

Efeitos da substituição de NaCl na qualidade de chouriças de carne de porco Bísaro

Iasmin da Silva Ferreira

Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança
para obtenção do Grau de Mestre em Qualidade e Segurança
Alimentar no âmbito da dupla diplomação com o Centro Federal de
Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca campus Valença.

Orientado por

Dr. Alfredo Teixeira

Dr^a. Maria Letícia Estevinho

Dr. Miguel Meirelles de Oliveira

Bragança

2020

DEDICATÓRIA

Aos meus pais,
Rosangela e Sidnei.

Agradecimentos

Primeiramente agradeço aos meus pais, meus avós e minha madrinha pelo total apoio e dedicação que cederam ao meu sonho, por todo amor e carinho que compartilhamos.

Ao Centro Tecnológico Federal Celso Suckow da Fonseca campus Valença e ao Instituto Politécnico de Bragança pela oportunidade.

Ao meu co-orientador do Brasil, Professor Doutor Miguel Oliveira, por toda ajuda, disponibilidade e companheirismo.

Ao meu orientador Professor Doutor Alfredo Teixeira, pelo tema sugerido e por todo apoio fornecido ao longo do desenvolvimento do trabalho, e a minha co-orientadora Professora Doutora Maria Letícia Estevinho pela disponibilidade e apoio.

A mestre Etelvina Pereira, pela ajuda e amizade, também a todos que auxiliaram a execução do trabalho no Laboratório de Tecnologia e Qualidade da Carcaça e da Carne.

A Doutora Vanessa Paula e a técnica Fátima do Laboratório de Microbiologia, pela ajuda e pelas risadas.

Agradeço aos meus amigos, em especial ao Gabriel Medeiros por sempre estar disposto a me ouvir e ajudar, a Larissa Martins e Laís Bastos por me acompanharem em todos os momentos.

As futuras companheiras de profissão que me acompanharam durante a faculdade, intercâmbio e o mestrado.

A todos que estiveram envolvidos, não necessariamente citados, mas sempre lembrados com carinho e devida importância, agradeço.

Resumo

A reformulação de produtos tradicionais é uma necessidade que abrange as demandas do consumidor atual que busca por produtos de qualidade e saudáveis. A chouriça é um produto tradicional e amplamente consumido em Portugal, na região de Trás-os-Montes a carne mais utilizada para produção da chouriça é da raça Bísaro. O cloreto de sódio interfere nas características organolépticas e físico químicas dos alimentos, por isso é necessário determinar os efeitos causados pela sua redução. O presente trabalho compara as características da chouriça de carne de porco Bísaro quando é substituído parte do NaCl por: 25% de KCl; ou 25% do mix comercial Sub4Salt®; e substituição total do NaCl por 75% de KCl e 25% do mix comercial Sub4Salt®, submetidas a 8 e 16 dias de cura. Foram realizadas análises físico-químicas como pH, a_w , cor, composição centesimal e mineral, e microbiológicas como contagem total de aeróbios mesófilos, contagem total de bolores e leveduras, contagem de coliformes totais e *Escherichia coli*, contagem de *Staphylococcus aureus* e pesquisa de *Salmonella* spp. Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente pelos Softwares JMP® Pro 14.0.0 e PAST v4.02. Dentre as variáveis avaliadas, o tempo de cura foi responsável por diferenças entre o pH, a_w , umidade e luminosidade das chouriças, já os níveis de sal afetaram a umidade, onde foi possível observar que a adição do Sub4Salt® resultou em valores maiores e a alteração dos níveis de sal também influenciou na luminosidade das chouriças. A qualidade microbiológica das chouriças não foi afetada pelo tempo de cura ou pelos tratamentos, no entanto foi possível observar a influência da higiene do processamento. Apesar das diferenças, nenhum dos parâmetros esteve em desacordo com estudos prévios nem ultrapassou a legislação europeia para estes produtos. Os níveis de redução do cloreto de sódio obtidos pela substituição de NaCl por KCl e Sub4Salt® e pela mistura KCl e Sub4Salt® foram de 22,7%, 16% e 9%, respectivamente, apesar disso, não foram observadas alterações relativas à qualidade do produto.

Palavras-chave: KCl, Sub4Salt®, Tradicionais, Enchidos, Portugueses.

Abstract

The reformulation of traditional products embraces the needs of the current consumers, that demand healthy and quality products. The sausage is a traditional product widely consumed in Portugal, in Trás-os-Montes region, the most used for its production is the Bísaro meat. The sodium chloride can modify organoleptic and physical chemical characteristics of food, so it is needed to ascertain the effects caused by its reduction. The aim of the present work was to study the effect of reduction or replacement of NaCl in the physicochemical and microbiological characteristics of traditional Bísaro pork sausages. The NaCl was replaced by: 25% of KCl; or 25% of commercial mix Sub4Salt®; and total replacement of NaCl by 75% of KCl and 25% of comercial mix Sub4Salt®, in two ripening periods 8 and 16 days. The physical chemical analysis performed were pH, a_w , colorimetric properties (CIELab), centesimal and mineral content, and the microbiological were total plate count, molds and yeasts, Salmonella, E. coli and S. aureus. The obtained results were statistically analysed by the Softwares JMP® Pro 14.0.0 e PAST v4.02. The ripening period affected the pH, a_w , moisture and luminosity. Moisture was influenced by the different salt levels formulations and the presence of Sub4Salt® induced higher moisture values. The microbiological quality of the sausages was not affected by the curing process or the salt levels but it was possible to observe the processing hygiene influence. Despite of the differences found, none of the parameters disagreed with previous works and the current legislation. The reduction of Na levels achieved with the substitution of NaCl by KCl and Sub4Salt® were 22,7%, 16% and 8,7%.

Keywords: KCl, Sub4Salt®, Traditional, Portuguese, Sausages.

Sumário

Sumário.....	v
Lista de Figuras	vii
Lista de Tabelas.....	viii
1 Introdução.....	1
2 Revisão bibliográfica.....	3
2.1 Sal e a problemática de seu uso.....	3
2.2 Produtos tradicionais	5
2.2.1 Chouriça de Carne.....	6
2.2.2 Chouriça de Carne de Trás-os-Montes.....	8
2.3 Tendências.....	9
2.3.1 Substituintes para NaCl.....	10
2.4 Segurança e qualidade da chouriça	12
2.4.1 Microbiologia.....	13
3 Materiais e Métodos.....	17
3.1 Elaboração da chouriça	17
3.1.1 Amostragem	19
3.2 Análises físico-químicas.....	21
3.2.1 Atividade de água (a_w)	21
3.2.2 Potencial Hidrogeniônico (pH)	21
3.2.3 Teor de umidade.....	21
3.2.4 Teor de proteína	22
3.2.5 Teor de lipídeos.....	22
3.2.6 Teor de cinzas	23
3.2.7 Teor de cloretos.....	23
3.2.8 Índice de oxidação lipídica (TBARS)	23
3.2.9 Análise Colorimétrica (CIELab)	24
3.2.10 Análise de Minerais.....	24
3.3 Análises Microbiológicas.....	25
3.3.1 Preparação da amostra.....	25
3.3.2 Contagem total de microrganismos mesófilos	25

3.3.3	Contagem de bolores e leveduras.....	26
3.3.4	Contagem de coliformes totais e <i>Escherichia coli</i>	27
3.3.5	Quantificação de esporos de clostrídeos sulfito redutores	27
3.3.6	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	28
3.3.7	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	28
3.4	Análise estatística.....	29
4	Resultados e discussão.....	30
4.1	Análises físico-químicas.....	30
4.1.1	Atividade de água (a_w) e pH.....	30
4.1.2	Composição centesimal.....	32
4.1.3	Cloretos e TBARS	36
4.1.4	Parâmetros colorimétricos (CIELab)	38
4.1.5	Composição Mineral	41
4.2	Análises microbiológicas	46
5	Conclusão.....	51
6	Referências Bibliográficas.....	53

