetições (constituídas por diferentes bateladas de produção de salames) para as análises físicas, químicas e de pH. Para avaliação sensorial, o experimento foi conduzido em blocos casualizados (DBC), tendo como blocos os painelistas (30) para avaliar a multiplicação de fungos na superfície e a cor das amostras submetidas aos tratamentos avaliados, nos tempos 2 e 7 dias de maturação. Os dados das análises físicas, químicas, de pH e sensoriais foram interpretadas por meio da análise de variância (ANOVA), e, quando necessário, as médias foram comparadas utilizando-se o teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para determinação do crescimento de fungos, uma análise de correlação também foi feita entre as análises sensorial e de cor. As análises estatísticas foram realizadas no *software* Statistica, versão 8.0 (StatSoft Inc., Tulsa, USA).

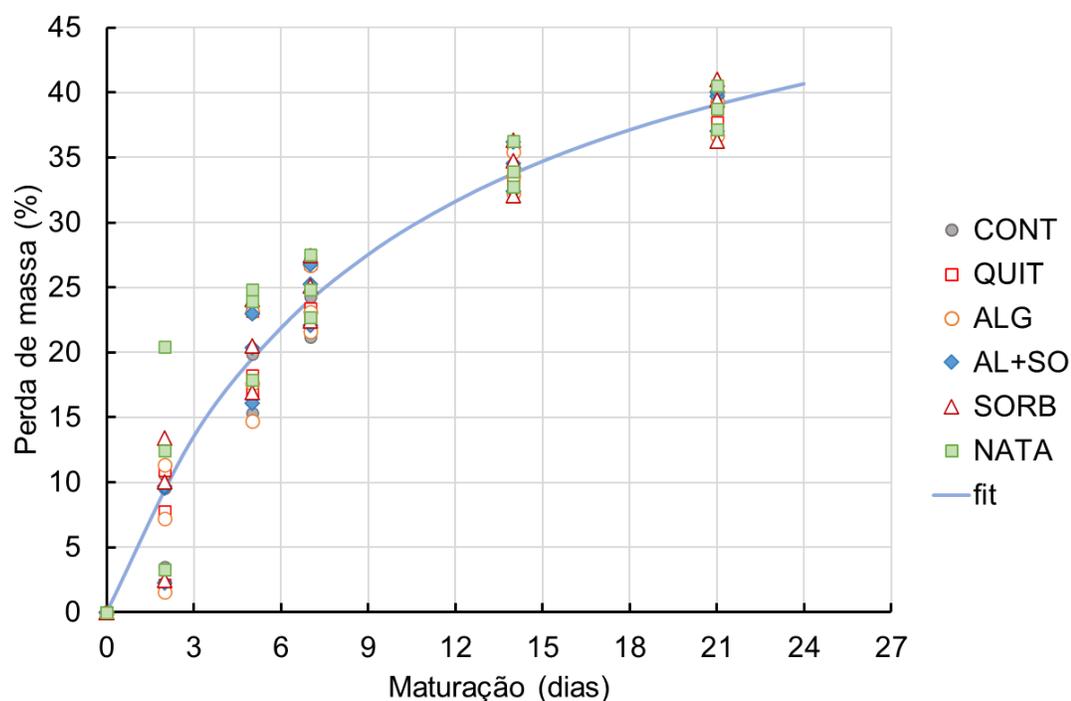
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Avaliação durante a maturação

#### 4.1.1 Análises físicas e químicas

Não houve efeito ( $P > 0,05$ ) dos tratamentos aplicados na perda de massa dos produtos durante a maturação. Em média, houve uma perda nos salaminhos de  $39,10 \pm 2,66\%$ , sendo esta mais intensa na primeira semana (Figura 4), com redução à medida que o tempo de maturação avançou e atingiu o ponto final do produto pronto.

Figura 4 - Perda de massa (PM) dos salaminhos durante o período de maturação (dias; D).

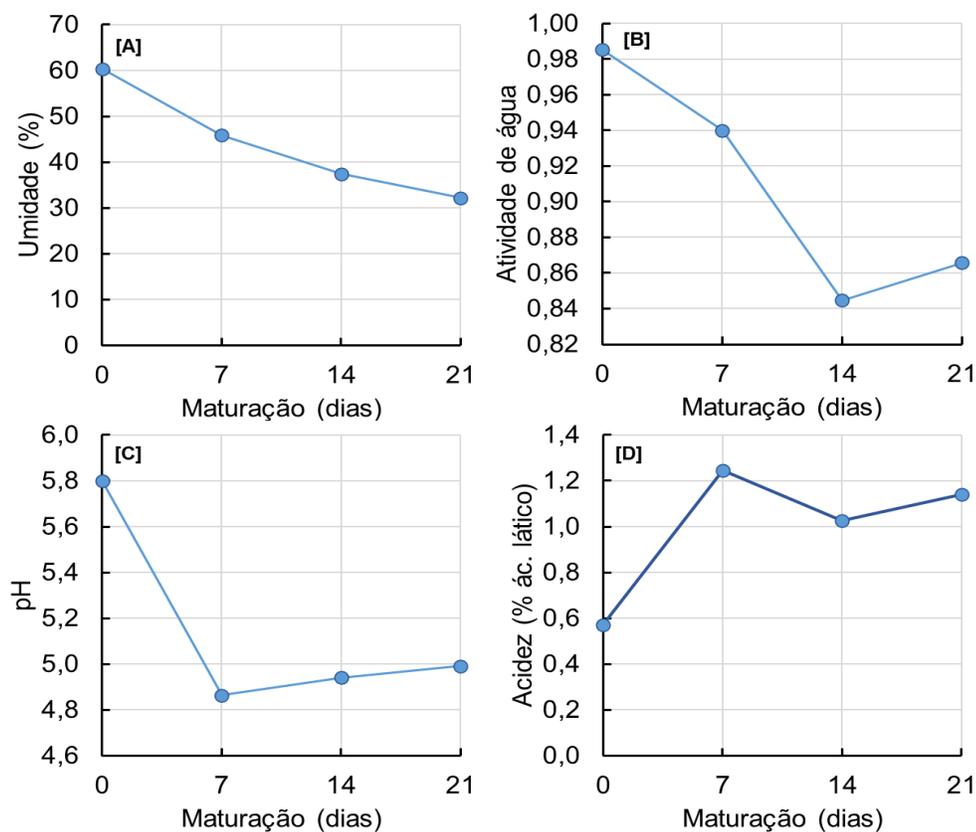


CONT = sem aplicação de filme; QUIT = revestimento de quitosana; ALG = revestimento de alginato de sódio; AL+SO = revestimento de alginato de sódio e aspersão de sorbato de potássio, SORB = aspersão de sorbato de potássio; NATA = aspersão de natamicina; e Fit = equação ajustada:  $PM = 57,04 \times D / (9,64 + D)$ ;  $R^2 = 0,97$ .

Fonte: Da autora (2021).

