

<título de capítulo>Capítulo 12

Produtos cárneos fermentados

Carmen Josefina Contreras-Castillo,¹ Carmen Milagros Sinche Ambrosio,¹ Giovana Vergínia Barancelli,¹ Angela Dulce Cavenaghi Altemio¹

<sub1>12.1 Introdução e conceitos

A carne fresca é um dos alimentos mais perecíveis. Rica em proteínas e com alto teor de água, apresenta curto período de vida útil, devendo ser preservada mediante o uso de técnicas de conservação. Nesse contexto, a fermentação é um processo biológico natural dinâmico e um importante meio de preservação, que evoluiu para ser aplicada na carne, mas que raramente é empregada sozinha. A carne, portanto, é conservada pela combinação da fermentação e de técnicas de redução da atividade da água. Esse tipo de fermentação é caracterizado por contínuas alterações bioquímicas, biofísicas e microbiológicas. Uma de suas principais vantagens se deve ao fato de ser facilmente adotada como estratégia de conservação em países em desenvolvimento com problemas de refrigeração.

Registros históricos indicam que os produtos cárneos fermentados surgiram no Mediterrâneo; são consumidos há séculos, sendo muito apreciados pelos antigos gregos e romanos. Constituem parte da dieta da população mundial, incluindo a brasileira, com destaque para a Europa como maior produtora e consumidora. Para cárneos fermentados, a matéria-prima é submetida à ação de microrganismos ou enzimas, principalmente amilases, proteases e lipases responsáveis pela hidrólise de polissacarídeos, proteínas e lipídios, em produtos diversos do metabolismo. São alimentos microbiologicamente seguros para o consumo, especialmente devido ao efeito conservante decorrente do acúmulo de ácido láctico, que reduz o pH, e também pelo teor de sal utilizado, que reduz a atividade de água. Apresentam, ainda, características como sabores peculiares (forte e picante), palatabilidade, cor, aromas e textura (elástica), bastante atraentes para o consumidor. A fermentação também aumenta a qualidade nutricional em termos de peptídeos, aminoácidos essenciais, ácidos graxos essenciais e vitaminas.

¹ Laboratório de Qualidade e Processamento de Carnes, Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição (LAN), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), Piracicaba, São Paulo, Brasil.

Os produtos cárneos fermentados mais conhecidos são o salame, o presunto cru, o charque, a copa, certos tipos de linguiças e outros embutidos. Estes tipos de produtos apresentam variações na matéria-prima, formulação e processo de fabricação, de acordo com os costumes e hábitos de diferentes países e regiões. Neste capítulo, serão discutidos os aspectos mais relevantes acerca da microbiologia da fermentação da carne, os processos bioquímicos decorrentes da fermentação microbiana, e as características de qualidade, sensoriais, nutricionais e de segurança conferidas pela fermentação. Embora esse seja o foco do presente capítulo, começaremos abordando os principais aspectos relacionados à tecnologia do processamento de cárneos fermentados, importantes para o completo entendimento acerca do papel dos microrganismos na qualidade desse grupo de alimentos.

<sub1>12.2 Processamento de produtos cárneos fermentados

<sub2>12.2.1 Embutidos fermentados secos e semissecos

Os embutidos fermentados podem ser genericamente classificados como secos ou semissecos, entre os quais se inserem os fermentados cozidos. São caracterizados pelo baixo teor de umidade e pela presença de ácido lático, que confere ao produto sabor agradável (ácido e picante) e textura elástica. O fluxograma da Figura 12.1 apresenta as etapas da elaboração de embutidos fermentados secos e semissecos.

As matérias-primas cárneas comumente utilizadas na elaboração desses embutidos são suínas e/ou bovinas, além de gordura suína. As matérias-primas podem ser mantidas a temperaturas abaixo de $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$, porém não superiores a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, uma vez que as partículas de gordura podem envolver a carne, dificultando a retirada de água, impedindo a solubilização das proteínas e facilitando o crescimento de bactérias indesejáveis.

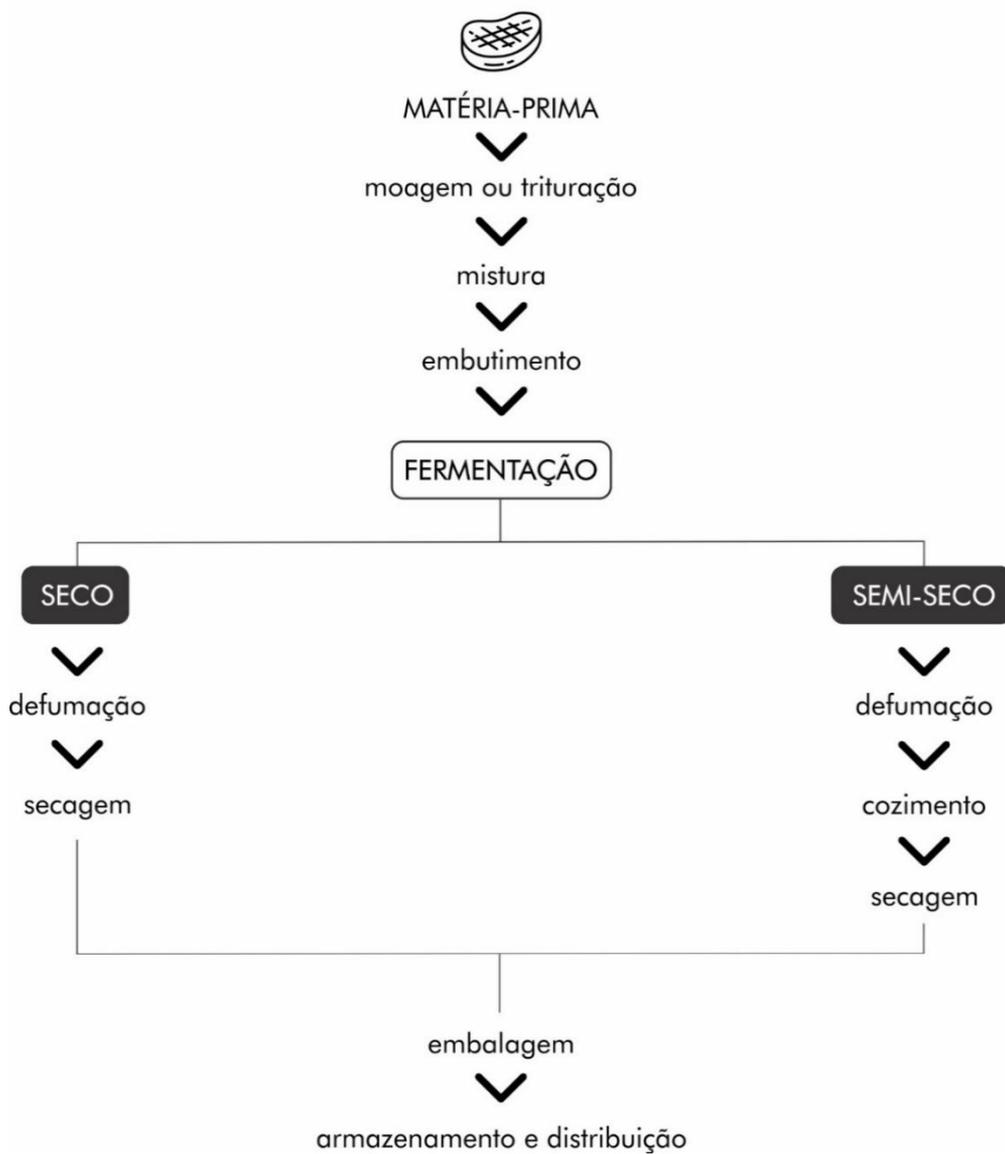


Figura 12.1 Fluxograma para elaboração de embutido fermentado seco e semiseco.

A etapa de moagem ou trituração pode ser realizada utilizando-se moedor ou *cutter* (a vácuo ou não). A mistura somente é necessária quando se utiliza a moagem. A sequência de adição dos ingredientes tanto na trituração como na misturadeira deve ser respeitada, para favorecer a reação de cura do produto. O cloreto de sódio confere sabor, atua como conservante, reduz a atividade de água e solubiliza as proteínas miofibrilares. A quantidade varia de 2% a 3%, sendo 2% a quantidade mínima necessária para solubilizar as proteínas miofibrilares; até 3%, BAL não são afetadas, uma vez que são halotolerantes. Em carnes pálidas, moles e exsudativas (PSE – pale, soft, exudative), a alta permeabilidade das membranas das células musculares facilita a penetração dos íons Cl⁻ e Na⁺. Essas carnes são salgadas mais rapidamente. No caso das carnes escuras, duras

e secas (DFD – dark, firm and dry), o fenômeno é inverso, pois as membranas celulares musculares são muito menos permeáveis. Essa característica é importante, pois pode impactar o desenvolvimento da microbiota fermentadora. Em estudos que substituíram parcialmente NaCl por KCl, a contagem em UFC de BAL/g foi maior do que a observada quando da presença somente de NaCl.

Quanto aos conservadores nitrato e nitrito de sódio ou potássio, a legislação estabelece no máximo 300ppm e 150ppm respectivamente, para produtos cárneos. O nitrato não apresenta nenhuma atividade inibidora contra *Clostridium botulinum*, bactéria causadora de severa intoxicação alimentar. A atividade antimicrobiana depende da redução do nitrato a nitrito pela enzima nitrato-redutase bacteriana, e, posteriormente, a óxido nítrico. Assim, a adição de nitrato à massa dos embutidos fermentados tem como objetivo um suprimento contínuo de nitrito durante a fabricação e o armazenamento do produto. Quando se utiliza somente nitrato na formulação e açúcar em quantidade excessiva, o valor de pH se reduz rapidamente no início da fermentação, dificultando a redução do nitrato a nitrito, o que impacta negativamente a coloração do produto. Estudos demonstram que embutidos fermentados produzidos com nitrato ou pequenas quantidades de nitrito frequentemente têm melhor sabor do que aqueles com quantidades usuais de nitrito. Isso pode estar relacionado à inibição da atividade microbiana na síntese dos componentes de sabor ou seus precursores quando altas concentrações de nitrito são utilizadas (LÜCKE, 1985). Cabe ressaltar, ainda, que os conservantes utilizados não exercem efeitos significativos na acidificação, pois as culturas iniciadoras são resistentes ao nitrito; logo, conseguem se desenvolver, produzir ácido lático e acidificar a massa cárnea na presença desses componentes.

Os açúcares (dextrose, sacarose, xarope de milho) são utilizados como fonte de carbono para o crescimento da microbiota láctica. Dextrose e glicose são melhores do que sacarose, pois são mais facilmente assimiladas e fermentadas pelas bactérias. No entanto, a sacarose hidrolisa-se rapidamente e é totalmente consumida, o que resulta em sabor ácido menos acentuado quando comparado com a dextrose em valores de pH final equivalentes. A quantidade recomendada de açúcares simples (como a dextrose) é de até 1%, porém a ideal para que se atinjam a coloração e a acidez desejadas é em torno de 0,4%.

Um dos ingredientes mais importantes na formulação de embutidos cárneos compreende as culturas iniciadoras. Estas têm a finalidade de acelerar o processo de fermentação, produzir sabor, textura e reduzir o nitrato a nitrito. O uso de linhagens

selecionadas tem como principal objetivo a inibição da microbiota autóctone da carne, que, quando não controlada, pode causar diversos tipos de defeitos no produto, como produção de ácido acético, etanol e ácido fórmico. As culturas iniciadoras estão geralmente disponíveis na forma liofilizada ou congelada. Na forma liofilizada, devem ser hidratadas trinta minutos antes da adição à massa ou conforme recomendação do fabricante. Os microrganismos iniciadores mais comumente utilizados serão discutidos na seção 12.3.

O ácido ascórbico é utilizado como acelerador de cura, pela redução da metamioglobina em mioglobina e do nitrito a óxido nítrico; assim, participa do desenvolvimento da cor, bem como de sua estabilidade durante armazenamento. Sua quantidade pode variar de 100 a 500 ppm, sem influência no pH da mistura; no entanto, quantidades elevadas atuam como oxidantes, o que pode ocasionar o desenvolvimento de uma coloração verde indesejável no produto. Antioxidantes naturais (ácido fítico, catequina, sesamol, entre outros) são usados como alternativa ao ascorbato de sódio. Seu emprego nos produtos cárneos depende da solubilidade. Por exemplo, o ácido fítico é solúvel em água, a catequina é parcialmente solúvel, e o sesamol é solúvel em gordura. Especiarias naturais ou seus extratos são adicionadas aos embutidos fermentados com o objetivo de melhorar o sabor e o aroma. A mistura de especiarias ajuda, ainda, a reduzir o pH. Tal fato estaria relacionado à sua composição mineral, bem como ao fato de o íon magnésio presente ser capaz de acelerar o processo de acidificação.