Lista de Figuras

Figura 1 - Fluxograma de produção de enchidos.	7
Figura 2 – Fluxograma de produção das chouriças de carne.....	18
Figura 3 – Processo de produção das chouriças de carne; (a) Carne após trituração; (b) Massa da chouriça após adição e mistura de ingredientes; (c) Enchimento da tripa; (d) Atadura em forma de ferradura; (e) Câmara de cura das chouriças; (f) Chouriças embaladas a vácuo.	19
Figura 4 – Demonstração dos quadrantes utilizados para amostragem.....	20
Figura 5 – Quadrante direito da chouriça embalado a vácuo.	20
Figura 6 – Aeróbios totais em placa de Petri.....	26
Figura 7 – Bolores e leveduras em placa de Petri.....	26
Figura 8 – Coliformes em placa Simplate.	27
Figura 9 – Resultado positivo para ECSF.	28
Figura 10 – Resultado negativo para <i>Salmonella</i>	28
Figura 11 – <i>Staphylococcus</i> em placa de Petri.	29

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Formulações e condições de processamento de produtos de salsicharia de Portugal e Espanha.....	8
Tabela 2 - Tipos de microrganismos presentes nos produtos prontos para consumo.....	14
Tabela 3 - Formulações utilizadas na substituição do NaCl.....	17
Tabela 4 – Atividade de água (a_w) e pH das formulações de chouriça avaliadas.....	31
Tabela 5 – Composição centesimal das formulações de chouriça avaliadas.....	33
Tabela 7 – Parâmetros colorimétricos (CIELab) das formulações das chouriças avaliadas.	39
Tabela 8 – Composição de minerais (/100g) das formulações de chouriça avaliadas.....	43
Tabela 9 – Valores obtidos nas contagens de microrganismos totais a 30°C e de bolores e leveduras.....	47
Tabela 10 – Valores obtidos nas contagens de coliformes totais e <i>E .coli</i>	49
Tabela 11 – Resultados obtidos nas pesquisas de <i>Salmonella</i> , contagem de ECSF e <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	50

Lista de Abreviaturas e Siglas

AMS – Assembleia Mundial de Saúde
a_w – Atividade de água
C₆H₁₁NaO₇ – Gluconato de Sódio
Ca – Mineral Cálcio
CaCl – Cloreto de Cálcio
CE – Conselho Europeu
Cu – Mineral Cobre
DCVs – Doenças cardiovasculares
DOP – Denominação de Origem Protegida
ECSF – Esporos de clostrídeos sulfito redutores
ETG – Especialidade Tradicional Garantida
Fe – Mineral Ferro
g/dia – Gramas por dia
GBD – Global Burden of Disease
IAN-AF – Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física
IGP – Indicação Geográfica Protegida
INSA – Instituto Nacional de Saúde
IPB – Instituto Politécnico de Bragança
K – Mineral Potássio
K⁺ - Íon potássio
KCl – Cloreto de Potássio
MDA – Malonaldeído
MgCl₂ – Cloreto de Magnésio
Mn – Mineral Manganês
Na – Mineral Sódio
Na⁺ - Íon sódio
NaCl – Cloreto de Sódio
NP – Norma Portuguesa
ns – Não significativo

OMS – Organização Mundial da Saúde

P – Mineral Fósforo

pH – Potencial hidrogeniônico

T – Tratamento

TBA – Ácido tiobarbitúrico

Tc – Tempo de cura

TCA – Tabela de composição de alimentos

TxTc – Interação entre tratamento e tempo de cura

UE – União Europeia

UFC/g – Unidades formadoras de colônia por grama

Zn – Mineral Zinco

1 Introdução

Nos anos 90, a Organização Mundial da Saúde (OMS), iniciou a implementação de políticas alimentares nos países europeus. Em 2000 foi publicado o “Livro Branco de Segurança Alimentar” e no mesmo ano, foi desenvolvido o Primeiro Plano de Ação para políticas alimentares e nutricionais. No ano de 2004, a Assembleia Mundial de Saúde (AMS) adotou a “Estratégia Global em Dietética, Atividade Física e Saúde”, proposta que tratava da redução do consumo de sal, e de outros aspectos relacionados com a saudabilidade mundial (WHO, 2016).

A reformulação de alimentos industrializados e o incentivo político associado à este tópico foram citados no Livro Branco de 2007 sobre “Uma estratégia para a Europa em matéria de problemas de saúde ligados à nutrição, ao excesso de peso e à obesidade”, visando reduzir a quantidade de componentes prejudiciais à saúde, quando ingeridos em excesso, como gorduras trans e saturadas, sal e açúcar. Atualmente, encontra-se em vigor a política *Health 2020* da OMS para a comunidade europeia, que identifica uma relação entre o estado da saúde populacional e o desenvolvimento econômico e social dos países (WHO, 2013)

No espectro nacional, o Movimento 2020 da Associação Portuguesa de Dietistas tem foco na saúde alimentar e nos hábitos de vida saudável, e entre suas metas encontra-se a redução do consumo de sal de acordo com o limite de ingestão diária definido pela OMS, a fim de diminuir a incidência e mortalidade por doenças cardiovasculares (DCVs). O movimento também apresenta procedimentos de como atingir a meta estabelecida, avaliando a participação de todos os envolvidos na cadeia, e em relação às indústrias indica a produção de produtos reduzidos em sal reforçando a necessidade da reformulação dos produtos já existentes (Graça, 2013).

Assim sendo, a preocupação generalizada com a alimentação e a saúde tem sido cada vez maior, e os esforços para a redução da utilização do NaCl nas indústrias são principalmente guiados pelo fato do consumidor estar mais atento à essa característica, aumentando a necessidade de alterações na produção. Apesar de igualmente difícil, a redução ou até a substituição do sal em produtos genéricos não encara os mesmos desafios de quando se trata de produtos tradicionais, que possuem uma imagem mais consolidada e com menor espectro de alteração, já que os consumidores valorizam o produto por possuir determinadas características bem reconhecidas e que os diferenciam de outros produtos (Lopes et al., 2015).

Com os avanços tecnológicos, o consumidor torna-se mais exigente em relação às características dos alimentos quanto a questões nutricionais, características organolépticas e à

segurança do produto. Portanto, a proposta de redução do cloreto de sódio em produtos tradicionais pode ser bem aceita, contanto que seja realizada de forma a não alterar as características essenciais do produto.

Neste sentido, o objetivo principal deste trabalho foi estudar o efeito da substituição de NaCl em chouriças de carne tradicionais de Trás-os-Montes (Chouriça de Vinhais IGP).

O desenho experimental do trabalho para este objetivo gerou os seguintes subobjetivos:

- Estudo do efeito da substituição de NaCl, por KCl e Sub4Salt® nas características físico-químicas de chouriças de carne de porco Bísaro;
- Estudo do efeito da substituição de NaCl, por KCl e Sub4Salt® na qualidade microbiológica de chouriças de carne de porco Bísaro.

2 Revisão bibliográfica

Sendo o tema central deste trabalho o estudo dos efeitos da substituição de sal na qualidade de chouriças de carne, a revisão bibliográfica irá incidir fundamentalmente sobre a problemática do uso de cloreto de sódio (NaCl) no processamento de enchidos de carne, e sua substituição preferencialmente por cloreto de potássio (KCl) e pelo mix comercial Sub4Salt®.