A umidade, atividade de água (Aa), pH e acidez dos produtos foram afetadas ( $P < 0,05$ ) apenas pelo tempo de maturação (Figura 4). A perda de massa durante a maturação do produto foi decorrente da perda de água por gotejamento e evaporação, favorecida pela queda do pH ao se aproximar do ponto isoelétrico (pH entre 5,0 - 5,1) (CASSENS, 1994) das proteínas da carne. Da mesma forma, foi observada uma queda ( $P < 0,05$ ) nos valores médios da atividade de água, do pH e da umidade. Esse comportamento da atividade de água é condizente com o observado para a perda de massa (Figura 4) e de umidade (Figura 5) dos produtos durante o período de maturação. Os baixos valores de pH, associado à rápida queda do pH, nos primeiros dias de maturação, pode explicar essa maior queda na Aa. A acidez aumentou ( $P < 0,05$ ) durante a maturação.

Figura 5 - Valores médios da umidade (A), atividade de água (B), pH (C) e acidez (D) dos salaminhos durante a maturação.



Fonte: Da Autora (2021).

O abaixamento do pH e o conteúdo de ácido láctico formado durante a etapa de maturação do salame apresentam importância relevante, pois contribuem para o desenvolvimento das características tecnológicas e sensoriais, além da qualidade microbiológica do produto. O comportamento do pH observado no presente estudo corrobora os resultados encontrados por Campagnol *et al.* (2011).

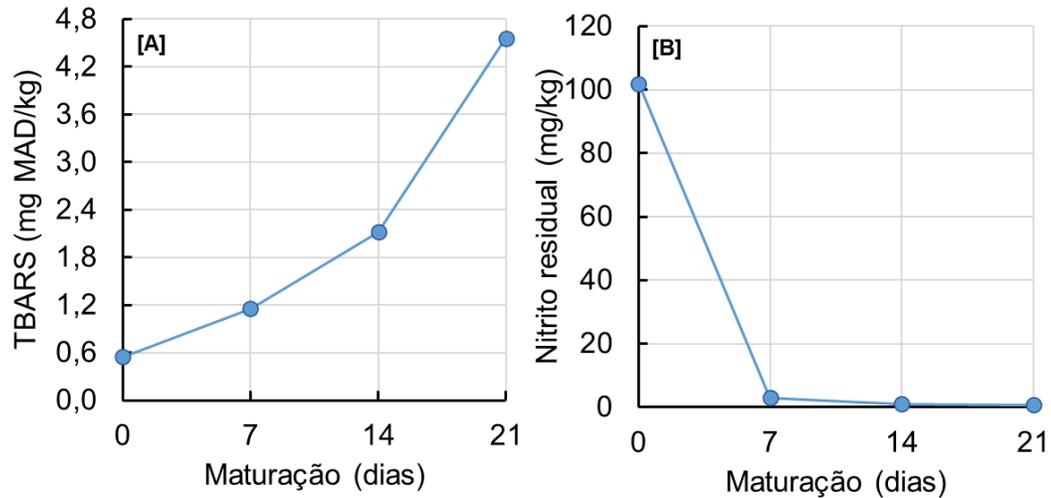
A queda brusca do pH nos primeiros dias era esperada em decorrência da produção de ácido láctico, pela ação das bactérias lácticas sobre os carboidratos presentes no produto (TERRA; BRUM, 1988), durante a etapa de fermentação, justificando a elevação da acidez nos primeiros sete dias (Figura 4D). A adição da cultura iniciadora Lyocarni RHM33, que contém *Pediococcus pentosaceus* e *Staphylococcus xylosum*, fez com que essas bactérias fossem as principais responsáveis pela fermentação e uniformização do produto.

Garcia *et al.* (2002) mostraram mudanças semelhantes no pH, que obteve rápido decréscimo nos cinco primeiros dias, e se manteve constante até o 21º dia. O conteúdo de ácido láctico inicial ( $0,58 \pm 0,47$  g de ácido láctico/100 g) foi superior ao encontrado por Fernández-López *et al.* (2008), que verificaram teor próximo a 0,2 de ácido láctico/100 g, justificando-se pelas bactérias iniciadoras utilizadas no presente estudo, responsáveis por uma maior atividade fermentativa (RUIZ *et al.*, 2014). O aumento dos metabólitos gerados no processo fermentativo, pela ação das bactérias ácido lácticas, ao se acumularem no produto ocasionou a queda no do pH ( $4,99 \pm 0,05$ ) e aumento da acidez ( $1,14 \pm 0,08$  g de ácido láctico/100 g).

Na avaliação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (índice de TBARS), houve a quantificação do teor de malonaldeído (MDA), um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poli-insaturados formados durante o processo oxidativo. Em relação aos valores de TBARS, verificou-se efeito ( $P < 0,05$ ) apenas do tempo de maturação. O aumento de TBARS durante o armazenamento (Figura 6A) pode ter sido motivado pela perda de umidade e redução da Aa, que aceleraram o processo de oxidação do produto (MENDES *et al.* 2013).

Outro provável fator é à ação das enzimas lipolíticas que liberam ácidos graxos insaturados livre, altamente susceptíveis à oxidação nos produtos cárneos, e que são influenciadas por diversos fatores relacionados ao processo de fabricação, como gordura, teor de sal e condimentos, grau moagem da carne, temperatura de maturação, o pH, e o potencial redox durante o processamento (RUIZ *et al.*, 2014).

Figura 6 - Valores médios de índice TBARS (A) e nitrito residual (B) durante 21 dias de maturação dos salaminhos.



Fonte: Da autora (2021).

O aumento da oxidação pode também estar relacionado à diminuição ( $P < 0,05$ ) da concentração residual de nitrito (Figura 6B) com o tempo de maturação, uma vez que as interações do nitrito com a porção heme dos pigmentos de mioglobina da massa cárnea evita que o ferro se oxide, o que lhe confere uma característica antioxidante (PEGG; SHAHIDI, 2000). A queda brusca da concentração do nitrito deve-se à sua conversão a óxido nítrico (NO), que em forma de gás há evaporação, e subsequente reação com os pigmentos heme e outros compostos presentes na massa cárnea, convertidos em nitrato (HONIKEL, 2008).

#### 4.1.2 Crescimento dos fungos

Durante o processo de maturação, observou-se o desenvolvimento de micélios de das culturas dos fungos *Penicillium nalgiovense* sobre a superfície do salame, nos diferentes tratamentos avaliados (Tabela 3), nos tempos dois e sete dias de maturação.

Tabela 3 - Fotos representativas dos salames em cada tratamento avaliado, nos tempos dois e sete dias de maturação

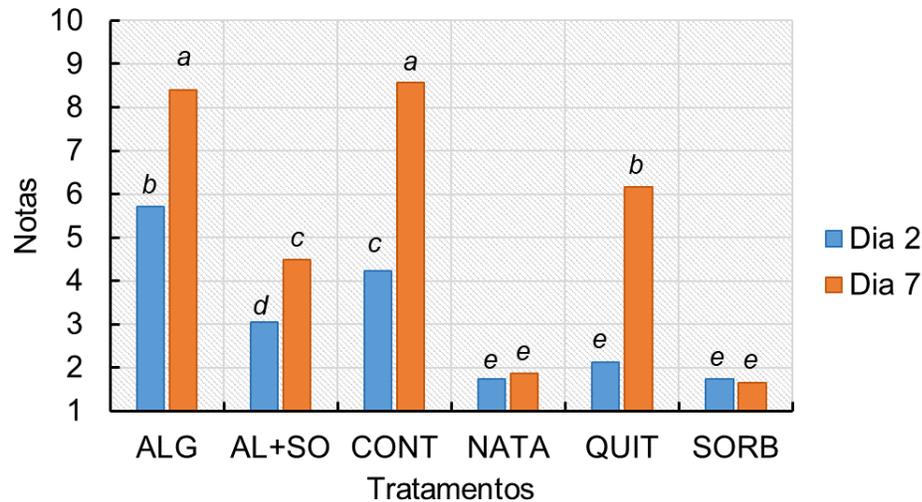
Tempo (Dias)	Tratamentos					
	CONT	ALG	QUIT	AL+SO	NATA	SORB
2						
7						

CONT = sem aplicação de filme; ALG = revestimento de alginato de sódio; AL+SO = revestimento de alginato de sódio e aspensão de sorbato de potássio, NATA = aspensão de natamicina; QUIT = revestimento de quitosana; SORB = aspensão de sorbato de potássio.