O embutimento da massa pode ser feito em tripas naturais (esôfago) ou artificiais (colágeno). O calibre depende do tipo de embutido. Tripas artificiais possuem melhor resistência mecânica do que as naturais, além de calibre uniforme. O diâmetro dos embutidos pode afetar o processo de acidificação. Diâmetros grandes dificultam a penetração do calor durante a fermentação, pois a microbiota láctica encontra condições favoráveis para seu desenvolvimento, enquanto diâmetros pequenos favorecem a difusão de oxigênio, impactando negativamente a produção de ácido.

As tripas de colágeno devem sofrer hidratação, de preferência em água morna contendo 5% a 10% de sal. Caso o envoltório não tenha sido umedecido adequadamente, poderá ocorrer um defeito caracterizado pelo enrugamento e formação de sulcos profundos, prejudicando a qualidade do produto. Além disso, deve-se tomar cuidado para se evitar a formação de bolsas de ar, responsáveis pela oxidação da massa, o que pode ser evitado utilizando-se uma embutideira a vácuo. Outro cuidado está relacionado à escolha das tripas para se embutir as massas cárneas: elas devem possuir permeabilidade ao vapor

de água, elasticidade e retratilidade, ficando, portanto, aderidas à massa ao longo da maturação, de maneira a se evitarem bolhas de ar entre a tripa e o produto.

A etapa de maturação dos embutidos fermentados ocorre em duas fases distintas: a primeira é a da fermentação; e a segunda, a da secagem. Os embutidos semissecos, após a fermentação, são parcial ou totalmente cozidos para que se atinja a temperatura mínima interna de 63 °C. Após o embutimento, as peças são levadas à câmara na qual ocorrerá a fermentação; nesse ambiente, a temperatura, a umidade e a velocidade do ar devem ser controladas. Em países tropicais, como o Brasil, devem-se utilizar câmaras climatizadas, a fim de se garantir uma produção uniforme. Temperaturas elevadas aceleram o processo de acidificação, o que pode causar a inibição do desenvolvimento de microrganismos da família Micrococaceae, prejudicando a redução do nitrato a nitrito de sódio e gerando defeitos como cor indesejada, sabor e aroma pronunciados.

As condições iniciais para a fermentação de embutidos secos e semissecos compreendem: temperatura entre 18 °C e 26 °C; umidade relativa (UR) em torno de 85% a 90%; e velocidade do ar controlada em cerca de 0,4 m/s. Gradativamente, diminui-se a temperatura até 18 °C e a UR para 75%. Produtos fermentados na faixa de 16 °C a 18 °C apresentam melhor qualidade, sabor e aroma. No decorrer do processo fermentativo, a produção de ácido lático pela microbiota láctica resulta em significativa redução do pH: para embutidos secos, de 5,8 a 5,4 (sendo o término caracterizado pela redução até valores de pH entre 5,3 e 5,0); já para os semissecos, os valores observados são menores, variando entre 4,8 e 4,6. Ao longo da fermentação, observa-se uma curva de pH característica, como mostra a Figura 12.2.

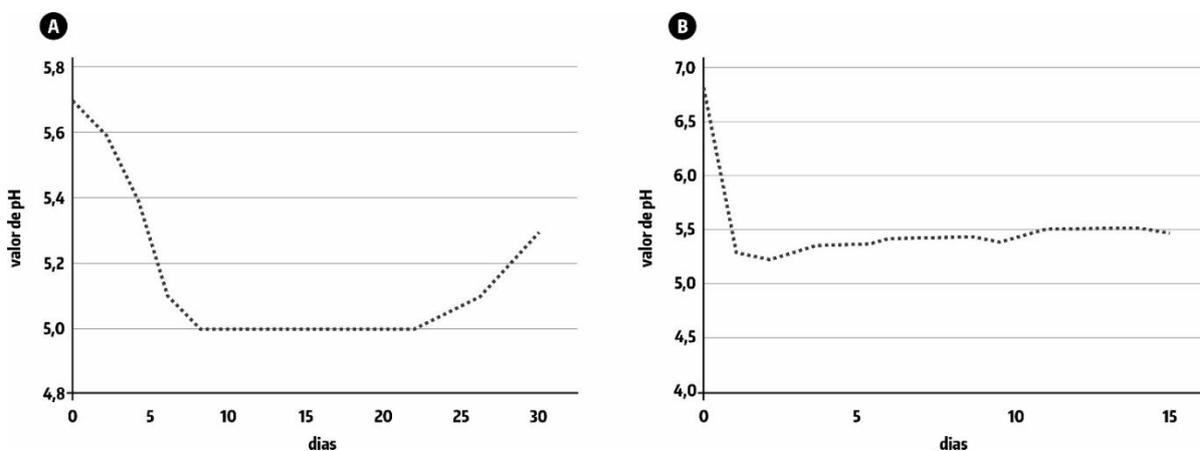


Figura 12.2 Variação do valor de pH em função do tempo em embutidos fermentados: A) curva para secos; B) curva para semissecos.

Com a redução do pH ocorre a inibição do crescimento de microrganismos indesejáveis – entre as bactérias Gram-negativas, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium*, *Clostridium botulinum* e *Listeria* sp. Quando o pH atinge valores próximos ao ponto isoelétrico das proteínas (pH = 5,0), a massa passa de um estado de sólido para gel, estabilizando a emulsão cárnea, o que contribui para a fatiabilidade do produto. A capacidade de retenção de água também é reduzida, favorecendo a secagem posterior do embutido.

Na etapa de fermentação ocorre, ainda, o desenvolvimento da cor devido à reação de cura (uso de nitrato e nitrito de sódio), a primeira elevação de temperatura do produto, início da formação do sabor e aumento da consistência. Durante a fermentação o meio deve estar suficientemente redutor para favorecer a formação de nitrosomioglobina, promover o estado anaeróbio e permitir o crescimento de microrganismos lácticos anaeróbios. Para alcançar esta redução, adicionam-se substâncias redutoras, como ácido ascórbico, ascorbato de sódio ou isoascorbato de sódio, conforme mencionado anteriormente. Nessa etapa pode ocorrer uma acidificação excessiva, que pode estar relacionada à escolha da cultura iniciadora ou ao uso de açúcares em quantidades superiores às recomendadas.

Ao término da fermentação, as peças podem ficar na mesma câmara ou serem transferidas para a câmara de secagem (no caso dos embutidos secos), ou para a etapa de cozimento (semissecos) e depois para a secagem. A etapa de defumação deve ocorrer em baixas temperaturas e tem por objetivo conferir aroma e sabor de defumado ao produto. Em algumas plantas, tem, ainda, a finalidade de inibir o crescimento de mofo na superfície, devido à alta umidade no ambiente de maturação. Cabe ressaltar que a defumação pode ocorrer junto com a fermentação ou até mesmo com a etapa de cozimento em embutidos fermentados cozidos.

Para este grupo, o cozimento parcial ou total pode ocorrer em estufa de ar seco após a fermentação ou no defumador durante a fase fermentativa. Uma sugestão para a programação do cozimento em estufa de ar seco para embutidos que atingiram o valor de pH entre 5,3 a 5,0 compreende o uso de 60 °C durante 1 hora, com elevação gradual para 85 °C até que o produto atinja a temperatura interna de 63 °C. O cozimento, quando associado à defumação, pode ser realizado à temperatura de 40 °C e UR do ar de 94% durante 12 horas; após esse período, eleva-se a temperatura para 43 °C por 4 horas,

aumentando para 55 °C por 24 horas. Após, retira-se a fumaça e aumenta-se a temperatura para 65 °C até que a temperatura interna do embutido atinja 60 °C. Após o cozimento, as peças têm sua temperatura reduzida para 38 °C com banho e, então, são levadas à câmara de secagem. O tempo de defumação ou cozimento não pode ser demasiadamente longo, pois pode ocorrer a formação de casca (ressecamento da superfície), dificultando a retirada de umidade do interior do embutido.

Na etapa de secagem, a temperatura utilizada deve ser de 18 °C, UR de 75% e velocidade do ar de 0,2 m/s, mantendo-se constantes estas condições até o término do processo. Esse valor de UR evita o crescimento descontrolado de bolores e leveduras (excesso de umidade), bem como a formação de crosta no embutido (baixa umidade), o que impediria a eliminação de água do interior do produto, deixando seu interior mole e a superfície muito dura, dificultando a fatiabilidade. Também, ocorre a diminuição da capacidade de retenção de água devido à desnaturação das proteínas miofibrilares; com isso, observa-se perda de peso e alterações importantes para a textura e a fatiabilidade do produto. Além disso, ocorre a formação do aroma pela ação das enzimas proteolíticas e lipolíticas, bem como estabiliza-se a cor do produto. Em embutidos secos, a umidade inicial é reduzida para 40% a 60% (umidade final em torno de 35%); a atividade de água atinge valores inferiores a 0,92, podendo chegar a 0,87; a razão umidade/proteína é da ordem de 1,6. Para os semissecos, a umidade final é de aproximadamente 50%; a razão umidade/proteína, menor que 3,7 e maior que 2,3; e a atividade de água atinge valores inferiores a 0,92. O uso de uma velocidade do ar alta durante a secagem deve ser evitada, pois provoca o enrugamento e a formação de sulcos profundos, dificultando a retirada de umidade e resultando em um aspecto desagradável ao produto. A secagem dos embutidos secos e semissecos pode ser acompanhada pela variação da atividade de água ou pela perda de peso das peças em função do tempo, conforme apresentado na Figura 12.3.

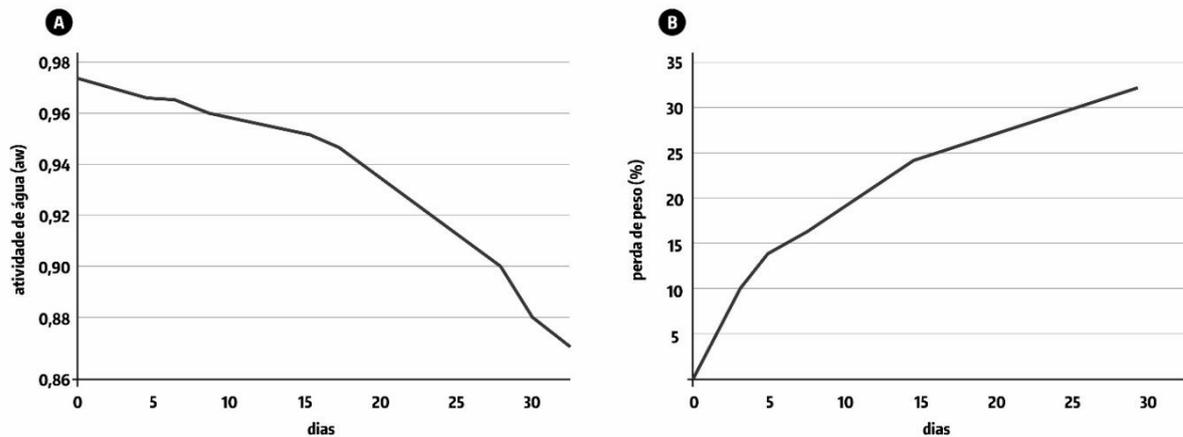


Figura 12.3 Variação da atividade de água (A) e perda de peso das peças (B) função do tempo em embutidos secos.

Após a secagem, na ocorrência de mofo na superfície do produto, recomenda-se a lavagem das peças e o retorno à câmara de secagem por aproximadamente 48 horas, seguindo, então, para a retirada do lacre e a embalagem. Embalagens a vácuo são indicadas para evitar que o embutido tenha contato com o oxigênio e, em consequência, que a gordura oxide. O objetivo é conservar a coloração característica, contribuindo para o aumento da vida útil do produto.