2.1 Sal e a problemática de seu uso

O cloreto de sódio, vulgarmente designado por “sal” é amplamente utilizado na indústria alimentar devido às características fornecidas ao produto final, conhecendo-se o seu poder como conservante há milhares de anos e podendo ser considerado como uma das primeiras formas de conservação alimentar (Inguglia et al., 2017). É um composto translúcido, cristalino, em forma de pó, com solubilidade elevada em água, higroscópico, confere um dos gostos básicos ao paladar que é o salgado e apresenta baixa toxicidade (Kilcast e Angus, 2007).

O sal possui papel fundamental nos alimentos, conferindo o gosto salgado, realçando sabores e atuando na prevenção da contaminação microbiológica (Hutton, 2002). O salgado encontra-se entre um dos gostos básicos sendo obtido mediante alguns sais inorgânicos. Sabe-se que os cátions conferem o gosto salgado, e os ânions modificam-no, contudo alguns cátions como o potássio (K^+) produzem gosto salgado e amargo (Horita et al., 2011).

O sal é um componente de alta importância em produtos alimentícios devido tanto às características organolépticas quanto às tecnológicas, favorecendo sua qualidade. Também deve ser levado em consideração que com a amplitude de sua utilização, seu consumo é potencializado, portanto é necessária uma avaliação dos efeitos causados por esse componente à saúde do consumidor (Albuquerque et al., 2018).

O estilo de vida atual, faz com que a maioria das pessoas dediquem menos tempo à preparação caseira de alimentos, fazendo com que o consumo de alimentos processados seja cada vez maior e conseqüentemente uma elevada ingestão de sal (WHO, 2012).

Um estudo realizado por Ruusunen e Puolanne (2005) concluiu que aproximadamente 70% do sal consumido na Europa, América do Norte e Austrália, é proveniente de alimentos processados. O consumo de teores elevados de cloreto de sódio representa riscos para a saúde humana, é conhecido que uma de suas principais conseqüências é o aumento da pressão sanguínea, elevando o risco de ocorrência de DCVs, falha cardíaca e doenças renais (Kotchen, Cowley Jr. e Frohlich, 2013).

A plataforma online *Global Burden of Disease* (GBD) é utilizada para expor dados sobre a saúde mundial em relação a doenças conhecidas sendo avaliadas a taxa de mortalidade, fatores de risco e diversas outras características. No ano de 2017 as DCVs representaram a maior causa de mortalidade mundial, no entanto, ao longo dos anos de 1997 a 2017 a porcentagem de mortes por DCVs na Europa central e oeste tem vindo a diminuir, apesar disso, ainda representam uma porção considerável. No leste europeu nota-se um ligeiro aumento nas mortes, que já se encontram em níveis superiores a 50% das causas de morte (IHME, 2018).

Após estudos e análise dos dados sobre a relação do consumo de sal com a saúde mundial, a OMS definiu o índice de ingestão diária (g/dia) para o Sódio (Na^+) de 2g/dia e para o sal (NaCl) 5g/dia respectivamente (WHO, 2016). De acordo com dados do Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física (IAN-AF) de 2015-2016, o consumo médio de sal em Portugal foi de aproximadamente 7,3g/dia, ultrapassando a ingestão diária indicada pela OMS (Lopes et al., 2017).

A letalidade das DCVs e o aumento da preocupação mundial em relação as suas respectivas causas e aos fatores que podem potencializar seu aparecimento, resultou na criação de metas e propostas para reduzir a quantidade de sódio oferecido e consumido. Entre estas propostas estão: implementar um sistema capaz de avaliar a ingestão e a oferta de sal nos principais gêneros alimentícios, incentivar a redução do consumo de sal pela população, disponibilizar uma rotulagem que destaque o teor de sal dos alimentos. Ao nível da fabricação, incentivar as indústrias a ofertar produtos alimentícios com menor conteúdo de sal a partir do apoio à reformulação dos alimentos e monitorar o envolvimento das indústrias frente a este desafio e as atitudes dos consumidores, de forma a maximizar os resultados da redução de sal (Lopes et al., 2015).

A maior fonte de consumo de sódio é proveniente da utilização do NaCl na confecção de alimentos, tanto de forma caseira, quanto industrial, onde na primeira o controle em relação à sua utilização é encarado de forma mais fácil já que seu consumo, na maioria das vezes, é imediato (WHO, 2012).

A redução de sódio gera alguns problemas nos gêneros alimentícios a base de carne, como excesso de proteólise, fazendo com que ocorra perda de rigidez, também pode haver excesso de componentes de baixo peso molecular como peptídeos e aminoácidos livres causando alterações sensoriais (Toldra, 1998).

A alteração no conteúdo de NaCl também afeta a capacidade das proteínas solúveis para reter água, além de seu poder emulsificante, suas propriedades de se ligar a gorduras e a estabilidade do gel (Totosaus e Perez-Chabela, 2009). Também relacionado ao conteúdo proteico, pode ocorrer a alteração da coloração de produtos cárneos devido a sua interação com a mioglobina que resulta na formação de metamioglobina devido ao poder oxidante do sal (Roça, 2009).

A ação conservante é proveniente da capacidade de absorção de água, causando redução na atividade de água (a_w) dos alimentos e conseqüentemente a atividade microbiana. Além disso, a sua interação com o conteúdo proteico, o sal aumenta a capacidade de retenção de água dos alimentos, resultando na redução da perda de água ao longo do armazenamento e comercialização (Nascimento et al., 2008).

Por possuir estas funções, em produtos cárneos, de elevado conteúdo proteico e em muitos casos feitos por emulsões cárneas, a redução desse componente causa danos à qualidade sensorial e pode afetar a segurança do produto, aumentando a susceptibilidade ao crescimento microbiano.

2.2 Produtos tradicionais

Produtos tradicionais são conhecidos por serem elaborados com a mesma receita, e que não tenham sofrido alteração em suas características e qualidade ao longo dos anos, que são geralmente confeccionados na casa do consumidor ou por produtores locais. A procura por esses produtos específicos tem aumentado ao longo do tempo devido ao crescimento de sua reputação e sua elevada qualidade sensorial (Zanandrea et al., 2018).

Pela grande variedade de produtos tradicionais, estratégias de valorização por meio de certificações foram criadas e são regidas pelo Regulamento (UE) n° 1151/2012, que classificam os produtos com três diferentes categorias: Denominação de Origem Protegida (DOP), onde a origem do produto é em determinada região, neste caso, a qualidade ou características dependem essencial ou exclusivamente de um meio geográfico específico e as fases de produção ocorrem na região; Indicação Geográfica Protegida (IGP), quando o produto tem origem numa determinada região, onde a qualidade, reputação ou outras características dependem essencialmente da origem geográfica e pelo menos uma das fases de produção ocorra na região; Especialidade Tradicional Garantida (ETG), refere-se ao modo de produção, transformação ou à composição que

corresponde a uma prática tradicional, ou seja, produzido a partir de matérias-primas ou ingredientes utilizados tradicionalmente.

Existem vários gêneros de enchidos produzidos em Portugal, que se enquadram como produtos tradicionais, muitos com selo DOP e IGP, sendo os mais conhecidos e consumidos a alheira, chouriça, salpicão e farinheira. Cada enchido possui especificidades de fabrico e regiões de produção que os caracterizam e individualizam, além de que a confecção de produtos tradicionais depende fortemente da microbiota natural das matérias-primas e de suas características específicas (Campelos et al., 2016).

2.2.1 Chouriça de Carne

De acordo com o Regulamento (CE) n° 853/2004, enchidos são produtos à base de carne resultantes de sua transformação, de forma que não apresentem características da carne fresca. Inicialmente foram criados para aumentar a durabilidade da carne, servindo como método de conservação, no entanto, ao longo do tempo de forma a valorizar o produto comercialmente e a demanda por comidas práticas o seu desenvolvimento foi impulsionado (Dias, 2018).