Fonte: Da autora (2021).

Os tratamentos NATA e SORB não diferiram ( $P > 0,05$ ) significativamente entre si (Figura 7), ao mesmo tempo em que se mostraram mais efetivos contra o crescimento do fungo, apresentando menores notas sensoriais nos dois tempos avaliados. Já o CONT se assemelha estatisticamente ( $P < 0,05$ ) com o ALG no dia 7, mostrando que o filme de alginato não teve eficiência na inibição fúngica nos salames

Figura 7 - Notas dos salames submetidos à diferentes tratamentos quanto à quantidade de fungo superficial nos tempos dois e sete dias de maturação.



CONT = sem aplicação de filme; ALG = revestimento de alginato de sódio; AL+SO = revestimento de alginato de sódio e aspersão de sorbato de potássio; NATA = aspersão de natamicina; QUIT = revestimento de quitosana; SORB = aspersão de sorbato de potássio. Nota: 1 = salame sem fungo na superfície; nota 10 = salame coberto de fungo de fungo na superfície.

<sup>a-e</sup>Barras com letras distintas diferem ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Fonte: Da autora (2021).

Os coeficientes de correlação (R) e sua significância associada às notas sensoriais e à cor instrumental da superfície dos salames são descritos na Tabela 4. Maiores correlações entre as imagens digitais e as notas sensoriais foram observadas para a fonte da imagem IMG 2, para os índices  $L^*$  e BR no tempo dois dias e para as fontes da imagem IMG 2 e IMG 3 para o tempo sete dias. Assim, a análise das duas cores em maior proporção (IMG2) obtida pelo ColorGrab foi escolhida para avaliação (Figura 7).

Ao avaliar o crescimento fúngico de forma instrumental pelo ColorGrab, a brancura (BR) no tempo sete dias não diferiu ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos ALG, CONT e QUIT (Figura 8), indicando o intenso crescimento do fungo e a não efetividade desses tratamentos, que se equipararam ao controle. Já nos AL+SO, NATA e SORB, no qual o fungo aparece em menor concentração na superfície do salaminho, é observado a efetividade dos antifúngicos aplicados, sendo confirmado pela análise sensorial (Figura 6), que mostra as notas referentes ao crescimento do fungo.

Tabela 4 - Coeficientes de correlação (R) e significância entre os índices de cor instrumental e as notas sensoriais para crescimento de fungos nos tempos dois e sete dias de maturação

Fonte da imagem	Índice	Dia 2		Dia 7	
		R	P-value	R	P-value
IMG	L*	<b>0,55</b>	<b>0,019</b>	<b>0,87</b>	<b>&lt;0,001</b>
	a*	<b>-0,48</b>	<b>0,045</b>	<b>-0,90</b>	<b>&lt;0,001</b>
	b*	<b>-0,49</b>	<b>0,038</b>	<b>-0,89</b>	<b>&lt;0,001</b>
	C*	<b>-0,54</b>	<b>0,021</b>	<b>-0,90</b>	<b>&lt;0,001</b>
	h	-0,02	0,936	<b>-0,84</b>	<b>&lt;0,001</b>
	BR	<b>0,64</b>	<b>0,004</b>	<b>0,89</b>	<b>&lt;0,001</b>
IMG2	L*	<b>0,62</b>	<b>0,006</b>	<b>0,89</b>	<b>&lt;0,001</b>
	a*	<b>-0,52</b>	<b>0,027</b>	<b>-0,90</b>	<b>&lt;0,001</b>
	b*	<b>-0,52</b>	<b>0,029</b>	<b>-0,89</b>	<b>&lt;0,001</b>
	C*	<b>-0,60</b>	<b>0,009</b>	<b>-0,90</b>	<b>&lt;0,001</b>
	h	-0,05	0,858	<b>-0,82</b>	<b>&lt;0,001</b>
	BR	<b>0,66</b>	<b>0,003</b>	<b>0,90</b>	<b>&lt;0,001</b>
IMG3	L*	<b>0,58</b>	<b>0,011</b>	<b>0,89</b>	<b>&lt;0,001</b>
	a*	-0,44	0,065	<b>-0,90</b>	<b>&lt;0,001</b>
	b*	<b>-0,49</b>	<b>0,040</b>	<b>-0,90</b>	<b>&lt;0,001</b>
	C*	<b>-0,53</b>	<b>0,022</b>	<b>-0,89</b>	<b>&lt;0,001</b>
	h	-0,10	0,686	<b>-0,77</b>	<b>&lt;0,001</b>
	BR	<b>0,63</b>	<b>0,005</b>	<b>0,90</b>	<b>&lt;0,001</b>

IMG = todas as cores; IMG2 = 2 cores em maior proporção; e IMG3 = 3 cores em maior proporção.

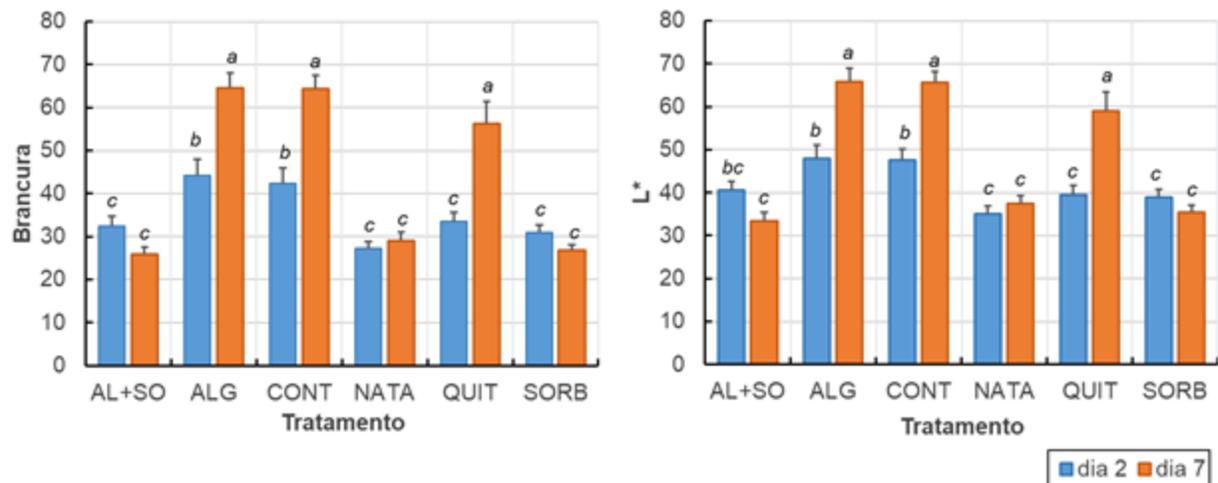
Coeficientes significativos ( $P < 0,05$ ) foram representados em negrito.