<sub1>12.3 Microrganismos utilizados na fermentação de carne

O processo de fermentação é realizado pela microbiota autóctone da carne e do ambiente, ou pelas culturas iniciadoras adicionadas no processo de elaboração. Bactérias, fungos filamentosos e leveduras constituem a microbiota autóctone, bem como as culturas iniciadoras. O processo de elaboração tradicional compreende a elaboração de embutidos por meio de um processo de fermentação realizado pela microflora autóctone da carne crua. Outra forma de elaboração **tradicional** compreende a utilização de um pé de cuba, que funciona como uma cultura iniciadora. Depois de uma fermentação exitosa, o produto obtido, contendo a microflora da fermentação, pode ser utilizado para iniciar outro processo de fermentação, adicionando-se parte desse produto obtido à massa cárnea de um novo produto. **Diferentemente da elaboração tradicional**, na elaboração com culturas iniciadoras estas desempenham um papel fundamental, tornando os produtos mais estáveis, reduzindo sua variabilidade e mantendo as características sensoriais mais

uniformes. Atualmente, a aplicação dessas culturas é uma prática comum na indústria de produtos cárneos para garantir um processo de fermentação padronizado e de boa qualidade.

<sub2>12.3.1. Microbiota autóctone

Microrganismos autóctones correspondem à microbiota naturalmente presente na matéria-prima (principalmente na carne) e à microbiota proveniente do ambiente de processamento, de modo que a fermentação tradicional é conduzida por cepas selvagens. O desenvolvimento dessa microbiota relaciona-se, portanto, à fermentação espontânea da massa cárnea, conferindo aos produtos cárneos tradicionalmente fermentados características sensoriais e de segurança.

A microbiota fermentadora da carne compreende grande variedade de bactérias, entre as quais predominam as bactérias ácido-láticas (BAL). Em embutidos de fermentação tradicional, estima-se que a população inicial de BAL autóctones na matéria-prima varie entre $1,5 \times 10^3$ e 2×10^5 UFC/g; ao longo da fermentação, tornam-se dominantes, podendo atingir valores superiores a 10⁸ UFC/g. *Latilactobacillus sakei*, *Latilactobacillus curvatus* e *Lactiplantibacillus plantarum* são as espécies mais comuns de BAL que compõem a microbiota autóctone de diversos produtos cárneos de fermentação tradicional, como embutidos, salame e chouriço. No entanto, *L. sakei* é a espécie predominante na maioria desses produtos, compondo entre 43% a 95% do total de BAL. Cocos Gram e catalase-positivos (CGC+) são o segundo grupo bacteriano mais predominante, principalmente o grupo dos estafilococos coagulase-negativos (ECN). A população autóctone de CGC+ na massa cárnea é estimada em 10³ a 10⁴ UFC/g e inclui as espécies *Staphylococcus xylosum*, *S. saprophyticus* e *S. equorum*. *S. xylosum* é a espécie predominante, constituindo de 11% a 100% dos CGC+, dependendo do tipo de produto. Cabe ressaltar que, normalmente, os CGC+ são fracos competidores na presença de BAL ativas.

Além de bactérias, fungos filamentosos e leveduras fazem parte da microbiota autóctone dos embutidos de fermentação tradicional. Esses grupos são componentes naturais da microbiota da carne, pois esse substrato constitui um meio ideal para seu desenvolvimento; podem, ainda, ser provenientes do ambiente de processamento. Fungos filamentosos e leveduras são detectados na maioria das massas cárneas em níveis variáveis, de 10² a 10⁴ UFC/g. Em alguns produtos, como embutidos secos, observa-se

um crescimento expressivo durante o processo de fermentação e maturação, enquanto em outros produtos, como salame, a população se mantém relativamente constante ao longo do processo, principalmente se a carga inicial for alta.

Enterococcus sp. são frequentemente parte da microbiota autóctone. Na massa cárnea dos embutidos, sua população inicial pode variar de 2×10^3 a 3×10^3 UFC/g, podendo se proliferar durante o processo de fermentação e maturação. Não obstante, bactérias deteriorantes – como *Pseudomonas* e enterobactérias – compõem a microbiota autóctone e são encontradas em níveis iniciais variáveis nos diferentes tipos de embutidos (em embutidos de fermentação tradicional, por exemplo, são encontradas em populações ao redor de 10^4 e 10^5 UFC/g, respectivamente). No entanto, no decorrer da fermentação, esses grupos bacterianos são reduzidos ou até mesmo eliminados, principalmente em decorrência das condições geradas pelos microrganismos fermentativos (BAL e CGC+), em especial pela acidificação do meio ou pela ação antimicrobiana de bacteriocinas. Da mesma forma, *S. aureus* e *L. monocytogenes* podem esporadicamente contaminar a carne e a massa cárnea; no entanto, a caracterização microbiológica inicial demonstra que esses patógenos são reduzidos abaixo do limite de detecção ou do limite tolerável ao término da fermentação.

A microbiota autóctone é muito variável de acordo com a região e o tipo de matéria-prima cárnea utilizada, o que dificulta o estabelecimento de uma microbiota fermentadora uniforme e, conseqüentemente, de uma padronização do produto. Nesse sentido, o conhecimento da microbiota autóctone e do seu papel no processo de fermentação é essencial para a identificação de potenciais micro-organismos que possam atuar como culturas iniciadoras, visando a uma padronização do processo e das características sensoriais e, por fim, à qualidade e segurança microbiológicas. Diversas espécies de BAL e ECN compreendem as bactérias fermentativas mais comumente isoladas da microbiota autóctone e utilizadas como culturas iniciadoras no processamento industrial de produtos cárneos fermentados. A seguir, apresentaremos suas principais características.

<sub2>12.3.2 Culturas *starter* ou iniciadoras

Uma cultura iniciadora compreende uma microbiota definida, desenvolvida sob condições controladas em um meio de cultivo, para inoculação da carne, visando ao incremento da eficiência do processo de fermentação. A inoculação da carne com microrganismos selecionados teve início na metade do século XX, na tentativa de superar

problemas de inconsistência na qualidade e grandes variações nos produtos finais. A implantação da cultura iniciadora deve ser controlada, de maneira a prevenir o desenvolvimento da microbiota autóctone por meio da exclusão competitiva.

Dentre os principais efeitos da ação das culturas iniciadoras nos produtos cárneos, destacam-se: i) propriedades sensoriais melhoradas, como sabor, cor, aparência, textura, aroma e suculência; ii) valor nutritivo (produção de vitaminas) e melhor funcionalidade (digestibilidade); iii) segurança do alimento e qualidade, pelo controle de microrganismos patogênicos e deteriorantes (produção de compostos antimicrobianos).

Na produção industrial, BAL e *Staphylococcus* sp. ou *Kocuria* sp. (ambos CGC+) são as culturas bacterianas comumente utilizadas como iniciadoras. Além de bactérias, diversos fungos filamentosos são utilizados como culturas iniciadoras, como *Aspegillus* sp., *Rhizopus* sp., *Mucor* sp., *Actinomucor* sp., *Amylomyces* sp., *Neurospora* sp., *Monascus* sp. e *Penicillium* sp. Da mesma forma, leveduras, como a *Debaryomyces hansenii*, que é uma espécie dominante e amplamente presente nos embutidos fermentados naturalmente, é uma cultura iniciadora disponível comercialmente.

<sub3>12.3.2.1 Características das culturas iniciadoras em produtos cárneos

A função principal da cultura iniciadora é proteger os produtos cárneos do crescimento de microrganismos deteriorantes e patogênicos, estendendo a vida útil desses alimentos e garantindo sua segurança microbiológica. A atividade da cultura iniciadora tipicamente deve contribuir para a formação de compostos específicos de sabor e aroma. Por exemplo, BAL e ECN desempenham um papel importante no desenvolvimento do sabor e aroma diferenciados dos embutidos fermentados, pois produzem diversos compostos voláteis e aromáticos como resultado de sua atividade proteolítica e lipolítica sobre componentes da matriz cárnea. Além disso, a cultura iniciadora tem que ser facilmente detectável, a fim de se monitorar sua presença e atividade.

Uma tendência atual observada na indústria de produtos cárneos compreende o uso de culturas que sejam funcionais, ou seja, que apresentem tanto funcionalidade industrial como nutricional. Diferentemente das culturas iniciadoras clássicas, as culturas iniciadoras funcionais oferecem características adicionais, como a geração de compostos de aroma, moléculas promotoras de saúde, bacteriocinas ou outros agentes antimicrobianos, contribuem para a cor da carne curada, apresentam características probióticas, e são, obviamente, inócuas. Portanto, culturas iniciadoras funcionais podem

melhorar e otimizar o processo de fermentação da carne, possibilitando a obtenção de produtos mais saborosos, seguros e saudáveis.

Aspectos relevantes de segurança devem ser considerados ao se avaliar potenciais culturas iniciadoras. Estes compreendem características como produção de bacteriocinas, ausência da atividade de descarboxilação de aminoácidos (a fim de se evitar a produção de aminas biogênicas), não apresentar toxicidade (não serem toxigênicas), e não apresentar perfis de resistência a antibióticos. Por exemplo, as bacteriocinas, que são peptídeos antimicrobianos, em conjunto com o ácido lático produzido pelas BAL, podem combater o desenvolvimento de microrganismos patogênicos, como *L. monocytogenes*, ou deteriorantes, como *Pseudomonas* sp.

Cabe ressaltar que as bactérias mais promissoras para exploração como culturas iniciadoras são isoladas da microbiota autóctone de produtos fermentados tradicionalmente. A seleção de cepas selvagens, a partir desses produtos, deve ser criteriosa, com base em potenciais inovações tecnológicas. Compreendem, geralmente, uma mistura de diferentes tipos de microrganismos, formando um coquetel no qual cada uma apresenta funções específicas e requeridas para os diferentes tipos de produtos cárneos fermentados.

<sub3>12.3.2.2 BAL utilizadas na produção de carnes fermentadas

Conforme já mencionado, BAL desempenham um papel importante no desenvolvimento dos atributos sensoriais de produtos cárneos fermentados, principalmente quanto à acidificação decorrente da produção de ácido lático. Em produtos cárneos, as BAL utilizadas como iniciadoras são, em geral, homofermentativas, ou seja, produzem apenas ácido lático como produto final. A consequente diminuição do pH resulta na coagulação das proteínas da carne, além de promover reações necessárias para a formação da cor e contribuir para a estabilidade microbiológica graças à inibição de microrganismos indesejáveis.

Ainda que o efeito no *flavor* seja principalmente relacionado à produção de ácido lático, outros compostos de sabor podem ser produzidos ao longo da fermentação. Pequenas quantidades de ácido acético, etanol, CO₂ e ácido pirúvico podem ser produzidos durante a heterofermentação realizada pela microbiota autóctone da carne no início da fermentação, dependendo do tipo de carboidrato, da fonte de proteína cárnea e dos aditivos utilizados na formulação.

Lactobacillus sp. são as BAL predominantes nos produtos cárneos fermentados. Além do ácido láctico, produzem etanol, CO₂, diversos compostos voláteis (cetonas, aldeídos e furanos), bacteriocinas e são fracos produtores de amins biogênicas. Especificamente, *L. sakei*, *L. curvatus* e *L. plantarum* são as espécies tecnologicamente mais relevantes e comumente utilizadas como culturas iniciadoras. Essas três espécies, além de *L. pentosus*, são bastante utilizadas na União Europeia para preparo de diversos embutidos fermentados. No entanto, *L. sakei* é a que mais se destaca entre os *Lactobacillus*, amplamente utilizada na produção de embutidos. *L. sakei* apresenta características genotípicas que lhe conferem capacidade de adaptação para crescer e sobreviver no ambiente cárneo rico em aminoácidos, além de possuir genes que codificam proteínas de resposta a fatores de estresse, como choque frio e altas pressões osmóticas (COCCONCELLI, 2008).

Pediococcus sp. são bactérias Gram-positivas em forma de cocos e constituem outro grupo de BAL de notável participação na fermentação dos produtos cárneos, além de contribuir para a aceleração da acidificação pela produção de ácido láctico e ácido acético; produzem, ainda, etanol e CO₂. Desempenham papel fundamental no desenvolvimento de aroma e são produtores de certas bacteriocinas. *P. acidilactici* e *P. pentosaceus* são frequentemente as espécies mais utilizadas como culturas iniciadoras para a fermentação da carne.