Os enchidos portugueses geralmente tem origem em zonas geográficas específicas, estando associados ao desenvolvimento da região, podendo assumir características de qualidade referentes às raças dos animais, a flora particular, clima e a tecnologia da fabricação (Almeida, 2009). A região de Trás-os-Montes é referida como um território com significante ligação ao ambiente rural que a rodeia, sendo a atividade rural considerada de alta importância para o desenvolvimento da região (Fernandes et al., 2016).

Em Portugal a carne de porco é a mais utilizada para a produção da chouriça, utiliza-se também a gordura de porco picada, pimentão, alho, sal e outros ingredientes, que dependem da receita. Tradicionalmente é feita exclusivamente em tripa natural, mas também é permitida a utilização de tripas artificiais (Mendes, 2013).

De acordo com a Norma Portuguesa n° 589/2008, a chouriça de carne está incluída no grupo de enchidos fumados e/ou curados, de formato variável, constituídos por carne e gordura rija de suíno, adicionados de ingredientes facultativos. Externamente deve ter aspecto avermelhado brilhantes, com coloração e cheiro resultantes do processo de fumagem, sua consistência deve ser firme e o invólucro aderido à massa, sem rachaduras, internamente deve apresentar aspecto marmorizado, pedaços de carne e gordura distribuídos regularmente, de cores avermelhada e branca respectivamente, com cheiro e cores característicos.

O processo de fabricação possui diversas etapas e todas possuem seu papel quanto à qualidade final do produto, sendo uma das principais etapas a seleção de ingredientes que serão utilizados, pois são a diferenciação entre as variedades de enchidos existentes (Gomes, 2017).

Segundo Dias (2018) a produção de enchidos é baseada em dois pontos principais, a estabilização da matéria-prima e o desenvolvimento de sabor. Na primeira, o objetivo principal é a transformação do produto de forma a garantir que este se torne estável em temperatura ambiente e não permita crescimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes. Em relação ao desenvolvimento de sabor, a intenção é aprimorar as características sensoriais resultantes de reações químicas e enzimáticas.

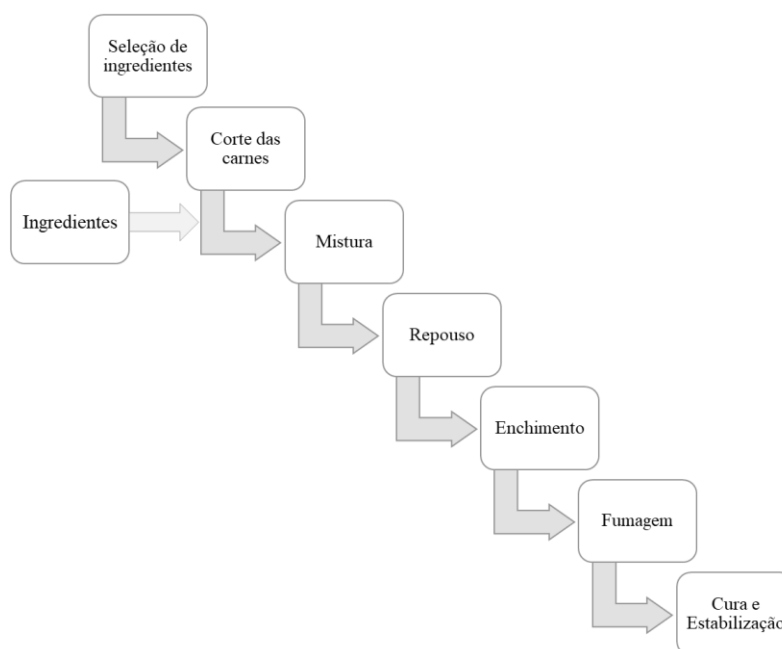


Figura 1 - Fluxograma de produção de enchidos.

(Adaptado de: Teixeira, Rodrigues e Dias, 2020)

A produção da chouriça inicia-se na seleção e pesagem dos ingredientes, que são colocados no misturador para a incorporação e obtenção de uma massa homogênea. Enquanto ocorre este processo, a tripa é hidratada em água por aproximadamente 1 hora. Em seguida, coloca-se a massa e a tripa na enchedora, as chouriças são amarradas em forma de ferradura com um fio de algodão nas extremidades.

Os ingredientes utilizados na produção de enchidos variam de acordo com o produto desejado, resultando em diferentes formulações por região, que se adaptem com o público a que

se destina, com isso é possível obter uma grande variedade de produtos de acordo com sua localização geográfica.

Como exemplo, é possível observar na tabela 1 algumas das diferenças entre os produtos de salsicharia de Portugal e Espanha, que apesar de serem territórios vizinhos, possuem diferentes exigências de mercado. Os parâmetros apresentados são uma aproximação de valores para os ingredientes e algumas das condições de processos que podem ocorrer na fabricação de produtos de salsicharia.

Tabela 1 - Formulações e condições de processamento de produtos de salsicharia de Portugal e Espanha.

(Adaptado de Dias, 2018)

País	Tipo de carne	Formulação					Processamento			
		Ratio Carne / Gordura (%)	NaCl (g/kg)	Nitratos/ Nitritos (g/kg)	Glicídios (g/kg)	Outros Aditivos	Fumagem		Maturação	
							Temp. (°C) / UR (%)	Tempo (Dias)	Temp. (°C) / UR (%)	Tempo (Dias)
Portugal	Porco	60-90 / 40-10	Empírico	0,6	-	Pimentão, vinho e alho	2-21 / 50-90	5 - 45	2-21 / 50-90	5 - 45
Espanha	Porco	75-90 / 25-10	13-23	0-0,5	0-33	Pimenta e vinho	-	-	10-18 / 58-85	15-60

2.2.2 Chouriça de Carne de Trás-os-Montes

A carne mais utilizada para a produção da chouriça de carne é a suína, em Portugal existem duas raças autóctones de suínos, Alentejana e Bísara. Em Trás-os-Montes a raça predominante é a Bísara, que apresenta uma carne magra e de elevada qualidade com certificação DOP.

A chouriça de Vinhais foi o primeiro produto IGP de que se possui informação, com início de sua produção em 1999 de 6 kg de produtos comercializados, em 2007 esse número evoluiu para mais de 23mil kg (Carvalho, 2015b).

De acordo com o Despacho nº 139/1996, a chouriça de carne ou linguiça de Vinhais (IGP) é um enchido de carne e gordura de porco de raça bísara ou de seu cruzamento, envolto em tripa de porco ou vaca, cilíndrica e fumada, condimentada com sal, vinho tinto ou branco, água, alho, colorau e louro.

De acordo com o caderno de especificações, o produto deve possuir no mínimo 20% de proteína bruta, e não ultrapassar os limites máximos de 40% de gordura, 50% de umidade e 6%

de sal. Seu formato característico de ferradura deve-se especificamente a forma de atar, sendo efetuados dois nós nas extremidades da tripa, que é virada e depois é dado um outro nó. Sua coloração varia de vermelha-viva a branca, com várias tonalidades e não apresenta homogeneidade.

Quanto a seus aspectos sensoriais, sua diferenciação é proveniente da união das características da matéria-prima, condições climáticas e o método de produção, no caso, a chouriça de carne de Vinhais, deve ser obrigatoriamente submetida a um mínimo de 35 dias de cura.

Na produção de chouriça, o produto encontra-se suscetível a alterações físico-químicas devido aos processos à que é submetida e a atividade microbiana que ocorre. Os aspectos qualitativos de produtos alimentícios estão atrelados aos ingredientes, ao processo e suas etapas, onde erros ou alterações significam variabilidade no alimento (Campelos et al., 2016).