Fonte: Da autora (2021).

A brancura (BR) e o índice luminosidade (L\*) tem o mesmo comportamento ( $P < 0,05$ ) nos diferentes tratamentos, exceto AL+SO, este sendo diferente de NATA e SORB por ter crescimento fúngico na superfície externa do produto. Esses índices são os mais promissores para análise em substituição ao sensorial.

Assim, ao analisar o método instrumental e o sensorial de análise das fotos, é possível constatar que os tratamentos mais efetivos contra o crescimento fúngico foram os realizados com a aspersão do sorbato de potássio e da natamicina. Esses métodos já são utilizados na indústria de alimentos em grande escala.

Figura 7 - Média ( $\pm$  desvio padrão) dos índices de cor da superfície dos salames, submetidos à aplicação dos tratamentos, obtidas pela análise no ColorGrab pelas duas cores em maior proporção nos tempos 2 e 7 dias de maturação.



CONT = sem aplicação de filme; ALG = revestimento de alginato de sódio; AL+SO = revestimento de alginato de sódio e aspersão de sorbato de potássio; NATA = aspersão de natamicina; QUIT = revestimento de quitosana; SORB = aspersão de sorbato de potássio.

<sup>a-e</sup> Barras com letras distintas diferem ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Fonte: Da autora (2021).

Quanto aos revestimentos, no início do processo de fabricação, quando comparado com o controle no dia 2, a quitosana se mostrou pouco efetiva, diferentemente dos resultados obtidos por Arslan e Soyer (2018), no qual a efetividade da quitosana se compara à do sorbato de potássio, sendo de 100%. Por outro lado, Aldemir e Bostan (2009) afirmaram que a quitosana não teve efeito antifúngico, mostrando assim que a quitosana, em diferentes concentrações, possui diferentes características e efetividade de antifúngico.

O filme de alginato não mostrou efetividade, e ao ser associado ao sorbato, com o objetivo de auxiliar a secagem do produto, não houve significância.

## 4.2 Avaliação dos salames

O fluxo de água no salame acontece do interior para o meio externo. A diferença da umidade interna do salame, quando comparada com a umidade externa no produto foi significativa no produto, no qual o percentual de umidade externa foi de  $27,32 \pm 1,89$ , e o seu interior  $35,02 \pm 3,09$ .

Os parâmetros de dureza, coesividade, adesividade, flexibilidade e mastigabilidade não foram afetados ( $P > 0,05$ ) pelos tratamentos avaliados nos salames (Tabela 5).

Tabela 5 - Média ( $\pm$  desvio padrão) dos parâmetros de textura de salaminhos elaborados com diferentes revestimentos e antifúngicos

Tratamentos	Dureza (N)	Coesividade	Adesividade (N.mm)	Flexibilidade (mm)	Mastigabilidade (N.mm)
CONT	97,51 $\pm$ 44,52	0,45 $\pm$ 0,03	1,20 $\pm$ 0,80	6,64 $\pm$ 0,57	281,10 $\pm$ 111,08
ALG	109,65 $\pm$ 17,82	0,47 $\pm$ 0,04	1,43 $\pm$ 0,40	6,49 $\pm$ 0,79	328,43 $\pm$ 32,18
AL+SO	120,37 $\pm$ 27,79	0,42 $\pm$ 0,01	1,43 $\pm$ 0,68	6,70 $\pm$ 0,27	341,80 $\pm$ 76,31
NATA	105,22 $\pm$ 21,69	0,43 $\pm$ 0,02	1,67 $\pm$ 0,17	6,8 $\pm$ 0,62	305,14 $\pm$ 58,18
QUIT	116,94 $\pm$ 43,36	0,43 $\pm$ 0,04	1,63 $\pm$ 0,60	6,44 $\pm$ 0,73	318,07 $\pm$ 98,26
SORB	103,58 $\pm$ 20,23	0,41 $\pm$ 0,05	1,44 $\pm$ 0,89	6,80 $\pm$ 0,60	285,21 $\pm$ 55,62
Média	108,88 $\pm$ 29,24	0,43 $\pm$ 0,03	1,47 $\pm$ 0,59	6,45 $\pm$ 3,08	309,96 $\pm$ 71,94

CONT = sem aplicação de filme; ALG = revestimento de alginato de sódio; AL+SO = revestimento de alginato de sódio e aspersão de sorbato de potássio; NATA = aspersão de natamicina; QUIT = revestimento de quitosana; SORB = aspersão de sorbato de potássio.

Fonte: Da autora (2021).

A coesividade representa a força das ligações internas, a qual determina o quanto a amostra pode se deformar antes de se romper após a primeira compressão (RAMOS; GOMIDE, 2007). Em média, o valor de coesividade dos salaminhos avaliados foi de 0,43 $\pm$ 0,03, sendo este resultado semelhante àqueles encontrados por Coelho (2016), com média de 0,45 $\pm$ 0,06, assim como os parâmetros de flexibilidade e mastigabilidade encontrados por (MENDES *et al.*, 2013) (6,41  $\pm$  0,79 mm e 240,49  $\pm$  45,85 N.mm), sendo este um parâmetro de textura secundário, relacionado à flexibilidade, dureza e coesividade (RAMOS; GOMIDE, 2007).

A dureza é definida como a força requerida para a compressão do alimento pelos dentes e está diretamente relacionada com as propriedades de coesividade e fraturabilidade, ou seja, quanto mais duro o alimento, menor tende a ser a força necessária de compressão para que ocorra o rompimento do alimento (coesividade) e menor a força exigida para que o alimento se quebre (fraturabilidade) (HERRERO *et al.*, 2008). Como o salame é um produto mais firme e com baixa umidade, é explicado os baixos valores de coesividade para altos valores de dureza.

A redução da atividade de água de embutidos secos e fermentados é um dos principais fatores responsáveis pela textura dos produtos (FERNÁNDEZ-LÓPEZ, 2008). Quanto menor a atividade de água, mais seco tende a ser o produto, apresentando uma textura mais firme. Valores

de Aw abaixo de 0,88, conforme encontrados no presente estudo, foram capazes de comprometer a dureza do produto.

Conforme Tabela 6, a aplicação externa dos tratamentos não afetou ( $P > 0,05$ ) os índices de cor dos salames analisados.