As populações iniciais de BAL na matriz cárnea dependem do potencial de crescimento dos microrganismos no produto. Por exemplo, na maioria dos embutidos fermentados de estilo europeu, parte-se de inóculos ao redor de 10⁶ UFC/g de massa cárnea. Devido à boa adaptação ao ambiente cárneo e à rápida taxa de crescimento durante a fermentação e maturação, as BAL tornam-se, no decorrer do processo, a microbiota dominante e, conseqüentemente, no produto final.

<sub3>12.3.2.3 Cocos Gram-positivos e catalase-positivos (CGC+)

ECN e *Kocuria* sp. são os CGC+ mais utilizados como culturas iniciadoras. Participam de reações bioquímicas desejáveis durante a maturação dos produtos cárneos fermentados, como: i) redução do nitrato e nitrito, promovendo assim o desenvolvimento da cor vermelha desejada e sua estabilização; ii) decomposição de peróxidos, limitando a oxidação lipídica e prevenindo o ranço; e iii) desenvolvimento de sabor, pela formação

de ésteres e outros compostos aromáticos (gerados a partir dos aminoácidos), como consequência de suas atividades proteolíticas e lipolíticas.

Além disso, ECN e *Kocuria* sp. são fracos competidores na presença de bactérias acidúricas; portanto, durante a maturação, não atingem mais do que 10 UFC/g em relação à população inicial. *Kocuria varians* é a espécie mais utilizada como cultura iniciadora, pela sua boa atividade de redução do nitrito. Dentre os ECN, *S. xylosus* e *S. carnosus* são as espécies mais utilizadas. Originalmente, são as espécies de ECN autóctones dominantes em produtos cárneos fermentados por métodos tradicionais. Ao serem adicionados como culturas iniciadoras, *S. xylosus* e *S. carnosus* modulam o aroma dos produtos cárneos fermentados por meio da conversão de aminoácidos (particularmente dos aminoácidos de cadeia ramificada, como leucina, isoleucina e valina), bem como de ácidos graxos livres.

O uso de ECN bem selecionados, responsáveis pela produção de grandes quantidades de compostos aromáticos, resulta em melhores qualidades sensoriais e/ou num processo mais rápido de fermentação da carne. Estirpes de *S. xylosus* são recomendadas para a produção de embutidos muito aromáticos. Na maioria dos embutidos europeus, essa é a espécie de ECN predominante ao término da maturação.

Em relação ao potencial biogênico, em geral, ECN são pouco associados à produção de aminas biogênicas, embora haja relatos sobre a produção de tiramina e feniletilamina por *S. carnosus* (SÁNCHEZ MAINAR; STAVROPOULOU; LEROY, 2017). No entanto, espécies oportunistas e patogênicas de ECN, como *S. epidermidis* e *S. saprophyticus*, são frequentemente encontradas em produtos cárneos fermentados tradicionalmente, o que representa riscos para a segurança desses produtos. Tem sido detectado que *S. saprophyticus* originalmente faz parte da microbiota das tripas naturais (proveniente da microbiota intestinal dos suínos) utilizadas para embutir a massa cárnea (PISACANE *et al.*, 2015), mas também faz parte da microbiota autóctone da carne. Já *S. epidermidis* pode vir da pele dos animais e constituir a microbiota autóctone da carne, assim como da pele do operário se as boas práticas de fabricação e higiene não são respeitadas e mantidas no processamento (LEROY; LEBERT; TALON *et al.* 2014).

A quantidade de cultura iniciadora de ECN utilizada define o perfil de aroma de um produto cárneo fermentado. Em embutidos de maturação rápida, como salsichas com dois dias de maturação, o uso de inóculos muito numerosos resulta em incremento da produção de aldeídos de cadeia ramificada contendo grupos metil, os quais são responsáveis pelo aroma característico das salsichas. Já em embutidos de maturação lenta, como as salsichas

com 7 a 21 dias de maturação, essa situação favorece a formação de sulfitos e ácidos de cadeia ramificada contendo grupos metil, causando um odor pronunciado de enxofre e queijo. Convém ressaltar que baixos níveis de inoculação favorecem a produção de éster diacetílico e éster etílico, o que pode resultar em notas de odor frutado e amanteigado. Além de contribuir para a formação do sabor, ECN também evitam a formação de sabores desagradáveis, por controlar a oxidação de ácidos graxos insaturados devido à sua ação antioxidante e nitrito redutase.

<sub3>12.3.2.4 Fungos filamentosos e leveduras

Fungos filamentosos e leveduras contribuem para a qualidade dos produtos cárneos fermentados devido às suas atividades metabólicas, que são fundamentais para o desenvolvimento da segurança, textura, sabor e cor desejada. O emprego de fungos filamentosos é o principal responsável pela oxidação do lactato, atividade proteolítica e lipolítica, degradação de aminoácidos, lipoxidação, retardamento da rancidez e reduzida perda de água. Contribui, ainda, para a aparência global do produto final, devido à formação de uma cobertura branca ou acinzentada característica na superfície dos embutidos, estabilizando a cor por meio de sua atividade catalase, consumo de oxigênio e proteção da massa cárnea dos efeitos da luz. Além disso, melhora o perfil de voláteis do produto final. O aroma de pipoca, característico dos embutidos fermentados, é atribuído à formação de 2-acetil-1-pirrolina, produzido pela conversão de prolina (frequentemente encontrada em tripas de colágeno) por ação dos fungos filamentosos (LEROY; VERLUYTEN; DE VUYST, 2006). O alto pH nos embutidos fermentados pode ser associado com a atividade fúngica, já que, pela proteólise, os fungos levam a um incremento do teor de amônia no meio e, pela oxidação do lactato, causam a redução do teor de ácido láctico.

A inoculação superficial dos embutidos com fungos filamentosos pode ser feita por pulverização ou por imersão em uma suspensão de esporos. A seleção das estirpes fúngicas deve ser cuidadosa, especialmente quanto à inocuidade. Algumas espécies de *Mucor* e *Penicillium* sp. são mais comumente utilizadas, por não apresentarem risco de toxicidade. Destacam-se as linhagens de *Penicillium nalgiovense*, *P. gladioli*, e *P. camemberti*. Da mesma forma, a seleção deve ser baseada nas atividades proteolíticas e lipolíticas dos bolores. O efeito sobre o produto final dependerá da estirpe utilizada e da tecnologia aplicada na elaboração dos produtos cárneos fermentados. Além disso, é

importante considerar a seleção de culturas que permitam o controle do crescimento micelial de espécies autóctones nas primeiras etapas do processo fermentativo.

As culturas de leveduras também contribuem de maneira significativa para o desenvolvimento de sabor e aroma típicos dos embutidos fermentados, em decorrência de suas atividades proteolíticas e lipolíticas. Além disso, desempenham um papel importante na aparência, já que contribuem para a formação da cor: devido ao consumo do oxigênio, favorecem as reações de cura e, conseqüentemente, o estabelecimento da cor vermelha desejada no produto. A contribuição das leveduras para o sabor pode estar associada à formação de voláteis, como ésteres, e à redução de carbonilos a álcoois (principalmente, 2-metilpropanol, 2- e 3-metilbutanol, e 2-feniletanol). Além disso, o retardamento das reações de oxidação e do início da rancidez das gorduras, devido ao consumo do oxigênio pelas leveduras e pela produção de catalase, que regula a degradação dos peróxidos, também exerce efeito importante. No entanto, a influência das leveduras sobre o aroma é atribuída à sua capacidade de metabolizar ácidos orgânicos, principalmente os ácidos láctico e acético.

Ao crescerem na superfície dos embutidos, as leveduras formam uma cobertura externa branca, que auxilia no controle da perda de água e permite uma desidratação uniforme. *Debaryomyces*, *Rhodotorula*, *Hansenula* e *Torulopsis* são os gêneros mais importantes. No entanto, espécies de *Debaryomyces* são as mais empregadas, com destaque para estirpes de *D. hansenii*, as quais são as mais predominantes em culturas comerciais, individualmente ou em mistura com bactérias ou fungos filamentosos. A espécie é caracterizada por uma alta tolerância ao sal, valores de pH baixos e reduzida atividade de água. Seu bom desenvolvimento nos embutidos fermentados está relacionado ao fato de a temperatura de crescimento ideal ser similar às temperaturas utilizadas na etapa de maturação dos embutidos fermentados. Além disso, *D. hansenii* produz compostos voláteis envolvidos no desenvolvimento do sabor, como 3-metilbutanol, 3-metilbutanal e 2-propanona. Sua influência no sabor final decorre de sua atividade enzimática sobre as proteínas e gordura. Além disso, o efeito protetor de *D. hansenii* contra a ação da luz e do oxigênio nos embutidos fermentados é mediada pela formação da cobertura superficial branca, a qual retarda a oxidação da gordura. *D. kloecckeri* também tem sido identificada como espécie potencialmente útil em cultura iniciadora na maturação de embutidos fermentados, mas seu uso é menos difundido que de *D. hansenii*.

<sub2>12.3.3 Dinâmica populacional durante a fermentação e maturação de produtos cárneos

O estudo da ecologia microbiana de embutidos fermentados tem mostrado que os principais microrganismos envolvidos na fermentação e maturação são BAL e CGC+, em particular *Lactobacillus* sp. e *Staphylococcus* sp., respectivamente. No entanto, fungos filamentosos e leveduras também desempenham uma função relevante, especialmente durante a maturação, uma vez que apresentam crescimento mais lento em comparação às bactérias. A Figura 12.4 apresenta a dinâmica populacional de BAL, CGC+ e leveduras ao longo da fermentação de salame Ciauscolo durante 45 dias.

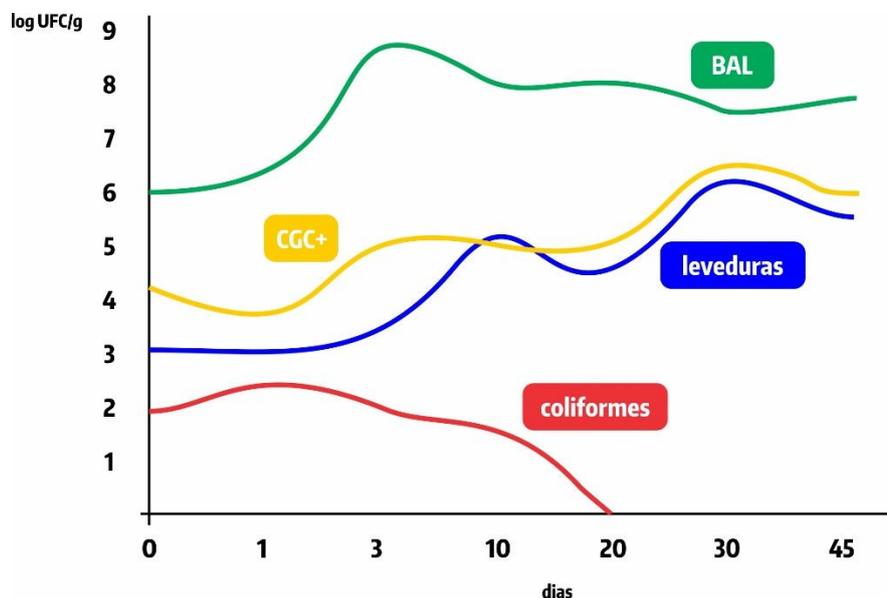


Figura 12.4 Dinâmica populacional de LAB, CGC+, leveduras e coliformes totais durante fermentação e maturação de salame Ciauscolo. Fonte: adaptada de Aquilanti *et al.* (2007).

A fermentação de embutidos é principalmente caracterizada pelo grande incremento de BAL, partindo de uma população inicial de 10^3 a 10^4 UFC/g até 10^6 a 10^9 UFC/g nos três primeiros dias da fermentação e mantendo-se constante durante a maturação, até finalizar o processamento. Portanto, devido à sua boa adaptação ao ambiente cárneo e sua rápida taxa de crescimento durante a fermentação, as BAL são a microbiota predominante nos embutidos fermentados. Geralmente, os gêneros predominantes de BAL são *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconoctoc*, *Weissella* e *Enterococcus*, mas as espécies de *Lactobacillus* são as mais prevalentes dentre as BAL ao final da maturação, com níveis entre 10^7 a 10^8 UFC/g. *L. sakei* e *L. curvatus* são as

espécies mais abundantes no produto final, representando mais de 55% da população total de BAL. No entanto, observa-se que outras BAL, como espécies de *Enterococcus*, também mostram um incremento durante os primeiros dias da fermentação, atingindo níveis de 10^4 a 10^6 UFC/g e se mantendo constantes até o final do processamento. A persistência dos *Enterococcus* em sobreviver e se multiplicar durante a fermentação, permanecendo estável durante toda a maturação, é atribuída à sua ampla faixa de temperaturas de crescimento (10 °C a 45 °C) e sua tolerância a sais, como cloreto de sódio (NaCl) e nitrito. Outras espécies de BAL são também encontradas como parte da microbiota final de embutidos fermentados, como *L. plantarum*, *Companilactobacillus alimentarius*, *L. casei*, *Lactiplantibacillus paraplantarum*, *L. pentosus*, *L. paracasei*, *Pediococcus spp.*, *Lactococcus lactis*, *Lactococcus garviae*, *Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Weisella paramesenteroides*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus durans* e *Enterococcus pseudoavium*.