2.3 Tendências

Inicialmente, o processamento de enchidos era feito de forma artesanal e por meio de técnicas básicas, no entanto a evolução tecnológica e informativa resultou em processos melhorados e foram definidos padrões de qualidade a serem seguidos, que podem ser obtidos pelo cumprimento de boas práticas de fabricação e utilização correta da tecnologia (Gomes, 2018)

A tendência atual objetiva oferecer produtos saudáveis ao consumidor, incluindo os produtos tradicionais, porém a alteração de seus ingredientes pode fazer com que o consumidor veja o produto de forma diferente podendo causar sua desvalorização (Carvalho, 2015a).

O consumidor é fortemente influenciado pela memória afetiva, assim, não há interesse da indústria de possuir alimentos denominados tradicionais que atendam à demanda saudável, mas que não agradem o consumidor da mesma forma. Estudos focando aumento da saudabilidade em gêneros alimentícios já vem sendo realizados de forma ampla, pela alteração do teor de gorduras, açúcares e sal, logo também se vê necessária a pesquisa do comportamento de alimentos certificados.

A certificação de alimentos fornece uma demonstração de qualidade consolidada entre os consumidores, que além de visualizar o alimento como de alta qualidade, também o diferencia dos outros.

Os produtos cárneos principalmente os enchidos são vistos como produtos com alto teor de sal, que além de conferir características organolépticas específicas, também possui funções tecnológicas, portanto a avaliação da redução desse componente deve ser realizada de forma cuidadosa (António, 2014).

Devido as características específicas como produto e as diferentes formulações utilizadas, o sal é um constituinte que possui elevada variabilidade, indicando a possibilidade da alteração de seu conteúdo sem perda de qualidade e descaracterização (Pretorius e Schönfeldt, 2018).

2.3.1 Substituintes para NaCl

O Cloreto de Potássio (KCl) foi um dos primeiros compostos estudados e é o mais comumente utilizado para atuar como substituinte do sal, por possuir propriedades iônicas semelhantes (Lilic et al., 2015).

Para produtos cárneos, Vidal et al. (2019) observaram que a utilização de 50% NaCl e KCl em conjunto apresentam resultados similares para as características físico-químicas dos produtos com apenas NaCl. Em salsichas secas e fermentadas, Santos et al. (2017) obtiveram resultados que indicaram que a substituição de 50% do NaCl por KCl, pode ser uma alternativa para reduzir o conteúdo de sal nesses produtos. Kim et al. (2018) em salsichas de porco com o mesmo nível de substituição não verificaram alteração das características físico-químicas.

Freitas et al. (2017) também não observaram alterações nas características físico-químicas de hambúrgueres ao realizar a substituição de 70% do NaCl por KCl, entretanto as propriedades sensoriais foram negativamente afetadas, apenas foi possível a obtenção de características sensoriais aceitáveis a partir da utilização de outros sais que reduziram os defeitos sensoriais causados.

Quanto à segurança, a atividade contra agentes microbianos é mantida, como observado por Bidlas e Lambert (2008) contudo, em níveis elevados de substituição acaba por conferir sabor metálico, alterando as características sensoriais (Aliño et al., 2010; Horita et al., 2014).

Em contrapartida, Gou et al. (1996) avaliaram os efeitos da substituição de NaCl por KCl em salsichas fermentadas verificaram que ao nível de 30% o amargor foi notado pelos provadores e a 40% a percepção deste sabor foi considerada desagradável. Em relação a sais de cura utilizados na produção de salame italiano, Zanardi et al. (2010), não observaram diferenças significativas em substituições de até 50% por KCl.

Além da barreira sensorial diante da substituição em altos níveis, alguns estudos indicam que o consumo de potássio em concentrações elevadas pode oferecer riscos à saúde, visto que este já foi associado ao agravamento de casos de diabetes tipo I, doenças renais e insuficiência renal crônica (FSAI, 2016).

Outra das alternativas encontradas para a redução foi o desenvolvimento de misturas que possam proporcionar características semelhantes e atuar como o sal, podendo realizar sua substituição parcial e até total em alguns casos.

As misturas agem em diversos âmbitos e de formas diferentes, visando melhorar os aspectos sensoriais e manter a segurança de gêneros alimentícios com conteúdo reduzido de sal. Segundo Desmond (2006), em produtos como salsichas e outros chamados reestruturados, as funções estruturais puderam ser atingidas com outros componentes, como fosfatos e até amidos e gomas.

Os tipos de mistura, também chamados de mix comerciais, possuem níveis diferentes de redução de sódio, além de possuírem características que variam de acordo com a necessidade e composição gênero alimentício, enquanto uns são genéricos, outros podem ser específicos para determinado produto ou função desejada (Raab, 2017).

Os mix comerciais podem ser nomeados como redutores, substitutos e melhoradores de sabor. O Sub4Salt® é um mix de sais da companhia sueca Jungbunzlauer, composto por Gluconato de Sódio ($C_6H_{11}NaO_7$), Cloreto de Sódio (NaCl) e Cloreto de Potássio (KCl), em que comercialmente, sua alegação é da redução de níveis até 50% do sódio, porém o nível de substituição depende diretamente do produto. Seu espectro de utilização é vasto, podendo ser aplicado na área de panificação, laticínios, snacks, produtos cárneos e peixes (Jungbunzlauer, 2016).

Ao substituir 40% do NaCl por Sub4Salt® na salmoura para queijo prato, Costa et al. (2018) não encontraram diferenças significativas quanto às características físico-químicas, nem em relação à aceitação do produto com teor reduzido de NaCl.

Hoffmann et al. (2020) analisaram o efeito da redução de NaCl na salmoura para queijo Edam. Em seus resultados não foram encontradas diferenças significativas entre o controle e o tratamento com a substituição pelo Sub4Salt®, porém ressaltou a importância de mais estudos em relação aos off-flavors presentes no produto final.

Na avaliação da estabilidade microbiológica de pão, Samapundo et al. (2010) realizaram a substituição de 30% do NaCl por uma mistura de KCl e Sub4Salt®, e não observaram diferenças significativas na atividade fúngica em relação ao controle.

2.4 Segurança e qualidade da chouriça

O crescimento microbiano depende essencialmente das características do ambiente em que este se encontra e de suas necessidades nutricionais. Em geral, os alimentos constituem um meio de cultura propício para o desenvolvimento de microrganismos. Os problemas causados pelo crescimento microbiano podem ser de dois tipos, um em que o alimento sofre deterioração e o outro que pode representar risco à saúde do consumidor (Ferreira e Sousa, 2010).

O valor reduzido da atividade de água (a_w) e do pH em chouriças fermentadas faz com que sejam considerados produtos mais seguros, já que normalmente os produtos cárneos são altamente susceptíveis a contaminação microbiana, em sua maioria por possuírem alta a_w e grande quantidade de nutrientes disponíveis.

A a_w de um alimento corresponde a quantidade de água disponível para que ocorram reações químicas e para o crescimento microbiano, portanto deve ser visto como um parâmetro fundamental para o controle da estabilidade de alimentos (Maneffa et al., 2017). Este parâmetro é definido em valores que variam de 0 a 1, onde alimentos que possuem a_w mais baixas são considerados mais estáveis. Silva e Couto (2003) classificaram os alimentos em três diferentes níveis de acordo com sua a_w são eles alimento com: umidade elevada ($a_w > 1$); umidade intermédia ($0,6 < a_w < 0,9$) e umidade reduzida ($a_w < 0,6$). Apesar de sua importância, não é a única característica que funciona como regulador do crescimento microbiano, também devem ser avaliados o pH, temperatura e presença ou ausência de solutos.

O potencial hidrogeniônico (pH) é um parâmetro utilizado para definir a acidez dos alimentos, sua escala varia de 1 a 14, onde 1 representa a maior acidez e 14, maior basicidade. O desenvolvimento microbiano é afetado pelo pH do alimento, pois meios mais ácidos causam ruptura da membrana celular.