Tabela 6 - Média ( $\pm$  desvio padrão) dos índices de cor de salaminhos elaborados com diferentes revestimentos e antifúngicos

Tratamentos	L*	a*	b*	C*	h
CONT	46,72 $\pm$ 1,32	10,73 $\pm$ 0,32	10,02 $\pm$ 0,95	14,69 $\pm$ 0,87	42,95 $\pm$ 1,97
ALG	47,48 $\pm$ 5,14	9,92 $\pm$ 1,10	8,98 $\pm$ 1,57	13,39 $\pm$ 1,71	41,99 $\pm$ 3,60
AL+SO	45,29 $\pm$ 0,50	11,20 $\pm$ 1,70	10,07 $\pm$ 1,63	15,06 $\pm$ 2,35	41,95 $\pm$ 0,28
NATA	48,72 $\pm$ 1,14	9,75 $\pm$ 1,29	8,72 $\pm$ 0,84	13,09 $\pm$ 1,40	41,89 $\pm$ 2,89
QUIT	46,48 $\pm$ 2,24	10,99 $\pm$ 0,63	9,38 $\pm$ 0,71	14,45 $\pm$ 0,87	40,44 $\pm$ 1,48
SORB	46,24 $\pm$ 1,79	10,32 $\pm$ 0,26	8,90 $\pm$ 0,57	13,63 $\pm$ 0,52	40,75 $\pm$ 1,50
Média	46,82 $\pm$ 2,02	10,48 $\pm$ 0,88	9,34 $\pm$ 1,05	14,05 $\pm$ 1,29	41,66 $\pm$ 1,95

L\* = luminosidade; a\* = índice de vermelho; b\* = índice de amarelo; C\* = saturação; h\* = tonalidade.

CONT = sem aplicação de filme; ALG = revestimento de alginato de sódio; AL+SO = revestimento de alginato de sódio e aspersão de sorbato de potássio; NATA = aspersão de natamicina; QUIT = revestimento de quitosana; SORB = aspersão de sorbato de potássio.

Fonte: Da autora (2021).

No índice de luminosidade (L\*) encontrados são próximos aos encontrados por KOUTSOPOULOS *et al.* (2008), com valores de L\* entre 44,25 a 47,09.

Para a\*, os valores se enquadram com outros encontrados na literatura (entre 10 a 25) para embutidos fermentados (ROSELINO, 2016), para b\*, os valores obtidos estão compatíveis aos encontrados por Barbut (2004) e Savoldi *et al.* (2019), médias de 10,3 e 6,70 respectivamente. Já C\* se equipara com os valores encontrados por Savoldi *et al.* (2019), 13,55 a 18,53.

A tonalidade do produto é convencionalmente dividida em quadrantes, onde na região do ângulo 0° a 25° se encontram as tonalidades vermelhas; de 25° a 70° as laranjas; e de 70° a 100° as tonalidades amarelas (RAMOS; GOMIDE, 2007). Nos salaminhos, esse ângulo de tonalidade (h\*) apresentou variação de 42,95 $\pm$ 1,97 e 40,44 $\pm$ 1,48.

## 5 CONCLUSÕES

A avaliação dos revestimentos comestíveis de quitosana e alginato não foram efetivos no controle do fungo *Penicillium nalgiovense*, assim como também não auxiliaram em uma secagem mais uniforme no salaminho e nem influenciaram os resultados obtidos nas análises físicas e químicas avaliadas quando comparadas ao controle.

O alginato de potássio juntamente com o sorbato teve uma efetividade antifúngica superior ao alginato sozinho, mostrando a efetividade da aplicação do sorbato de potássio. Já os agentes antimicrobianos sorbato de potássio e natamicina, se destacaram no trabalho como os tratamentos com maior capacidade antifúngica, inibindo o crescimento do fungo no salaminho. Esta inibição conferida pelo sorbato e natamicina, bem como os efeitos dos demais tratamentos no desenvolvimento do fungo, pôde ser acompanhada pela análise de imagens digitais, sendo corroborada pela análise sensorial.

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, D. M. **Embutidos crudos curados españoles**. Madri, Espanha: Ediciones Ayala. 225 p. 2000.
- ASEFA, D. T. et al. Fungal growth pattern, sources and factors of mould contamination in a dry-cured meat production facility. **International Journal of Food Microbiology**, v. 140, n. 2, p.131-135, 2010.
- ATHERSTONE, C., et al. **Síntese da literatura de aflatoxina e mapeamento de risco**: ênfase especial na África subsaariana. Relatório do projeto ILRI. Nairobi, Quênia: ILRI. 2014.
- AZEVEDO, J. L. Fungos – Genética e melhoramento de fungos na biotecnologia. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**: v.1, n. 1: p.12–15, 1997.
- BARBUT, S. Effect of retail lights on acceptability of salami. **Meat science**, v.66, p.219-23, 2004.
- BELLÍ, N. et al. Influence of water activity and temperature on growth of isolates of *Aspergillus* section *Nigri* obtained from grapes. **International Journal of Food Microbiology**, v.96, n.1, p.19-27, 2004.
- BLOM, H. et al. Accelerated production of dry fermented sausage. **Meat science**, v. 43,n.1, p.229-242, 1996.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA). Instrução Normativa N° 20, de 21 de julho de 1999. Oficializa os Métodos Analíticos Físico-químicos para Controle de Produtos Cárneos e seus Ingredientes Sal e Salmoura. Brasília, **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, seção 1, 1999.
- BREWER, S. Irradiation effects on meat color - A review. **Meat science**, v.68, p.1-17, 2004.
- BRITO, V. H. et al. Cyanide influence on the growth of mycotoxigenic fungi from cassava flour in vitro. **African Journal of Microbiology Research**, v.9, n.1 p.1184, 2015.
- BRUNA, J. M. et al. Changes in selected biochemical and sensory parameters as affected by the superficial inoculation of *Penicillium camemberti* on dry fermented sausages. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.85, n.1-2, p.111-25, Aug. 2003.
- BRUNA, J. M. et al. Microbial and physico-chemical changes during the ripening of dry fermented sausages superficially inoculated with or having added an intracellular cell-free extract of *Penicillium aurantiogriseum*. **Meat Science**, v.59, n.1, p.87-96, 2001.

BUENO, L. O. et al. Acompanhamento de mudanças na cor de carnes a partir de imagens obtidas de smartphones: uma nova abordagem. **Higiene Alimentar**, v. 33, p. 837-841, 2019.

CARDOSO, G. P. et al. Selection of a chitosan gelatin-based edible coating for color preservation of beef in retail display. **Meat Science**, v.114, p.85-94, 2016.

CASABURI, A. et al. Biochemical and sensory characteristics of traditional fermented sausages of Vallo di Diano (Southern Italy) as affected by the use of starter cultures: **Meat Science**. v. 76, p. 295-307, 2007.

CASTRO, L. C. et al. Efeito do uso da cepa starter de *Penicillium nalgioense* na qualidade de salames. **Food Science and Technology**, v.20, p.40-46, 2000.

CHIDANANDAIAH et al. Effect of sodium alginate coating with preservatives on the quality of meat patties during refrigerated ( $4 \pm 1$ °C) storage. **Journal of Muscle Foods**, v.20, n.3, p.275-292, 2009.

CIROLINI, A. et al. Salame tipo italiano elaborado com culturas starters nativas. **Ciencia E Tecnologia De Alimentos**, v. 30, p. 15-19, 2010.

COOK, P. E. Fungal ripened meats and meat products. In: CAMPBELL-PLATT, G.E, COOK, P. E. (Ed.). **Fermented Meats**, Boston, MA: Springer US, p.110-129, 1995.

CRIADO, P. et al. Cellulose nanocrystals (CNCs) loaded alginate films against lipid oxidation of chicken breast. **Food Research International**, v.132, 2020.

DALLA SANTA, O. R. **Avaliação da qualidade de salames artesanais e seleção de culturas starter para a produção de salame tipo italiano**. 2008. 133 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

DEGENHARDT, R.; SANT'ANNA, E. S. Survival of *Listeria monocytogenes* in low acid italian sausage produced under brazilian conditions. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.38, p.309-314, 2007.