Os CGC+ são a segunda microbiota predominante ao final da maturação. Na maioria dos embutidos, a população inicial de CGC+ aumenta consideravelmente, atingindo níveis de 10^5 a 10^8 UFC/g no período compreendido entre os 14 e 20 dias de fermentação e maturação, sendo geralmente menor que os níveis de BAL (Figura 12.4). Não obstante, em embutidos com períodos de fermentação mais longos e baixas temperaturas de fermentação, os CGC+ atingem uma população maior nos primeiros dias de fermentação, com impactos positivos no sabor do produto final. ECN são geralmente os CGC+ predominantes nos embutidos fermentados, especificamente *S. xylosus*, que é a espécie mais prevalente. Mesmo que *S. xylosus* não predomine desde o início, a espécie torna-se predominante ao longo da fermentação, constituindo entre 17% e até 100% da população total de ECN, seguida de *S. pulvureri*, *S. vitulus*, *S. equorum* e *S. saprophyticus*. Outras espécies também podem fazer parte da microbiota final de ECN, como *S. aureus*, *S. auricularis*, *S. carnosus*, *S. cohnii*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. intermedius*, *S. lentus*, *S. pasteurii* e *S. warneri* (TALON; LEROY; LEBERT, 2007).

Em relação aos fungos filamentosos e leveduras, estes são componentes habituais da microbiota fermentativa de embutidos fermentados. Normalmente, são detectados na massa cárnea em populações iniciais que variam de 10^2 a 5×10^4 UFC/g; durante a maturação, multiplicam-se lentamente, atingindo níveis não superiores a 10^5 UFC/g. A composição da microbiota fúngica se modifica durante a maturação dos embutidos fermentados, o que, na prática, pode ser observado pelo crescimento inicial de leveduras,

com posterior dominância de fungos filamentosos. Na etapa inicial de maturação, leveduras são selecionadas pela diminuição da atividade de água (A_w) do produto, em decorrência da presença de sais ou do processo de desidratação, favorecendo, assim, seu desenvolvimento. A predominância de leveduras sobre os fungos filamentosos ocorre até os quinze primeiros dias de maturação; a partir desse momento, fungos filamentosos e leveduras apresentam populações proporcionalmente balanceadas. A microbiota fúngica resultante no produto final é determinada pelo tipo de produto, ambiente de processamento e tecnologia empregada. A defumação, por exemplo, prejudica o crescimento de leveduras, uma vez que elas são mais sensíveis ao calor, o que contribui para a redução de sua população em embutidos fermentados defumados.

Em relação à microbiota deterioradora, esta também sofre mudanças ao longo da fermentação e/ou maturação. Inicialmente, as populações de enterobactérias e *Pseudomonas* sp. variam de 10^1 a 10^4 UFC/g e 5×10^1 a 10^5 UFC/g na massa cárnea, respectivamente; no decorrer do processo, são progressivamente reduzidas ou eliminadas. Obviamente, de acordo com a qualidade microbiológica das carnes, essas populações podem ser menores. Enterobacteriaceae podem atingir populações de 10^3 a 10^6 UFC/g durante os primeiros dias de fermentação/maturação, quando pH, atividade de água, conteúdo de sal e umidade constituem um ambiente favorável para seu desenvolvimento. No entanto, tem sido observado que a contagem dessas bactérias diminui progressivamente a partir da primeira semana de fermentação, reduzindo-se a populações ao redor de 10^2 UFC/g, que se mantêm constantes até o final da fermentação. No caso de *Pseudomonas*, tem sido observado que estas se mantêm constantes ou são eliminadas até o final do processo de fermentação dos embutidos. Cabe ressaltar que algumas bactérias deteriorantes e/ou patogênicas, como *Hafnia alvei*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia odorifera*, *Escherichia coli*, *Enterobacter amnigenus* e *Proteus vulgaris*, podem ser detectadas como parte da microbiota de alguns embutidos fermentados.

<sub1>12.4 Alterações químicas decorrentes da fermentação microbiana

<sub2>12.4.1 Acidificação da massa cárnea

Durante a fermentação microbiana, a maioria dos carboidratos é metabolizada a glicose. Nesse processo, BAL produzem ácidos orgânicos, como lactato e acetato, pela via da glicólise, o que contribui para a acidez do produto cárneo. A formação de diferentes

quantidades de outros produtos depende das BAL utilizadas, da temperatura, do tipo e quantidade de carboidratos e de outros parâmetros do processamento. As principais vias da fermentação láctica são (i) a homoláctica (glicólise, via de Embden-Meyerhof-Parnas); (ii) a heteroláctica (via 6-fosfogluconato/fosfo-cetolase). Nesse metabolismo de carboidratos, um mol de glicose ou qualquer substrato glicosídico, como sacarose, lactose e maltodextrinas, em produtos cárneos, é degradado a dois moles de ácido láctico, na ausência de oxigênio molecular. A formação do ácido láctico ocorre em duas fases: na primeira, a glicose é fosforilada por ATP e clivada para formar gliceraldeído fosfato. Na segunda, o gliceraldeído fosfato é convertido a ácido láctico por uma série de reações de oxidorredução, que estão acopladas por meio de moléculas de NADH e NAD à fosforilação do ADP, para permitir a continuidade dos ciclos de fermentação subsequentes. O piruvato é reduzido a ácido láctico pela enzima lactato-desidrogenase, com o NADH atuando como doador de hidrogênio. O catabolismo dos ácidos pirúvico e láctico pelas BAL produz compostos como ácido acético, ácido fórmico, etanol, 2-propanol, acetaldeído, 2,3 butanodiona (diacetil), 3-hidroxi-2-butanona (acetoína) e 2,3-butanodiol, que são responsáveis pelo aroma específico dos produtos cárneos fermentados. Por essa via são formadas quatro moléculas de ATP por molécula de glicose fermentada. Mas, como são consumidas duas moléculas, a produção líquida é de duas moléculas de ATP por molécula de glicose fermentada. Quando se tem, portanto, a combinação da massa cárnea com o sistema de BAL em ambiente anaeróbico, a fermentação de carboidratos com produção e acúmulo de ácido láctico resulta na redução do pH, influenciando o *flavor*, a coagulação da proteína e a consistência característica do produto (para mais informações a respeito da bioquímica da fermentação, ver Capítulo 3).

<sub2>12.4.2. Proteólise

A proteólise em embutidos fermentados é influenciada por diversas variáveis, como temperatura, pH, formulação do produto (concentração de glicose, sal, nitrito, nitrato e ascorbato), condições de processamento e tipo de cultura microbiana utilizada. Portanto, essas variáveis influenciam a quantidade de compostos aromáticos formados e, conseqüentemente, têm um impacto significativo sobre suas características sensoriais. A hidrólise de proteína miofibrilar e sarcoplasmática se inicia pela ação das respectivas

enzimas endógenas e bacterianas na degradação de proteínas durante a maturação dos embutidos. A degradação da estrutura miofibrilar influencia a consistência do produto.

A proteólise nos produtos cárneos ocorre por ação das catepsinas e calpaínas, ambas enzimas musculares, particularmente a catepsina D, protease ácida que atua sobre a miosina e a actina, enquanto as catepsinas B, H e L, proteases restritas à actina e outras, atuam no processo de fermentação e maturação. Conseqüentemente, ocorre a degradação para polipeptídios, que, posteriormente, por ação das peptidases microbianas e musculares, resultam em peptídeos; estes sofrem a ação de exopeptidases microbianas e musculares, gerando aminoácidos livres. As enzimas microbianas são mais importantes durante os últimos estágios da maturação. Portanto, a atividade das enzimas tanto endógenas como bacterianas está fortemente envolvida na qualidade do produto final.

No processo de maturação, aminoácidos e pequenos peptídeos são catabolizados pelos microrganismos e transformados em numerosos compostos aromáticos por diferentes vias. Algumas conversões bioquímicas importantes de aminoácidos, como leucina, isoleucina, valina, metionina e fenilalanina, ocorrem nos aldeídos ramificados, importantes nos atributos sensoriais e nos produtos secundários correspondentes, como ácidos, álcoois e ésteres.

As principais reações envolvidas no metabolismo de aminoácidos livres estão ligadas à degradação microbiana por descarboxilação e desaminação, que produz amônia e, por consequência, um aumento do pH durante a fermentação. Já a transaminação e a descarboxilação de aminoácidos ramificados (valina, isoleucina e leucina) produzem os respectivos aldeídos ramificados, álcoois e/ou ácidos, percebidos sensorialmente pelo odor pungente e de malte. Outros aminoácidos (fenilalanina, treonina, triptofano, tirosina) também são transformados em seus respectivos aldeídos, como fenilacetaldéido (oriundo da fenilalanina e do indol como produto da degradação do triptofano). A degradação dos aminoácidos sulfurados cisteína e metionina produz compostos voláteis de enxofre. A metionina resulta em produtos de metionol, metional e produtos da oxidação, como dimetildissulfeto e dimetiltrissulfeto, sendo estes caracterizados por limiares de odor muito baixos e odores de carne, enxofre, repolho e cebola.

Enzimas microbianas estão envolvidas na degradação da cisteína e liberam sulfeto de hidrogênio, envolvido em outras reações de oxidação, produzindo compostos potentes de aroma e enxofre. Além disso, a produção de ácidos e de álcool provenientes do catabolismo de aminoácidos durante a fermentação microbiana é precursora dos compostos de ésteres formados pela atividade da esterase dos estafilococos presentes nos

produtos à base de carne. Os principais compostos de ésteres identificados nos produtos fermentados são os ésteres etílicos de cadeia curta (1-C10), que contribuem para os odores de fruta. Esse acúmulo de pequenos peptídeos e aminoácidos livres está relacionado com o sabor. Esses elementos são também precursores do *flavor* pela reação da degradação de aminoácidos.

<sub2>12.4.3. Lipólise

As duas reações lipídicas mais importantes correspondem à oxidação e à hidrólise da gordura, esta última relacionada à produção de produtos cárneos fermentados. No momento da fermentação e maturação, a fração lipídica de embutidos é hidrolisada moderadamente por reações lipolíticas. Os triglicerídeos do tecido muscular e adiposo, por ação de enzimas como lipases microbianas e endógenas, por meio de reações da β -oxidação lipídica, produzem ácidos graxos de cadeia curta e β -cetoácidos que catalisam em glicerídeos e monoglicerídeos, com liberação de ácidos graxos livres. Os fosfolipídios, por ação de fosfolipases do músculo, também liberam tais componentes.

A lipólise tem sido amplamente estudada, uma vez que os ácidos graxos livres são considerados precursores principais de produtos de oxidação, importantes para o desenvolvimento de sabor e formação de compostos aromáticos do catabolismo lipídico. Esses ácidos graxos de cadeia curta podem, assim, contribuir para o odor picante e penetrante de produtos cárneos fermentados. Em seguida, os β -cetoácidos são degradados em metilcetonas, por meio de reações de descarboxilação microbiana (principalmente por *Staphylococcus* sp. e *Penicillium* sp.), que são ainda degradadas em álcoois secundários. Esses álcoois secundários têm menos impacto no odor e podem contribuir para os odores amadeirados, gordurosos, florais e de cogumelos, enquanto as metil-cetonas têm baixo limiar de odor e contribuem para os odores de gordura dos animais. A taxa dessa reação aumenta com a temperatura e é catalisada por lipases.