A presença de solutos interfere diretamente na a_w e pH em carne de porco moída, causando a redução de ambos parâmetros sendo resultante de uma relação inversamente proporcional (Charmpi et al. 2020). O NaCl face ao KCl apresenta similaridade molecular, fazendo com que suas interações e alterações também sejam similares (Desmond e Vasilopoulos, 2019).

A a_w e o pH, podem determinar a estabilidade dos alimentos, pois representam barreiras para o crescimento microbiano, em conjunto com a temperatura e armazenamento adequados, sendo possível garantir a segurança dos gêneros alimentícios.

A composição centesimal das chouriças de carne de porco representa um conjunto de parâmetros que definem a qualidade do produto. No geral há uma grande variação devido aos diferentes ingredientes utilizados, de fato em Portugal as diferentes raças autóctones e diferentes tipos de alimentação e criação resultam em carnes com propriedades sensoriais e físico-químicas específicas (Marcos et al., 2016).

Os processamentos aplicados nas chouriças também influenciam consideravelmente a composição final do produto, podendo alterar seus teores de umidade, cinzas, proteínas, o índice de oxidação e seus parâmetros colorimétricos, além também causarem alterações na a_w e pH dos produtos podendo afetar sua segurança (Laranjo et al., 2015).

Na carne fresca de porco Bísaro, os teores médios de umidade, proteína, lipídeos e minerais são de 73,83%, 21,23%, 44% e 2,1% respectivamente, e a produção das chouriças altera esses valores de forma a aumentá-los ou reduzi-los de acordo com o processamento ao qual são submetidas (Leite et al., 2015). A alteração do conteúdo de sal e utilização de substituintes também são responsáveis por causar alterações nessas características.

Em seu estudo Aaslyng, Vestergaard e Koch (2014), caracterizaram produtos cárneos e para salsichas e salami os valores médios para o conteúdo de sal foi de 2,19% e 4,06%, e a redução de sal máxima encontrada foi de 1,23% e 2,20% respectivamente, no entanto em relação a estes produtos houve um aumento da umidade e do pH quando comparados aos comuns.

Em produtos cárneos que passam por fermentação, o teor de sal, pH e temperatura de processamento são parâmetros significantes para sua qualidade final, pelo que a redução do NaCl deve considerar a umidade e a_w resultantes, a fim de não alterar a segurança microbiológica do produto (Ruusunen e Puolanne, 2005).

2.4.1 Microbiologia

O controle microbiológico deve ser realizado a fim de validar a segurança do processo de produção e a estabilidade do produto ao longo de sua vida de prateleira, já que indica as condições higiênicas de todo o processo, desde a matéria-prima até ao consumidor final (da quinta até o prato), analisando microrganismos patogênicos e deteriorantes.

Na tabela 2 estão sumariados os tipos de microrganismos que podem ser encontrados em alimentos e que são comumente avaliados em produtos cárneos.

Tabela 2 - Tipos de microrganismos presentes nos produtos prontos para consumo.

(Adaptado de Gomes, 2018).

Tipo de microrganismo	Função	Agente
Totais a 30°C	Microrganismos com indicação da qualidade dos alimentos	Colônias aeróbias
Patogênicos	Microrganismos capazes de provocar doenças de origem alimentar	<i>Salmonella spp.</i>
		<i>Escherichia coli</i> (cepas patogênicas)
		<i>Staphylococcus aureus</i>
		<i>Clostridium perfringes</i>
Indicadores	Microrganismos que indicam qualidade higiênica durante o processamento	<i>Escherichia coli</i> (cepas não patogênicas)

Os produtos cárneos constituem um excelente meio de cultura para microrganismos, e a presença ou ausência de sais afeta a a_w destes produtos, podendo interferir em sua estabilidade o que ressalta a importância das análises microbiológicas nesse gênero alimentício (Lorenzo et al., 2015).

Em relação a substituição parcial de NaCl por outros sais, Blesa et al. (2008) não verificaram alterações quanto à estabilidade microbiológica em presunto curado, o mesmo ocorreu nos estudos de Aliño et al. (2010) para lombo curado, e de Gimeno, Astiasarán e Bello (2001) em salsichas fermentadas.

2.4.1.1 Contagem de microrganismos totais a 30°C

A contagem de microrganismos totais a 30°C fornece informações sobre o total de microrganismos aeróbios ou anaeróbios facultativos que podem conter em um alimento. Por não ser um teste com grande especificidade, não pode ser utilizado como indicador da presença de patógenos ou de toxinas. Alimentos que apresentam uma contagem elevada, com exceção de produtos fermentados, demonstram falhas na higiene do processo produtivo ou utilização de matérias-primas já contaminadas (Gomes, 2018).

2.4.1.2 Bolores e Leveduras

Os bolores e leveduras são fungos que possuem capacidade de deterioração de alimentos, porém também podem contribuir em processos industriais em que é realizada a fermentação. Por estarem amplamente dispostos no ambiente, são facilmente encontrados em gêneros alimentícios onde o crescimento bacteriano é limitado por algum fator extrínseco ou intrínseco (Feitosa, 1999).

A resistência de bolores e leveduras a temperaturas baixas representa um problema na conservação de produtos cárneos, quando ocorre contaminação após processamento térmico, seu crescimento pode alterar as características organolépticas, o aspecto e reduzir sua vida de prateleira, além de poder causar contaminação por micotoxinas. Os gêneros mais encontrados em produtos cárneos são *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e *Fusarium* spp (Alcantara et al, 2012).

2.4.1.3 *Salmonella* spp.

Salmonella é conhecida por ser um dos principais patógenos provenientes de gêneros alimentícios. De fato, os produtos cárneos são um veículo importante de transmissão da salmonelose, já que estão muito susceptíveis a contaminação cruzada durante todo seu processo produtivo. O controle desse patógeno é difícil devido sua capacidade de desenvolvimento em baixas temperaturas e pelo fato de a dose letal ser relativamente baixa (Cachaldora et al., 2013).

Além da necessidade de boas práticas de higiene e fabricação, as medidas de controle englobam um processamento térmico acima de 63°C e manutenção da temperatura abaixo de 7°C no processo produtivo e distribuição (Mendes, 2013).

2.4.1.4 *Escherichia coli* O157:H7

Escherichia coli é uma enterobactéria encontrada naturalmente no intestino do ser humano e de animais, sua presença também pode ser observada em outros ambientes, como o solo. O crescimento do microrganismo é afetado por condições adversas, porém sua sobrevivência ainda é possível em alimentos com baixa a_w e alta concentração de sal (Clavero e Beuchat, 1996).

Em alimentos, a presença de *E. coli* reflete a falta de higiene do manipulador e a más práticas de fabricação, portanto é visto como um ótimo indicador de higiene nos alimentos, podendo também servir como indicador da presença de microrganismos patogênicos.

Geralmente *E. coli* não apresenta risco ao ser humano, porém algumas estirpes são conhecidas por produzir toxinas, podendo causar desenterias graves, dependendo do estado de

saúde do hospedeiro, particularmente *E. coli* O157:H7, também conhecida como enterohemorrágica (EHEC). Os alimentos mais associados à sua presença são leite cru, vegetais, carne e principalmente em produtos cárneos, todas as etapas da produção devem ser consideradas para o controle efetivo da *E. coli* (Holck et al. 2011).

2.4.1.5 Staphylococcus coagulase positiva

Staphylococcus aureus são bactérias com origem na matéria-prima ou no manipulador. Estas bactérias coagulase positiva são capazes de produzir uma enterotoxina termoresistente. Seu crescimento em alimentos ocorre em temperatura ambiente, o que geralmente indica contaminação após tratamento térmico, devido à falta de boas práticas de fabricação, principalmente o controle ineficiente das condições de fermentação e armazenagem (Cachaldora et al., 2013).