DELGADO, J. et al. Growth inhibition and stability of PgAFP from *Penicillium chrysogenum* against fungi common on dry-ripened meat products. **International Journal of Microbiology**, v. 205, p.23-9, 2015.

DRAGET, K. I. et al. Homogeneous alginate gels: A technical approach. **Carbohydrate Polymers**, v.14, n.2, p.159-178, 1990.

DROSINOS, E. H. et al. Characterization of the microbial flora from a traditional Greek fermented sausage. **Meat Science**, v.69, n.2, p.307-17, 2005.

DUTTA, P. et al. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. **Food Chemistry**, v.114, p.1173-1182, 2009.

- EARLE, R. D. Method for preserving food by coating. **Quality in Frozen Food**, v.3, p. 395, ago 1968.
- ESSID, I. et al. Characterization and technological properties of *Staphylococcus xylosum* strains isolated from a Tunisian salted meat. **Meat science**, v.77, p.204-12, jan 2007.
- FAO. **Risk-based food inspection manual**. FAO, Rome 2008.
- FARIA, T. D. J. et al. Antifungal activity of essential oil isolated from *Ocimum gratissimum* L. (eugenol chemotype) against phytopathogenic fungi. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.49, p.867-871, 2006.
- FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. Physico-chemical and microbiology profiles of “salchichón” (Spanish dry-fermented sausage) enriched with orange fiber. **Meat Science**. v. 80, p. 410-417, 2008.
- FRANCO, B. D. G. M. et al. **Fatores Intrínsecos que Controlam o Desenvolvimento Microbianos Alimentos**. São Paulo: Atheneu: 13-26 p. 2008.
- FREY, W. **Fabricacion Fiable de Embutidos**. Espanha: Editorial Acribia, 1983.
- GENNADIOS, A. et al. Application of edible coatings on meats, poultry and seafoods: a review. **LWT - Food Science and Technology**. v.30, n. 6, p. 337-350, 1997.
- GQALENI, N. et al. Effects of Temperature, Water Activity, and Incubation Time on Production of Aflatoxins and Cyclopiazonic Acid by an Isolate of *Aspergillus flavus* in Surface Agar Culture. **Applied and Environmental Microbiology** v.63, n. 3, p.1048-1053, 1997.
- GRAZIA, L. et al. The role of moulds in the ripening process of salami. 1986. **Food Microbiology**, n.3, p.1048-1053, 1997.
- GUIMARAES, A. S. et al. Characterization of natural curing agents from Japanese radish (*Raphanus sativus* L.) for their use in cooked cured meat products. **LWT - Food Science and Technology**, v.150, p.111970, 2021.
- HAGEN, B. F. et al. Bacterial Proteinase Reduces Maturation Time of Dry Fermented Sausages. **Journal of Food Science**, v. 61, n. 5, p .1024-1029, 1996.
- HANSEN, C. **Bactoferm™ Meat Manual**. – Function and application of starter cultures for fermented sausages, Whole muscles: Dry, cured ham. Pohlheim, Alemanha: 61 p. 2001.
- HERRERO, A. M. et al. Tensile properties of cooked meat sausages and their correlation with texture profile analysis (TPA) parameters and physico-chemical characteristics. **Meat Science**, v.80, n.3, p.690-696, 2008.

HOANG, Y.; VU, A. Sodium Benzoate and Potassium Sorbate in Processed Meat Products Collected in Ho Chi Minh City, Vietnam. **International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology**, v.6, p.477, 2016.

HONIKEL, K. O. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. **Meat Science**, v.78, n.1-2, p.68-76, 2008.

HOUSER, T. A. et al. Effects of Irradiation on Properties of Cured Ham. **Journal of Food Science**, v.68, p.2362-2365, 2003.

IACUMIN, L. et al. Ochratoxigenic mold and ochratoxin A in fermented sausages from different areas in Northern Italy: Occurrence, Reduction or Prevention with ozonated air. **Journal of Food Safety**, v.31, p.538-545, 2011.

IARC, I. A. F. R. O. C. **In Some Naturally Occurring Substances: Food items and constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and mycotoxins**. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risks to humans. IARC Press, Lyon, 1993. 249-395 p.

JAGER, A. V. et al. Assessment of aflatoxin intake in São Paulo, Brazil. **Food Control**, v.33, n.1, p.87-92, 2013.

JEON, Y. J. et al. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and atlantic cod. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.18, p.51-67, 2002.

JUNEJA, V. K. et al. Chitosan Protects Cooked Ground Beef and Turkey Against Clostridium perfringens Spores During Chilling. **Journal of Food Science**, v.71, n.6, p.M236-M240, 2006.

KESTER, J. J.; FENNEMA, O. R. Edible films and coatings: A review. **Food Technology**, v.40, n.12, p.47-59, 1986.

KITANO, K. et al. Mutagenicity and DNA-damaging activity caused by decomposed products of potassium sorbate reacting with ascorbic acid in the presence of Fe salt. **Food and Chemical Toxicology**, v. 40, p. 1589-1594, 2002.

KHAN, M. I. et al. Application of edible coating for improving meat quality: a review. **Pakistan Journal of Food Sciences**, v.23, n.2, p.71-79, 2013.

KIM, J.-H. et al. Effect of layer-by-layer antimicrobial edible coating of alginate and chitosan with grapefruit seed extract for shelf-life extension of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) stored at 4 °C. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.120, p.1468-1473, 2018.

KRISTO, E. et al. Thermal, mechanical and water vapor barrier properties of sodium caseinate films containing antimicrobials and their inhibitory action on *Listeria monocytogenes*. **Food Hydrocolloids**, v.22, n.3, p.373-386, 2008.

- KROCHTA, J. M.; DEMULDER-JOHNSTON, C. Edible and Biodegradable Polymer Film: Challenges and Opportunities: Scientific Status Summary. **Food Technology**, v.5, n.2, p.61-74, 1997.
- KULIG, D. et al. Study on Alginate-Chitosan Complex Formed with Different Polymers Ratio. **Polymers**, v.8, n.5, p.167, 2016.
- KULIG, D. et al. Effect of Film-Forming Alginate/Chitosan Polyelectrolyte Complex on the Storage Quality of Pork. **Molecules**, v.22, n.1, p. 89-96, 2017.
- KUMAR, A. et al. Chemical composition, antifungal and antiaflatoxigenic activities of *Ocimum sanctum* L. essential oil and its safety assessment as plant based antimicrobial. **Food and chemical toxicology**, v.48, p.539-43, 2009.
- KUMAR, M. A Review of Chitin and Chitosan Applications. **Reactive and Functional Polymers**, v.46, p.1-27, 2000.
- KURITA, K. Chitin and Chitosan: Functional Biopolymers from Marine Crustaceans. **Marine biotechnology**, v.8, p.203-26, 2006.
- KURTZMAN, C. P. et al. *Aspergillus nomius*, a new aflatoxin-producing species related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamarii*. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v.53, n.3, p.147-58, 1987.
- LABELL, F. Edible packaging. **Food technology**, v.52, n.12, p.24-26, 1991.
- LAZARUS, C. R. et al. Evaluation of a calcium alginate coating and a protective plastic wrapping for the control of lamb carcass shrinkage. **Journal of Food Science**, v.41, n.3, p.639-641, 1976.
- LI, Y. et al. Physicochemical characterization and antibacterial property of chitosan acetates. **Carbohydrate Polymers**, v.67, n.2, p.227-232, 2007.
- LÜCKE, F. K.; HECHELMANN, H. Starter cultures for dry sausages and raw ham. Composition and effect. **Fleischwirtschaft**, v. 67, n.1 p. 307- 314, 1987.
- LUDEMANN, V. et al. Determination of growth characteristics and lipolytic and proteolytic activities of *Penicillium* strains isolated from Argentinean salami. **International Journal of Food Microbiology**, v.96, n.1, p.13-8, 2004.
- LUSKY, K. et al. The effect of natural and crystalline ochratoxin A in pigs after 28 day-feeding period and the residues of the mycotoxin in the body fluids organs and meat products. **Archives of Food Hygiene**, v.46, p.48, 1995.