<sub2>12.4.4. Formação da cor

Produtos fermentados são curados com a adição de sal, nitrato e/ou nitrito. O nitrato de sódio e o nitrito de sódio utilizados na produção de embutidos têm propriedades antimicrobianas e efeito de cura em carnes. A cura é um processo no qual a adição de nitrato pode ser útil no processamento em longo prazo. Sal de nitrito causa sabor

característico e formação de cor nos produtos. No início do processo de cura, a redução de nitrato a nitrito por ação bacteriana é um processo lento, porque a velocidade dessa reação depende do tamanho da população de microrganismos no produto, do pH, da temperatura e do teor de sal. Bactérias, como *Micrococcus* sp. e *Staphylococcus* sp., produzem as enzimas nitrato redutase e nitrito redutase, responsáveis pela redução do nitrato a nitrito e do nitrito a óxido nítrico (NO), respectivamente. A concentração de 50 ppm melhora o sabor e a aparência dos produtos: de 30 a 50 ppm são suficientes para conferir a cor de carnes curadas, e 100 ppm contribuem para o sabor e a aparência.

Condições como pH baixo, presença de ascorbato e outras condições redutoras aceleram a formação de NO. Nitrito também pode ser decomposto em produtos correspondentes em água e o NO é produzido em solução ácida. A cor vermelha curada dos embutidos depende da reação de NO com a mioglobina da carne para produzir nitrosomioglobina, que é um pigmento vermelho-rosado, cor característica do produto curado. Algumas vezes, após a cura, o calor é aplicado ao produto. Nesse momento, a nitrosomioglobina é convertida em nitroso-hemocromo (cor rosa-claro), e a metamioglobina é desnaturada (cor de carne fresca cozida cinza-marrom).

<sub1>12.5 Contribuição da fermentação para a segurança de produtos cárneos

Produtos de carne fermentada, em geral, têm uma longa história de segurança no mundo. Ainda que envolvidos em surtos alimentares, estes são mais esporádicos em comparação com outros tipos de produtos de origem animal. Na produção de carnes fermentadas, a preocupação com a inocuidade tem sido especialmente relacionada a contaminações de origem microbiológica e química.

Culturas iniciadoras são geralmente desenvolvidas para atender a critérios de segurança dos alimentos, eficiência tecnológica e viabilidade econômica. Além das propriedades tradicionais, o desenvolvimento de novas culturas iniciadoras deve considerar riscos decorrentes da formação de aminas biogênicas e de resistência bacteriana a antibióticos.

Na fermentação de produtos cárneos, as principais transformações estão relacionadas a mudanças da microbiota inicial, redução de pH, redução de nitratos a nitritos, formação de nitrosomioglobina, solubilização e gelificação de proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas, fenômenos de oxidação, hidrólise e desidratação. A adição de nitrato e nitrito à mistura de carne crua é importante no início da fermentação,

para a estabilidade microbiológica, enquanto outros obstáculos ainda não estão estabelecidos. O próximo obstáculo é o potencial de oxidorredução (Eh). Quando moída, a carne incorpora oxigênio do ar, o que resulta em Eh relativamente alto. No início da fermentação, o crescimento de bactérias aeróbias resulta em redução do Eh, o que atua como um obstáculo, uma vez que o nitrito é mais eficaz como antimicrobiano em Eh baixo. Nesse sentido, bactérias aeróbias relacionadas à deterioração do embutido são inibidas com a redução de Eh, o que, por sua vez, favorece as BAL. Em embutidos crus com fermentação lenta, o Eh tende a se elevar novamente. A microbiota láctica competidora torna-se, portanto, o mais importante obstáculo, pois suprime microrganismos indesejáveis, inclusive patógenos, por diminuição do pH e potencial formação de bacteriocinas. O valor de pH é um obstáculo importante na estabilidade de muitos embutidos crus, particularmente nos de maturação rápida que contêm uma Aw relativamente alta. Durante a maturação do embutido cru, o pH tende a subir novamente, e essa barreira torna-se menos importante. No caso de salame italiano, por exemplo, cujo pH não atinge valores abaixo de 5,2, a Aw é mais importante para estabilizar o produto. O obstáculo final, portanto, consiste na redução de Aw, que ganha importância à medida que o processo evolui. Essa sequência de barreiras permite melhorar a segurança microbiológica, uma vez que inibe a microbiota patogênica, que inclui *Salmonella* sp., *L. monocytogenes*, *S. aureus* e *C. botulinum*, além de permitir o desenvolvimento da microbiota tecnológica, principalmente as BAL, que aproveitam a vantagem seletiva, tornando-se dominantes.

Em produtos cárneos fermentados, a eventual presença de toxinas bacterianas, de micotoxinas e de amins biogênicas pode ser decorrente da sua liberação durante o processamento. Em carnes processadas, compostos nocivos importantes do ponto de vista toxicológico também podem ser formados por uma química complexa, resultado das interações entre reagentes e condições específicas, como as nitrosaminas, os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) e as amins aromáticas policíclicas.

Produtos cárneos fermentados podem ser submetidos à defumação, o que também contribui para uma proteção contra microrganismos indesejáveis. Isso se dá pela desidratação da superfície do produto, principalmente na defumação a quente, pela coagulação proteica durante a defumação e pelo depósito de substâncias antimicrobianas da fumaça na superfície do produto.

<sub2>12.5.1 Patógenos de importância em produtos cárneos fermentados

A carne crua utilizada na elaboração de produtos cárneos fermentados pode ser fonte de microrganismos causadores de toxinfecções alimentares em humanos, se não houver medidas de controle sanitário, de biossegurança no campo, incluindo manejo e práticas de bem-estar animal, além de boas práticas de produção e higiene. Os principais perigos microbiológicos de destaque em carnes frescas são *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. Em carne bovina, *E. coli* O157:H7 e outras linhagens de *E. coli* entero-hemorrágica (EHEC) são importantes, especialmente em produtos não submetidos a tratamento térmico suficiente para torná-los seguros. Em carnes suínas, além da bactéria *Yersinia enterocolitica*, destaca-se o parasito *Trichinella spiralis*, causador da triquinose.

Em produtos cárneos curados estáveis em temperatura ambiente, salmonelas, EHEC, *Y. enterocolitica*, *S. aureus*, *C. botulinum* e *T. spiralis* são patógenos importantes. Em geral, as doenças decorrem da ingestão de carnes mal cozidas ou subprocessadas, inclusive por falhas nos processos de elaboração de embutidos. Uma preocupação recente é com o vírus da hepatite E, que já foi detectado em alguns produtos cárneos suínos prontos para o consumo. O RNA do vírus já foi detectado em produto cárneo cru curado contendo fígado suíno (GIANINNI *et al.*, 2018). A microbiota inicial da massa cárnea varia em função dos ingredientes utilizados e das condições de processamento. Os contaminantes também dependem dos métodos de produção, como fermentação e cura.

Em embutidos fermentados, o controle de *Salmonella* sp. decorre principalmente da reduzida atividade de água e do rápido desenvolvimento de BAL. Enfermidades causadas por *Salmonella* sp., *E. coli* O157:H7 e *Y. enterocolitica* têm sido relacionadas a falhas de processamento de embutidos. Essas bactérias podem ser controladas mediante a aplicação de processos validados para diminuir a população dos patógenos nas misturas de carnes cruas e, em sequência, a aplicação da análise de perigos e pontos críticos de controle (APPCC), para que condições adequadas de produção sejam atingidas. Devido à ocorrência de infecções por EHEC, alguns países estabelecem exigências para validar o controle do patógeno em carnes fermentadas, como uma etapa de aquecimento brando.

L. monocytogenes consiste em um patógeno potencialmente veiculado por embutidos fermentados. Alimentos com maior risco são os prontos para consumo com características intrínsecas que permitem a multiplicação do patógeno, como salsichas, por exemplo, enquanto os que não oferecem condições de multiplicação são de menor risco, caso do salame, pelos obstáculos criados durante seu processo de fabricação e presentes no produto final. Para produtos cárneos prontos para o consumo produzidos sem

tratamento listericida, atenção especial é necessária para assegurar o controle do patógeno na matéria-prima, mediante o controle de fornecedores e análises periódicas do produto.

Para controle de *S. aureus* em embutidos fermentados secos, pode-se aliar o uso de culturas iniciadoras comerciais ou de glucona-delta-lactona (GLD) a condições de processamento, como a quantidade de sal adicionada e a temperatura de fermentação, que favorecem a cultura iniciadora e limitam a multiplicação do patógeno em função da acidificação (valores de pH menores que 5,3). Outra estratégia consiste em deixar os embutidos em temperaturas baixas até a diminuição da umidade e até que a população de BAL se multiplique, o que diminui a probabilidade de *S. aureus* se multiplicar quando, posteriormente, a temperatura for elevada.

Com respeito a *T. spiralis*, em países onde há ocorrência do parasito, o congelamento pode ser aplicado como medida preventiva. Embora não haja registro de ocorrência no Brasil, a legislação atual (BRASIL, 2017) apresenta diversos binômios tempo × temperatura capazes de destruir larvas eventualmente presentes na carne, por exemplo, -15 °C durante 30 dias.

C. botulinum representa um perigo microbiológico importante em embutidos cárneos fermentados devido à produção de toxina botulínica, uma das substâncias biológicas mais letais entre as conhecidas. Misturas cárneas cruas de embutidos podem conter número significativo de bactérias formadoras de esporos. Existem vários fatores intrínsecos que afetam o crescimento de *C. botulinum*, principalmente pH (mínimo para o grupo I [4,6] e para o grupo II [5,0]), A_w , exclusão competitiva pela microbiota fermentadora, bem como conservantes adicionados. Limites máximos e mínimos para tais parâmetros foram estabelecidos, embora raramente atuem de forma independente, mas sim em conjunto. Outro fator que pode influenciar o crescimento de *C. botulinum* em alimentos é a temperatura, sendo as mínimas 10 °C e 3 °C, para os grupos I e II, respectivamente.

Quando se utiliza nitrito como conservante, o principal microrganismo a ser evitado é o *C. botulinum*, sendo que a atividade antibotulínica do nitrito depende do pH, da concentração salina, da temperatura de incubação e do número inicial de esporos do patógeno. No entanto, deve-se ter muito cuidado com a manipulação e o uso de nitrito, pois seu emprego inadequado pode trazer sérios riscos à saúde. Nesse contexto, o papel do nitrito em carnes curadas tem sido bastante discutido. Alguns autores defendem que, provavelmente, é difícil a formação de toxina botulínica em embutidos fermentados de estilo europeu, em função do baixo pH e da baixa atividade de água. Outros consideram

o nitrito necessário, especialmente naqueles produtos com queda de pH menos significativa, como salames. Modelos para prever a interface entre crescimento e não crescimento de *C. botulinum* em produtos cárneos com diferentes níveis de nitrito (0 a 150 ppm), concentrações de lactato de sódio, cloreto de sódio e diferentes níveis de pH, a 4 °C e a 12 °C, demonstram que *C. botulinum* não cresce na presença de 72 a 150 ppm de nitrito. Entretanto, a 60 ppm, há crescimento quando o pH é superior a 6, as temperaturas de armazenamento são maiores e os níveis de cloreto e lactato de sódio, menores. A redução da concentração ou até mesmo a eliminação de nitrato/nitrito em fórmulas de embutidos fermentados submetidos à secagem não compromete a segurança do produto. Fatores como pH, atividade de água e microbiota competitiva podem exercer um papel mais relevante do que o próprio conservante na inibição do crescimento e produção da toxina botulínica. Entretanto, o papel do nitrito nunca deve ser subestimado, pois é relevante em outros produtos ou mesmo em casos de falha de outras barreiras para *C. botulinum*, nas condições de maturação. Deve-se, portanto, controlar todos os fatores tecnológicos que contribuem para a inibição de *C. botulinum* nesse tipo de produto cárneo, sendo imprescindível considerar os riscos de cada fase do processamento e da maturação.