O crescimento de *S. aureus* e a produção de sua toxina pode ocorrer em um grande espectro de pH, a_w , concentração de sal e temperatura, o excesso de manipulação em produtos cárneos faz com que a intoxicação por *Staphylococcus* esteja diretamente associada ao seu consumo.

2.4.1.6 Clostrídeos sulfito redutores

Frequentemente encontrados no solo, plantas e intestino, são bactérias anaeróbias ou microaerófilas e produtoras de esporos, as espécies mais encontradas em gêneros alimentícios são a *Clostridium botulinum* e *Clostridium perfringens*. A capacidade de sobrevivência em ambientes adversos e de resistir a tratamentos térmicos ocorre devido sua capacidade de esporulação, fazendo com que seja necessário impor mais barreiras para seu crescimento em alimentos.

Estudos indicam que em ambientes com alta concentração de sal, os esporos de *C. perfringens* continuam viáveis, mesmo após um longo período de armazenamento, e o processamento térmico e o aumento da atividade de água foram capazes de incentivar a germinação dos esporos em células viáveis, aumentando o risco para o consumidor final (Wijnker et al., 2011).

A eliminação do microrganismo pode ser efetuada a temperaturas acima de 60°C, porém os esporos podem permanecer em temperaturas mais elevadas e por maior tempo, sendo inviável sua eliminação por processos industriais, fazendo com que seu controle seja mais eficiente pela prevenção (Roberts, Tompkin e Baird-Parker, 1996).

3 Materiais e Métodos

Os tópicos a seguir referem-se aos materiais e metodologias utilizados para a produção e análises físico-químicas e microbiológicas das chouriças de carne de porco Bísaro, a fim de demonstrar a conformidade das análises com as normas aplicáveis a produtos de origem animal.

3.1 Elaboração da chouriça

A chouriça foi produzida no Laboratório de Qualidade da Carcaça e Carne no Instituto Politécnico de Bragança. A carne utilizada foi a de porco Bísaro fornecida pela Empresa Bísaro Salsicharia Tradicional (Gimonde, Bragança) e o Sub4Salt® foi doado pela empresa Jungbunzlauer, o restante dos ingredientes foram adquiridos pelo Instituto Politécnico de Bragança. A formulação controle foi fornecida por empresa local e as formulações utilizadas para estudo diferenciam-se por alteração da porcentagem dos sais NaCl, KCl e do mix comercial utilizado, como é possível observar na tabela 3.

Tabela 3 - Formulações utilizadas na substituição do NaCl.

Ingredientes	Formulação			
	Controle	NaCl + KCl	KCl + Sub4Salt®	NaCl + Sub4Salt®
Carne	92,60%	92,60%	92,60%	92,60%
Condimentos	3,40%	3,40%	3,40%	3,40%
H2O	2%	2%	2%	2%
NaCl	2%	1,50%	-	1,50%
KCl	-	0,50%	1,50%	-
Sub4Salt®	-	-	0,50%	0,50%

Na figura 2 está representado o fluxograma de produção da chouriça.

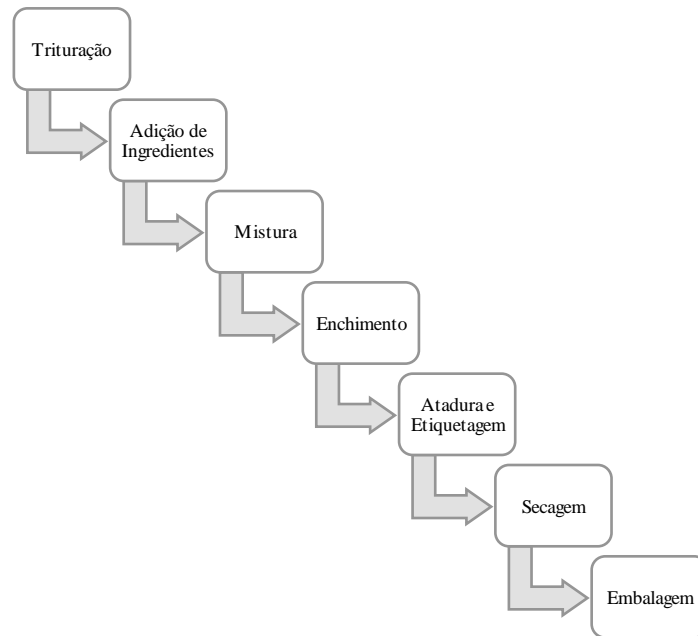


Figura 2 – Fluxograma de produção das chouriças de carne.

Verifica-se que inicialmente a carne foi triturada (fig.3a), posteriormente foram adicionados os ingredientes e feita a mistura por 2min (fig.3b), para tal utilizou-se a amassadeira de carne RM-20, até que a massa estivesse homogênea. Posteriormente a massa foi colocada na Embutidora Hidráulica vertical IS V15 IDRA VER e cheia em tripa natural (fig.3c).

Após o enchimento das chouriças, atadura e etiquetagem (fig.3d), foi realizado o processo de estabilização colocando as chouriças durante 24h em temperatura inferior a 5°C. A secagem (fig.3e) foi feita ao longo de 8 ou 16 dias, a uma temperatura inicial foi de 6°C e final de 12° e a uma umidade inicial de 80% e final de 70%. As chouriças que passaram por 8 dias de cura foram denominadas como frescas, as que passaram por 16 dias foram denominadas secas. Após a conclusão do processo, as chouriças foram embaladas a vácuo e etiquetadas para posterior análise (fig.3f).



Figura 3 – Processo de produção das chouriças de carne; (a) Carne após trituração; (b) Massa da chouriça após adição e mistura de ingredientes; (c) Enchimento da tripa; (d) Atadura em forma de ferradura; (e) Câmara de cura das chouriças; (f) Chouriças embaladas a vácuo.

Fonte: Laboratório de Tecnologia e Qualidade da Carça e Carne.

3.1.1 Amostragem

A chouriça tradicional possui sua estrutura em forma de ferradura, portanto é possível encontrar diferentes características em um mesmo produto dependendo da localização da amostra que for utilizada para a realização das análises. Para obter resultados mais representativos das características do produto como um todo, realizou-se a divisão de cada produto em três quadrantes, esquerdo, direito e central, como apresentado na figura 4.

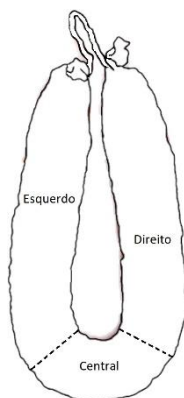


Figura 4 – Demonstração dos quadrantes utilizados para amostragem.

As análises foram feitas com a amostra de cada quadrante triturada e homogeneizada, com exceção da determinação do pH, que foi feita com a chouriça inteira, com a mesma divisão em quadrantes. Após a retirada de amostra necessária para as análises físico-químicas, as chouriças foram embaladas a vácuo e identificadas como é possível observar na figura 5, a fim de manter as características originais do produto.

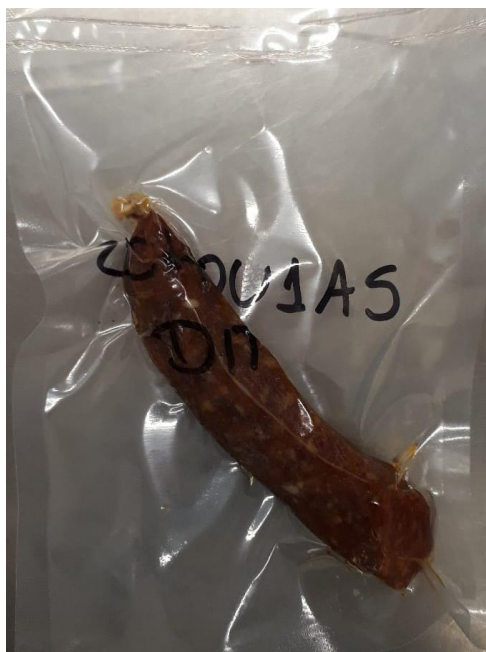


Figura 5 – Quadrante direito da chouriça embalado a vácuo.