- MAIA, L. et al. Filmes Comestíveis: Aspectos Gerais, Propriedades De Barreira A Umidade E Oxigênio. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v.18, n.5, p. 112-115, 2005.
- MARCO, A. et al. The influence of nitrite and nitrate on microbial, chemical and sensory parameters of slow dry fermented sausage. **Meat Science**, v.73, n.4, p.660-673, 2006.
- MATOS, C. R. **Parahidroxifenilsalicilamida e natamicina no controle de fungos na superfície de salames tipo milano**. 2009. 71 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Santa Catarina, Florianópolis, 2009.
- MATOS, T. J. S. et al. Mycoflora of two types of Portuguese dry-smoked sausages and inhibitory effect of sodium benzoate, potassium sorbate, and methyl p-hydroxybenzoate on mold growth rate. **Journal of Food Protection**, v.70, n.6, p.1468-1474, 2007.
- MENDES, A. et al. Salames tipo Milano elaborados com fibras de subprodutos da produção de vinho tinto. **Ciência Rural**, v.44,n. 2, p.1291-1296, 2014.
- MENG, X. et al. Chitosan and alginate polyelectrolyte complex membranes and their properties for wound dressing application. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v.21, n.5, p.1751-1759, 2010.
- MORENO, I. Efeito e modo de ação das bactericinas produzidas por *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ITAL 383, ATCC 11454 e CNRZ 150 contra *Listeria innocua* LIN 11. **Ciência Tecnologia Alimentos**, v. 19, n. 1, p. 23-28, 2000.
- OBREGÓN, A. C. **Métodos de Conservación em Cárnicos y Lácteos: Mundo Lácteo e Cárnico**: 24 p. 2004.
- ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de Alimentos - Alimentos de Origem Animal**. São Paulo: Editora Artmed.2005. 279 p.
- OUATTARA, B. et al. Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. **International Journal of Food Microbiology**, v.62, n.1, p.139-148, 2000.
- PASTER, N.; BULLERMAN, L. B. Mould spoilage and mycotoxin formation in grains as controlled by physical means. **International Journal of Food Microbiology**, v.7, n.3, p.257-65, 1988.
- PASTORE, G. M.; MACEDO, G. A. **Utilização de fungos na indústria de alimentos**. Caixias do Sul: Esposito, 2004.
- PATHARE, P.B. et al. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, p. 36–60, 2013.

- PEGG, R. B.; SHAHIDI, F. **Nitrite curing of meat : the N-nitrosamine problem and nitrite alternatives**. ed. Trumbull, Conn.: Food & Nutrition Press, 2000.
- PERRONE, G. et al. *Penicillium salamii*, a new species occurring during seasoning of dry-cured meat. **International Journal of Food Microbiology**, v.193, p.91-8, 2015.
- PIERSON, M. D. et al. Nitrite, nitrite alternatives, and the control of clostridium botulinum in cured meats. **C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.17, n.2, p.141-187, 1983.
- PIKUL, J. et al. Evaluation of three modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.37, n.5, p.1309-1313, 1989.
- PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and Food Spoilage**. 3 ed. Springer US, 2009. XVI, 520 p.
- PIZZOLATO MONTANHA, F. et al. Mycotoxins in dry-cured meats: A review. **Food Chemistry and Toxicology**, v.111, p.494-502, 2018.
- PRADO, C. et al. Atividade antimicrobiana de bactérias lácticas de embutidos curados frente a *Listeria monocytogenes*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n. 2, p. 57-60, 2000.
- QI, L.-F. et al. In vitro effects of chitosan nanoparticles on proliferation of human gastric carcinoma cell line MGC803 cells. **World Journal of Gastroenterology**, v.11, p.5136-41, Oct. 2005.
- QIUPING, Z.; WENSHUI, X. Effect of 1-methylcyclopropene and/or chitosan coating treatments on storage life and quality maintenance of Indian jujube fruit. **LWT - Food Science and Technology**, v.40, p.404-411, 2007.
- RAMOS, E. M. **Tecnologia de Processamento de Carnes e Derivados: Material Prático**. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB: 2005. 101 p.
- RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da qualidade de carnes: fundamentos e metodologias**. Viçosa: Editora UFV, 2007. 599 p.
- RHOADES, J.; ROLLER, S. Antimicrobial actions of degraded and native chitosan against spoilage organisms in laboratory media and foods. **Applied and environmental microbiology**, v.66, n.1, p.80-86, 2000.
- RODRÍGUEZ, A. et al. Presence of ochratoxin A on the surface of dry-cured Iberian ham after initial fungal growth in the drying stage. **Meat Science**, v.92, n.4, p.728-34, 2012.

- RUIZ, J. N. et al. Physicochemical, microbiological and sensory assessments of Italian salami sausages with probiotic potential. **Scientia Agricola**, v.71, p.204-211, 2014.
- SAGGIORATO, A. G. et al. Antifungal Activity of Basil Essential Oil (*Ocimum basilicum* L.): Evaluation In Vitro and on an Italian-type Sausage Surface. **Food and Bioprocess Technology**, v.5, n.1, p.378-384, 2012.
- SAGOO, S. et al. Chitosan inhibits growth of spoilage microorganism in chilled pork products. **International Journal of Food Microbiology**, v.19, p.175-182, 2002.
- SARTORATTO, A. et al. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.35, p.275-280, 2004.
- SATHIVEL, S. et al. The influence of chitosan glazing on the quality of skinless pink salmon (*Oncorhynchus gorbusha*) fillets during frozen storage. **Journal of Food Engineering**, v.83, n.3, p.366-373, 2007.
- SAVOLDI, D. C. et al. **Physical and sensory characteristics of Italian-Type Salami with propolis addition**. Revista de Ciências Agroveterinárias, v.18, n.2, p.212-221, 2019.
- SCHMIDT-HEYDT, M. et al. The application of transcriptomics to understand the ecological reasons of ochratoxin a biosynthesis by *Penicillium nordicum* on sodium chloride rich dry cured foods. **Trends in Food Science & Technology**, v.22, p.S39-S48, 2011.
- SILVA, H. S. R. C. et al. Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. **Química Nova**, v.29, p.776-785, 2006.
- SILVA, R. et al. Optimized Descriptive Profile: A rapid methodology for sensory description. **Food Quality and Preference**, v. 24, n. 1, p. 190-200, 2012.
- SIMONCINI, N. et al. Effect of added autochthonous yeasts on the volatile compounds of dry-cured hams. **International Journal of Food Microbiology**, v.212, p.25-33, 2015.
- SOFOS, J. N. **Sorbate Food Preservatives**. Florida: CRC Press: 237 p. 1989.
- SONJAK, S. et al. The mycobiota of three dry-cured meat products from Slovenia. **Food Microbiology**, v.28, n.3, p.373-6, 2011.
- SOULTOS, N. et al. Chitosan effects on quality properties of Greek style fresh pork sausages. **Meat Science**, v.80, n.4, p.1150-1156, 2008.
- SOUZA, E. L. Effectiveness of *Origanum vulgare* L. essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeasts. **International Journal of Food Microbiology**, v. 18, n.5, p.. 409-413 2007.