Apesar da relevante função tecnológica e de segurança do nitrito em embutidos, há preocupações quanto ao seu papel na formação de N-nitrosaminas, uma vez que muitas são consideradas carcinogênicas. Com a presença de aminas e de nitrito em produtos embutidos, torna-se possível a formação de nitrosaminas, que resultam da ação do ácido nitroso (formado a partir de nitritos) sobre as aminas da carne. Apesar da controvérsia acerca da segurança da exposição humana ao nitrito pela dieta, produtos cárneos geralmente têm uma contribuição mínima na ingestão. Assim, o nitrito é ainda considerado seguro e é regularmente empregado pela indústria processadora de carnes. A concentração de nitrito em carnes se reduz consideravelmente durante o processo de aquecimento e armazenamento; cerca de 50% do nitrito adicionado é degradado nas primeiras 24 horas e menos de 10% permanecem após sete dias. Assim, a quantidade de nitrito ingerida quando do consumo de carnes curadas é muito menor do que a quantidade adicionada no produto. No Brasil, em produtos cárneos processados, a soma dos nitritos e nitratos, determinada como resíduo máximo, não deve superar 0,015 g/100 g, expressa como nitrito de sódio (BRASIL, 2019). Diante da polêmica sobre os possíveis danos à saúde de nitratos e nitritos, diversas pesquisas indicam falta de evidências para a carcinogenicidade induzida por nitrito e argumentam que moléculas de nitrato e nitrito

estão disponíveis de forma natural em diversos alimentos – como vegetais –, e que, inclusive, têm sido consideradas essenciais à saúde, contribuindo, quando consumidas, para a homeostase fisiológica e bioquímica do organismo. O nitrito, ao promover a produção de óxido nítrico, está envolvido na saúde cardiovascular. No entanto, as evidências até o momento não são suficientes para se encerrar a controvérsia sobre o assunto (OLIVO; RIBEIRO, 2018).

Outros antimicrobianos são permitidos para diversas categorias de produtos cárneos no Brasil. O sorbato tem efeito inibitório sobre leveduras, bolores e bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Entretanto, seu uso combinado com nitrito em produtos cárneos é proibido em diversos países. O sorbato não deve ser encontrado na parte interna dos alimentos, mas pode ser aplicado na superfície de produtos à base de carne curada fermentada salgada e seca ou para o tratamento prévio de invólucros (na forma de solução, para as tripas), a fim de inibir o crescimento de fungos (BRASIL, 2019).

<sub2>12.5.2. Compostos químicos de importância em produtos cárneos fermentados

Nesta seção, abordaremos a ocorrência de compostos químicos em produtos cárneos fermentados, com destaque para aqueles decorrentes da atividade microbiana. Nitrosaminas e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos serão discutidos brevemente, devido à sua importância, ainda que não estejam diretamente relacionados à microbiota do produto.

<sub3>12.5.2.1 Aminas biogênicas

Aminas biogênicas incluem diferentes substâncias caracterizadas pela presença de pelo menos um grupo amino; podem ser de origem microbiana ou decorrentes da atividade fisiológica em tecidos vegetais e animais. As de origem microbiana são formadas pela ação de descarboxilases a partir de aminoácidos precursores. Trata-se de compostos não voláteis, capazes de permanecerem nos alimentos mesmo após a aplicação de tratamentos térmicos. Portanto, a presença e o nível de aminas biogênicas é um indicador da atividade microbiana (descarboxilação) em alimentos armazenados ou processados. Histamina, putrescina, tiramina, cadaverina e β -feniletilamina estão entre as aminas biogênicas mais comuns em alimentos fermentados. Sua ingestão pode provocar efeitos psicoativos e vasoativos, de acordo com o tipo de amina presente; são, portanto,

componentes indesejáveis no produto final. Para minimizar o risco de produção de aminas biogênicas em produtos cárneos fermentados, indica-se a utilização de matérias-primas e ingredientes de qualidade higiênica, assim como a seleção e uso de culturas iniciadoras não aminogênicas. Entre as BAL produtoras de aminas em carnes fermentadas, destacam estirpes de *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Carnobacterium*, *Pediococcus*, *Lactococcus* e *Leuconostoc*. Enterobactérias estão relacionadas à produção de cadaverina e/ou histamina, enquanto a microbiota ácido-lática, especialmente enterococos, pode ser produtora de tiramina.

A fermentação favorece a formação de aminas biogênicas em consequência do desenvolvimento de microrganismos potencialmente aminogênicos, bem como das reações de proteólise, que aumenta a disponibilidade de aminoácidos precursores. Carne, produtos frescos e tratados termicamente não deveriam conter aminas biogênicas microbianas; no máximo, apresentar apenas as aminas fisiológicas. Outras aminas só poderiam estar presentes em quantidades insignificantes. Em produtos cárneos fermentados, a ocorrência de aminas biogênicas é variável, considerando-se os diferentes tipos ou seus níveis totais. Vários países determinam limites de tolerância para sua presença em alimentos. No Brasil, existem poucas pesquisas sobre aminas em produtos cárneos. Estudos em salames italianos demonstraram valores de aminas biogênicas entre 28,33 a 53,27 mg/100 g com predomínio de tiramina, cujas amostras avaliadas apresentaram concentrações capazes de provocar efeito tóxico em indivíduos sensíveis. Em termos legais, a legislação atual brasileira (BRASIL, 2019) estabelece limite máximo apenas para a histamina em pescado.

<sub3>12.5.2.2. Micotoxinas

Conforme discutido anteriormente, o crescimento de fungos filamentosos na superfície de embutidos fermentados durante a maturação é considerado um fator de qualidade, que deve complementar mudanças bioquímicas relacionadas à maturação do produto. No entanto, micotoxinas representam sérios riscos à saúde dos consumidores, e podem resultar em diversos efeitos, como carcinogênicos, genotóxicos, teratogênicos, nefrotóxicos e hepatotóxicos. Logo, o conhecimento acerca da microbiota em embutidos fermentados e o potencial risco para sua segurança microbiológica é imprescindível para a qualidade do produto final. Em termos práticos, a regra geral da charcutaria é que o mofo branco e liso é seguro; qualquer outra alteração de cor ou quanto ao tipo de micélio

(com filamentos ou pegajoso) é indício de contaminações indesejadas, devendo-se, nesse caso, proceder à retirada do fungo, bem como a limpeza de todo o ambiente. *Penicillium nalgiovense* é um fungo tradicionalmente adicionado como cultura iniciadora em embutidos fermentados que, além dos benefícios sensoriais para o produto, auxilia na prevenção de fungos indesejáveis potencialmente toxigênicos.

Em ambiente doméstico, produtos cárneos curados são produzidos em condições variadas, com falta de padronização na produção, o que pode resultar em variações significativas de qualidade com implicações inclusive para a segurança desses alimentos. Em escala industrial, a falta de complexos climatizados em empresas processadoras de embutidos fermentados e o controle pouco eficiente das condições ambientais nas câmaras climatizadas favorecem o desenvolvimento de microbiota fúngica indesejável. Essa microbiota pode apresentar espécies toxigênicas e/ou constituir um problema comercial, por descaracterizar o produto, alterar a cor e o sabor ou comprometer o envoltório do embutido. A defumação de embutidos crus tem ação complementar de proteção contra fungos. No entanto, como as substâncias fungistáticas da fumaça são voláteis, até produtos defumados podem mofar depois de um certo tempo.

Quatro aflatoxinas (AF) – B1, B2, G1 e G2 – são consideradas as mais importantes em produtos cárneos curados. Dentre as diferentes micotoxinas que podem contaminar produtos secos à base de carne, AFB1 e ocratoxina (OTA) são as mais relevantes, considerando-se sua incidência e seus efeitos tóxicos para os consumidores (PIZZOLATO MONTANHA *et al.*, 2018). AFB1 é produzida por *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, enquanto OTA é produzida por várias espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. A presença de OTA e AF em produtos cárneos curados pode decorrer de contaminações da matérias-prima, como condimentos, por contaminação via *carry-over* ou, ainda, por crescimento de fungos micotoxigênicos na superfície do produto durante a maturação. A OTA é a micotoxina mais comum em produtos cárneos curados; acredita-se que fungos anteriormente identificados como *Aspergillus ochraceus* correspondem, na verdade, a *Aspergillus westerdijkiae*, que geralmente produz OTA em maior quantidade e de forma mais consistente do que *A. ochraceus*. A contaminação de linguiças por AF e OTA é variável entre os países produtores, o que demonstra a necessidade de medidas de controle para minimizar os riscos decorrentes do consumo desse tipo de alimento contaminado. O limite de micotoxinas varia segundo as legislações de cada país, muitos dos quais não possuem padrões legais estabelecidos para produtos cárneos. No Brasil, alimentos comercializados prontos para o consumo devem respeitar

os limites máximos de micotoxinas de acordo com a RDC n. 7, de 18 de fevereiro de 2011 (BRASIL, 2011). No entanto, para produtos cárneos, não há, ainda, um limite estabelecido.

<sub3>12.5.2.3 Nitrosaminas

Nitrosaminas e nitrosamidas são compostos N-nitrosos formados a partir da interação entre nitritos e aminas ou amidas. As nitrosaminas podem estar presentes em alimentos conservados por adição de nitrato e/ou nitrito (carnes curadas e queijos) ou defumados (peixes e produtos cárneos). A presença de nitrosaminas em alimentos é preocupante do ponto de vista da saúde pública, e a maior exposição a ela acontece pela alimentação, sendo que o processamento e o preparo dos alimentos influenciam a quantidade formada. Existe uma correlação direta entre a concentração de algumas nitrosaminas e a quantidade de sais de cura utilizados. Portanto, é necessário um rigoroso controle do uso desse componente nas formulações, além das condições de frescor e higiene das matérias-primas cárneas. Ademais, todo processamento de alimentos envolvendo tratamentos térmicos em altas temperaturas e/ou contato direto com gases de combustão – como defumação, torra, assamento ou grelha – pode resultar em nitrosaminas em alimentos processados. Estas são absorvidas principalmente pelo trato gastrointestinal, não são bioacumuladas e requerem ativação metabólica para exercerem ação mutagênica e carcinogênica.

Na elaboração de produtos cárneos fermentados, a incorporação de inibidores da reação de nitrosação (ácido ascórbico ou tocoferol) no processo pode eliminar ou reduzir significativamente os níveis de N-nitrosaminas; o uso de ascorbato tem sido a abordagem mais comum para controlar a formação de compostos nitrosos em produtos cárneos. No Brasil, não existe legislação acerca da presença de nitrosaminas em alimentos. Em produtos industrializados adicionados de nitrato e/ou nitrito, que sejam de consumo expressivo, seria fundamental um monitoramento desses compostos, especialmente em alimentos submetidos a aquecimento.

<sub3>12.5.2.4 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) são contaminantes ambientais com potencial tóxico para animais e seres humanos. Tem sido demonstrado que os HAP

podem ter propriedades carcinogênicas, mutagênicas e imunossupressoras. Esses compostos são formados durante a combustão incompleta de material orgânico e são altamente lipossolúveis. Alimentos podem ser contaminados por essas substâncias principalmente por processos térmicos industriais, como secagem e defumação, e processos culinários, como assar, grelhar e fritar, o que pode levar a reações específicas entre os constituintes dos alimentos. No caso de carnes e embutidos, os HPA podem ser formados pelas altas temperaturas utilizadas para grelhar ou defumar. HPA são prontamente absorvidos pelo trato gastrointestinal quando consumidos com os alimentos e são distribuídos pela circulação sanguínea em diversos tecidos. A excreção ocorre pela urina, mas os HPA que não são eliminados do organismo tendem a se armazenar no tecido adiposo.

A contaminação de alimentos por HAP é uma grande desvantagem do processo de defumação. Na defumação tradicional, o uso de filtros no defumador, o tipo de madeira, a manutenção de uma distância mínima de 2 a 2,5 metros entre o produto e a fonte de calor, o tempo e a temperatura de defumação ajudam a evitar a contaminação do produto por HAP. Apesar do efeito conservante que pode conferir ao produto, a defumação é uma técnica empregada atualmente por tradição e não tanto como método de conservação. Como os HAP são lipossolúveis, quanto maior o teor de gordura dos produtos, mais facilmente esses compostos presentes na fumaça migram para o interior do alimento.

A fim de diminuir a contaminação por HAP em diversas matrizes, o Codex Alimentarius (CAC/RCP 68-2009) disponibilizou um código de boas práticas que recomenda: i) dar preferência à defumação indireta, mais benéfica do que a direta; ii) utilizar uma placa de metal perfurada entre os produtos e o fogo; iii) controlar o oxigênio na câmara de fumaça; iv) aquecer a câmara de defumação antes de acomodar os produtos; v) lavar os produtos com água após a defumação; vi) dar preferência a madeiras secas, evitando-se as resinosas. A United States Environmental Protection Agency (USEPA) selecionou 16 HPA como poluentes prioritários. No Brasil, a legislação estabelece o limite de 0,03 µg/kg apenas para benzopireno em alimentos defumados.