SPOTTI, E. et al. Characteristics and Applications of Molds. **Meat Biotechnology**, p.181-195, 2008.

SULOFF, E. et al. Comparative Study of a Semisynthetic Derivative of Natamycin and the Parent Antibiotic on the Spoilage of Shredded Cheddar Cheese. **Journal Of Food Protection**, v.66, p.1499-502, 2003.

SUNESSEN, L. O.; STAHNKE, L. H. Mould starter cultures for dry sausages-selection, application and effects. **Meat Science**, v.65, n.3, p.935-48, 2003.

SWEENEY, I. R. et al. Absorbent alginate fibres modified with hydrolysed chitosan for wound care dressings – II. Pilot scale development. **Carbohydrate Polymers**, v.102, p.920-927, 2014.

TERRA, N. N. **Apontamentos de tecnologia de carnes**. São Leopoldo: Editora Unisinos, 1998. 216 p.

TERRA, N. N.; BRUM, M. A. R. **Carnes e seus derivados: técnicas de controle de qualidade**. São Paulo: Nobel, 1988. 121 p.

UDOMKUN, P. et al. Mycotoxins in Sub-Saharan Africa: Present situation, socio-economic impact, awareness, and outlook. **International Journal of Food Control**, v.72, p.110-122, 2017.

UDOMKUN, P. et al. Innovative technologies to manage aflatoxins in foods and feeds and the profitability of application - A review. **International Journal of Food Control**, v.76, p.127-138, 2017.

VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. P. **Carne y productos cárnicos: Tecnología, química y microbiología**. Saragoça, Espanha: Editora Acribia, 1998.

VÖLKEL, I. The Carry-Over of Mycotoxins in Products of Animal Origin with Special Regard to Its Implications for the European Food Safety Legislation. **Food and Nutrition Sciences**, v.02, p.852-867, 2011.

VURAL, H. The use of commercial starter cultures in the production of Turkish semi-dry fermented sausages. **Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A**, v.207, n.5, p.410-412, 1998.

WALKER, R. Toxicology of sorbic acid and sorbates. **Food additives and contaminants**, v.7, n.5, p.671-676, 1990.

YADAV, A. V.; BHISE, S. B. Chitosan: A potential biomaterial effective against typhoid. **Current Science**, v.87, p.1176-1178, 2004.

ZANARDI, E. et al. Lipolysis and lipid oxidation in fermented sausages depending on different processing conditions and different antioxidants. **Meat Science**, v.66, n.2, p.415-423, 2004.

ZHENG, L.-Y.; ZHU, J.-F. Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights. **Carbohydrate Polymers**, v.54, n.4, p.527-530, 2003.

## ANEXOS

### ANEXO A – PARACER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
LAVRAS



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Avaliação visual do crescimento de fungos em salaminhos

**Pesquisador:** LUIZA MARIA AMARAL FROSSARD DE PAULA

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 46446021.5.0000.5148

**Instituição Proponente:** Universidade Federal de Lavras

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 4.794.066

##### **Apresentação do Projeto:**

**Resumo:** A elaboração de produtos cárneos fermentados, em especial o salaminho, apresenta diversas dificuldades durante o seu processo de produção. Durante a maturação, com variáveis controladas, alta temperatura, alta umidade, e com alta disponibilidade de matéria orgânica, o ambiente se torna propício para o crescimento de fungos no produto. Esse crescimento, embora não seja maléfico ao produto, precisa ser avaliado pois interfere nas características sensoriais do produto. Assim, o projeto consistiu na captura de fotos durante todo o experimento afim de avaliar os diferentes tratamentos e sua efetividade durante o processo de maturação. A aplicação de questionário online com essas fotos é utilizada para associar o quanto de fungo proliferou na superfície do salaminho, fazendo a quantificação fúngica, correlacionando os dados sensoriais com os dados medidos pelo software de análise de imagens. Os participantes serão recrutados através de grupos de alunos de Engenharia de Alimentos e do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos da UFLA. Quem aceitar participar da pesquisa vai manifestar eletronicamente sua concordância com o TCLE antes de ser direcionado ao questionário.

**Hipótese:** A partir dos resultados obtidos, poderá ser concluído a efetividade do projeto, quanto à proliferação do fungo no salaminho.

**Metodologia Proposta:** A pesquisa será realizada totalmente de forma online. Inicialmente os

Continuação do Parecer: 4.794.066

participantes serão convidados a participar da pesquisa através de grupos de estudantes de Engenharia de Alimentos e do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos da UFLA. Os voluntários que tiverem interesse em participar da pesquisa manifestarão seu consentimento, concordando de forma eletrônica com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) apresentado no Anexo 1. Após o aceite do TCLE, o voluntário será direcionado para um site onde o questionário (Anexo 2) será aplicado através de um formulário Google. O questionário é anônimo. O voluntário poderá desistir de sua participação a qualquer momento, bastando apenas não enviar o formulário. O mesmo voluntário participará de 3 sessões, através do preenchimento de 3 questionários.

#### **Objetivo da Pesquisa:**

**Objetivo Primário:** Avaliação de diferentes antifúngicos aplicados em salaminhos em diferentes dias da maturação, acompanhando o crescimento fúngico por meio de fotos. Por aplicação de questionário online, essas fotos serão utilizadas para associar o quanto de fungo proliferou na superfície do salaminho, fazendo a quantificação fungica, correlacionando os dados sensoriais com os dados medidos pelo software de análise de imagens.

#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:** O risco associado a essa pesquisa é MINIMO e está associado ao constrangimento por conta das perguntas presentes no questionário. Entretanto, o questionário proposto não apresenta perguntas invasivas que possam causar constrangimento aos participantes. Além disso, o questionário não será identificado, de forma a garantir o anonimato. **Benefícios:** Os participantes terão oportunidade de conhecer um pouco mais sobre a aplicação de fungos em salaminho. O presente trabalho também contribuirá com a sociedade e a indústria de alimentos fornecendo insumos para o possível desenvolvimento de um novo produto.

#### **Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Estudo de caráter transversal a ser realizado na Universidade Federal de Lavras com aplicação de questionário online em indivíduos adultos estudantes de cursos de graduação e pós-graduação. Serão recrutados 30 participantes para preenchimento do questionário em questão.

#### **Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Vide campo "Conclusões ou pendências e Lista de Inadequações".

#### **Recomendações:**

Vide campo "Conclusões ou pendências e Lista de Inadequações".

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

LAVRAS, 21 de Junho de 2021

---

Assinado por:

**ALCINÉIA DE LEMOS SOUZA RAMOS**  
(Coordenador(a))