<sub1>12.6 Considerações finais

Para a segurança dos consumidores, produtos cárneos fermentados tradicionais devem ser produzidos com rigoroso controle de qualidade. Acima de tudo, a implementação de boas práticas é fundamental para a segurança no processamento desses

alimentos. As legislações precisam ser constantemente revisadas e adequadas, estabelecendo limites para compostos nocivos que possam contaminar produtos cárneos. Apesar do uso de conservantes ser rigorosamente revisado e regulamentado na maioria dos países, procedimentos inadequados, como doses abusivas ou o uso de produtos químicos inapropriados, podem aumentar a formação de compostos nocivos em produtos cárneos fermentados.

<sub1>12.7 Referências

- ATSDR (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY). Toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). Case Studies in Environmental Medicine. 2009. Disponível em: <https://www.atsdr.cdc.gov/csem/pah/docs/pah.pdf>. Acesso em: 20 maio 2020.
- AMI (AMERICAN MEAT INSTITUTE). *Good manufacturing practices, fermented dry and semi-dry sausage*. Washington, DC, 1982.
- AQUILANTI, L. *et al.* The microbial ecology of a typical Italian salami during its natural fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, v. 120, n. 1-2, p. 136-145, 2007.
- ARNAU, J. *et al.* Technologies to shorten the drying period of dry-cured meat products. *Meat Science*, v. 77, n. 1, p. 81-89, 2007.
- BERNI, E. Molds. In: TOLDRÁ, F. (ed.). *Handbook of fermented meat and poultry*. Chichester: Wiley, 2014. p. 147-153.
- BOU, R.; COFRADES, S.; JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Fermented meat sausages. In: FRIAS, J.; MARTINEZ-VILLALUENGA, C.; PEÑAS, E. (eds.) *Fermented foods in health and disease prevention*. London: Academic Press, 2017. p. 203-235
- BOVER-CID, S. *et al.* Aminas biógenas en productos cárnicos: un repaso a su origen, importancia y control. *Eurocarne*, n. 141, 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto n. 9.013, de 29 de março de 2017. Regulamenta a Lei n. 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei n. 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. *Diário Oficial da União*: seção 1, Brasília, DF, n. 62, p. 3, 30 mar. 2017.

- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diretoria Colegiada. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC n. 7, de 18 de fevereiro de 2011. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. *Diário Oficial da União*: seção 1, Brasília, DF, n. 37, 22 fev. 2011.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diretoria Colegiada. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC n. 272, de 14 de março de 2019. Estabelece os aditivos alimentares autorizados para uso em carnes e produtos cárneos. *Diário Oficial da União*: seção 1, Brasília, DF, n. 52, p. 194, 18 mar. 2019.
- CACCIOPPOLI, J. *et al.* Bioactive amines and physico-chemical characteristics of Italian sausages. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 58, n. 4, p. 648-657, 2006.
- CAMPAGNOL, P. C. B. *et al.* Salami sausage prepared with *Lactobacillus plantarum* fermented in porcine plasma culture medium. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, n. 4, p. 883-889, 2007.
- CAVENAGHI, A. D. *Elaboração de embutidos fermentados cozidos com carne de coxa de frango*. 2005. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
- CAVENAGHI, A. D. *Uso de culturas starter na fabricação de salame tipo italiano*. 1999. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.
- COCCONCELLI, P. S. Starter cultures: bacteria. In: TOLDRÁ, F. (ed.). *Handbook of fermented meat and poultry*. Oxford, UK: Blackwell, 2008. p. 137-145.
- CODEX ALIMENTARIUS. *Code of practice for the reduction of contamination of food with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) from smoking and direct drying processes*. CXC 68-2009. 2009. Disponível em: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/codes-of-practice/en/>. Acesso em: 20 mar. 2020.
- DUTRA, C. B.; RATH, S.; REYES, F. G. Nitrosaminas voláteis em alimentos. *Alimentos e Nutrição*, v. 18, n. 111-120, 2007.
- FAO (ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA). Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods: technical report. *Microbiological Risk Assessment Series*, n. 5, 2004.
- FERNÁNDEZ, M. *et al.* Accelerated ripening of dry fermented sausages. *Trends in Food Science and Technology*, v. 11, n. 6, p. 201-209, 2000.

- FLORES, J., BERMELL, S. Curado de embutidos: consecuencia de la acidificación y factores que la afectan. *Fleischwirtschaft Ed. Español*, Frankfurt, n. 2, p. 22-26, 1995.
- FLORES, M. Understanding the implications of current health trends on the aroma of wet and dry cured meat products. *Meat Science*, v. 144, p. 53-61, 2018.
- GALLI, F. Os embutidos: como fabricá-los. *Revista Nacional da Carne*, São Paulo, v. 17, n. 194, p. 14-27, 1993.
- GARRIGA, M.; AYMERICH, T. The microbiology of fermentation and ripening. In: TOLDRÁ, F. (ed.). *Handbook of fermented meat and poultry*. Chichester: Wiley, 2014. p. 107-115.
- GIANINNI, P. *et al.* Detection of hepatitis E virus RNA in raw cured sausage and raw cured sausages containing pig liver at retail stores in Switzerland. *Journal of Food Protection*, v. 81, n. 1, p. 43-45, 2018.
- GUNVIG, A.; HANSEN, F.; BORGGAARD, C. A mathematical model for predicting growth/no-growth of psychrotrophic *C. botulinum* in meat products with five variables. *Food Control*, v. 29, n. 2, p. 309-317, 2013.
- HOSPITAL, X. F. *et al.* A study on the toxigenesis by *Clostridium botulinum* in nitrate and nitrite-reduced dry fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology*, v. 218, p. 66-70, 2016.
- ICMSF (INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS). *Microorganismos em alimentos 8: utilização de dados para avaliação do controle de processo e aceitação de produto*. São Paulo: Blucher, 2001. 536 p..
- KUMAR, P. *et al.* Quality, functionality, and shelf life of fermented meat and meat products: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 57, n. 13, p. 2844-2856, 2017.
- LEBERT, I., *et al.* Diversity of microorganisms in the environment and dry fermented sausages of small traditional French processing units. *Meat Science*, v. 76, n. 1, p. 112-122, 2007.
- LEISTNER, L. Stable and safe fermented sausages world-wide. In: CAMPBELL-PLATT, G.; COOK, P. E. (eds.). *Fermented meats*. Boston, MA: Springer, 1995. p. 160-175.

- LEROY, F.; VERLUYTEN, J.; DE VUYST, L. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, v. 106, n. 3, p. 270-285, 2006.
- LEROY, S.; LEBERT, I.; TALON, R. Microorganisms in traditional fermented meats. In: TOLDRÁ, F. (ed.). *Handbook of fermented meat and poultry*. Chichester: Wiley, 2014. p. 97-105).
- [LÜCKE, F. Ferment sausages. In: WOOD, B.J.B., ed. *Microbiology of fermented foods*. London: Elsevier Applied Science Publishers, v. 2, cap. 2, p. 41-83, 1985.](#)
- LÜCKE, F. K. Utilization of microbes to process and preserve meat. *Meat Science*, v. 56, n. 2, p. 105-115, 2000.
- NETO, M. P. Manual de embutidos cárneos fermentados. Campinas: Centro de Tecnologia de Carnes (CTC-ITAL), 2006.
- OLIVO, R.; RIBEIRO, L. G. T. Novos conceitos sobre nitratos e nitritos. *Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research*, v. 24, n. 3, p. 115-125, 2018.
- PALAVECINO, P. *et al.* Indigenous starter cultures to improve quality of artisanal dry fermented sausages from Chaco (Argentina). *International Journal of Food Science*, 931970, 2015.
- CIONE PARDI, M. *et al.* *Ciência, higiene e tecnologia da carne*. 2. ed. Goiânia: Editora UFG, 2001. (v. 2)
- PARUSSOLO, G. *et al.* Ochratoxin A production by *Aspergillus westerdijkiae* in Italian-type salami. *Food Microbiology*, v. 83, p. 134-140, 2019.
- PISACANE, V. *et al.* Microbial analyses of traditional Italian salami reveal microorganisms transfer from the natural casing to the meat matrix. *International Journal of Food Microbiology*, v. 207, p. 57-65, 2015.
- PIZZOLATO MONTANHA, F. *et al.* Mycotoxins in dry-cured meats: a review. *Food and Chemical Toxicology*, v. 111, p. 494-502, 2018.
- PRICE, J. F.; SCHWEIGERT, B. S. *The science of meat and meat products*. San Francisco: W. H. Freeman and Company, 1971.
- SAKHARE, P. Z.; NARASIMHA RAO, D. Microbial profiles during lactic fermentation of meat by combined starter cultures at high temperatures. *Food Control*, v. 14, n. 1, p. 1-5, 2003.
- SÁNCHEZ MAINAR, M.; STAVROPOULOU, D. A.; LEROY, F. Exploring the metabolic heterogeneity of coagulase-negative staphylococci to improve the

- quality and safety of fermented meats: a review. *International Journal of Food Microbiology*, v. 247, p. 24-37, 2017.
- SELGAS, M. D.; GARCÍA, M. L. Yeasts. In: TOLDRÁ, F. (ed.). *Handbook of fermented meat and poultry*. Chichester: Wiley, 2014. p. 139-146.
- SETTANNI, L. *et al.* Evolution of indigenous starter microorganisms and physicochemical parameters in spontaneously fermented beef, horse, wild boar and pork salamis produced under controlled conditions. *Food Microbiology*, v. 87, p. 103385, 2020.
- SINGH, V.; VERMA SARDAR, A. K.; PATEL, V. Fermented meat products: organoleptic qualities and biogenic amines-a review. *American Journal of Food Technology*, v. 7, n. 5, p. 278-288, 2012.
- STAHNKE, L. H. *et al.* Maturity acceleration of Italian dried sausage by *Staphylococcus carnosus* – Relationship between maturity and flavor compounds. *Journal of Food Science*, v. 67, n. 5, p. 1914-1921, 2002.
- STIENBING, A., RÖDEL, W. Influencia del pH sobre el proceso de secado en embutidos secos. *Fleischwirtschaft Ed. Esp.*, Frankfurt, v. 2, p. 44-48, 1991.
- TALON, R.; LEROY, S.; LEBERT, I. Microbial ecosystems of traditional fermented meat products: The importance of indigenous starters. *Meat Science*, v. 77, n. 1, p. 55-62, 2007.
- TALON, R.; LEROY, S. Diversity and safety hazards of bacteria involved in meat fermentations. *Meat Science*, v. 89, n. 3, p. 303-309, 2011.
- TERRA, A. B. M.; FRIES, L. L. M.; TERRA, N. N. *Particularidades na fabricação de salame*. São Paulo: Livraria Varela, 2004.
- TERRA, N. Princípios de fermentação de produtos cárneos: culturas “starter”. *Revista Nacional da Carne*, São Paulo, v. 17, n. 192, p. 24-27, 1993.
- TERRA, N. N. *Apontamentos de tecnologia de carnes*. São Leopoldo: Unisinos, 2005.
- TERRA, N. N. *et al.* *Defeitos nos produtos cárneos: origens e soluções*. São Paulo: Livraria Varela, 2004.
- TOLDRÁ, F.; SANZ, Y.; FLORES, M. Meat fermentation technology. In: HUI, Y. H. *Meat science and applications*. New York: CRC Press, 2001. p. 537-567.
- VEDOVATTO, E. *et al.* Evaluation of different starters cultures in the obtention of Italian-type sausage. *Ciência Animal Brasileira*, v. 20, p. e-47777, 2019.
- VIEIRA, E. N. R.; MENDONÇA, R. C. S. Embutidos fermentados e cultura starter: questão de qualidade. *Revista Nacional da Carne*, n. 371, p. 16-25, 2005.

YAMADA, E. A. A. Produção de salames. *Revista Nacional da Carne*, São Paulo, v. 24, n. 220, p. 72-75, 1995.

YAMADA, E. A.; BERAQUET, N. J. Embutido fermentado cozido. *Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos*, v. 23, n. 1, p. 19-26, 1993.

YILMAZ, I.; VELIOGLU. H. M. Fermented meat products. *In: YILMAZ, I. Quality of meat and meat products*. Kerala, India: Transworld Research Network, 2009.