3.2 Análises físico-químicas

3.2.1 Atividade de água (a_w)

A atividade de água foi determinada pela utilização do hidrômetro RotronicHYGROPal^m. A primeira medição foi realizada 24h e a segunda 48h após o processo de cura das chouriças (10° dia após a produção). A medição foi realizada nos quadrantes esquerdo, direito e central de cada amostra.

3.2.2 Potencial Hidrogeniônico (pH)

Para a aferição do pH, foi utilizado o pHmetro portátil de carnes (HI99163; HANNA Instruments). Inicialmente, o equipamento foi calibrado utilizando as soluções tampão de pH 4,0 e pH 7,0, respectivamente. Após a finalização da calibração, a medição foi realizada pela inserção do eletrodo na chouriça, de forma a obterem-se os valores referentes aos quadrantes esquerdo, direito e central. Durante as medições também foi avaliada a temperatura da amostra de chouriça. Água destilada foi utilizada para a limpeza do eletrodo entre as medições de cada quadrante.

3.2.3 Teor de umidade

A determinação do teor de umidade foi realizada de acordo com a NP 1614 (2002). A amostra passou por um processo de secagem a $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ (Vulcan3550, Trade RaypaDryingOven). Foram pesados 3g de amostra em um cadinho de porcelana, previamente seco por 1h e arrefecido a temperatura ambiente em um dessecador, adicionou-se 5 ml de etanol (96%), colocou-se na placa de aquecimento (Jouan, PRINCESS) até evaporação do etanol e posteriormente foi levado à estufa durante um período de 24h. Após esse período os cadinhos arrefeceram por 30 min em dessecador e foram pesados. A análise foi realizada em triplicata para cada amostra. O resultado obtém se em porcentagem de umidade pela Eq. (1).

$$\text{Umidade \%} = \left(\frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \right) * 100 \quad (1)$$

Onde:

m_0 é a massa do cadinho vazio expressa em gramas;

m_1 é a massa do cadinho e a toma para análise antes da secagem, expressa em gramas;
 m_2 é a massa do cadinho e a toma para análise depois da secagem, expressa em gramas.

3.2.4 Teor de proteína

O teor de proteína foi obtido de acordo com a NP 1612 (2006) pelo método Kjeldahl, sendo a determinação feita pela digestão da amostra. O equipamento utilizado para esta determinação foi o digestor BUCHI Digest System K-437 e o destilador BUCHI AutoKjeldahl Unit K-370. Aproximadamente 2g de amostra foram transferidas para o tubo do destilador, adicionou-se duas pastilhas do catalisador Kjeldahl, uma microespátula de ácido esteóico e 20 ml de ácido sulfúrico (95%). Após a libertação da amônia pela destilação da amostra, efetuou-se a titulação do destilado por ácido clorídrico ou ácido sulfúrico, o valor da porcentagem de proteína bruta foi calculado e fornecido diretamente pelo equipamento pela aplicação da fórmula.

$$\text{Proteína \%} = N * 6,25 \quad (2)$$

Onde:

N é o valor de azoto mineral total da amostra.

3.2.5 Teor de lipídeos

O teor de lipídeos total foi determinado pelo método de Folch (1957) modificado. Em 10g da amostra triturada foram adicionados 50mL de clorofórmio-metanol (2:1), após homogeneização, o conteúdo foi transferido para tubos de Falcon, ao qual foram adicionados 20mL de água. Em seguida os tubos foram levados a centrífuga (Universal 32R, Hettich) a 4500rpm por 3min, após a retirada do sobrenadante, foi adicionado ao tubo 1g de sulfato de sódio anidro. O conteúdo do tubo foi transferido para um balão em forma de pera e colocado em evaporador a 55°C.

$$\text{Lipídeos \%} = \left(\frac{m_1}{m_0} \right) * 100 \quad (3)$$

Onde:

m_1 é a massa de lipídeos extraídos expressa em gramas;

m_0 é a massa inicial da amostra expressa em gramas.

3.2.6 Teor de cinzas

Determinou-se o teor de cinzas de acordo com a NP 1615 (2002), que indica que a amostra deve passar pelos processos de secagem, carbonização e incineração a $550^\circ\text{C} \pm 25^\circ\text{C}$. Cerca de 3g de amostra foram pesados em um cadinho de porcelana, previamente seco por 1h e arrefecido a temperatura ambiente em um dessecador, adicionou-se 1ml de acetato de magnésio, e levou-se a placa de aquecimento (Jouan, PRINCESS) até sua carbonização, posteriormente o cadinho foi levado para a mufla (Ney VULCAN 3-550) durante o período mínimo de 6h, até a temperatura atingir 550°C para a realização da incineração. Após 24h, os cadinhos foram resfriados por 30 min com auxílio de um dessecador e foram pesados. A análise foi realizada em triplicata. Os resultados são expressos em porcentagem pela Eq. (4).

$$\text{Cinzas \%} = \left(\frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \right) * 100 \quad (4)$$

Onde:

m_0 é a massa do cadinho vazio expressa em gramas;

m_1 é a massa do cadinho e amostra, expressa em gramas;

m_2 é a massa do cadinho e a cinza, expressa em gramas.

3.2.7 Teor de cloretos

A determinação do teor de cloretos foi feita de acordo com a NP 1845 (1982), utilizou-se o equipamento Metrohm 848 Titrino Plus, que realiza a determinação da porcentagem de cloretos pelo método de titulação com nitrato de prata (AgNO_3).

3.2.8 Índice de oxidação lipídica (TBARS)

O índice de oxidação lipídica foi obtido pela extração do aldeído malônico pela mistura de ácido tricloroacético, galato de propilo e EDTA, de acordo com a NP 3356 (2009). Quando em contato com o ácido tiobarbitúrico (TBA) o aldeído malônico forma um complexo rosado, posteriormente realizou-se a medição da absorbância num espectrofotômetro (Thermo Scientific

Genesys 10s UV-Vis), a um comprimento de onda a 532nm, o valor obtido foi comparado com o ensaio branco.

$$TBA = \left(\frac{72 * c}{m * v} \right) * \left(30 + \frac{m * H}{100} \right) \quad (5)$$

Onde:

c é a concentração do aldeídomalônico expressa em micromoles;

v é o volume do extrato expresso em mililitros;

H é a umidade da amostra expressa em porcentagem;

m é a massa da toma do ensaio expressa em gramas.

3.2.9 Análise Colorimétrica (CIELab)

A cor instrumental foi determinada pelo sistema CIELAB com um colorímetro portátil (LOVIBOND RT Series), através dos parâmetros L (luminosidade), a* (espectro visual do vermelho-verde) e b* (espectro visual do amarelo-azul). Posicionou-se o equipamento sobre a peça e registou-se os valores dos parâmetros, o procedimento foi realizado em triplicata para cada quadrante pré-definido. A partir dos parâmetros a* e b*, calculou-se o tom (Hue) e o croma (Chroma).

Para calcular o tom (H*) utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\text{Hue} = \tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \text{ de } 0 \text{ a } 360 \text{ graus}; \quad (6)$$

E para calcular o croma (C*) utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\text{Chroma} = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (7)$$

3.2.10 Análise de Minerais

A análise de minerais foi realizada de acordo com Lorenzo et al. (2015), onde após a incineração das amostras a 450°C por 12h, as cinzas foram dissolvidas em 10mL de HNO₃ (1M). A quantificação dos minerais foi realizada por espectrofotometria de emissão ótica por plasma

indutivamente acoplado (ICP-OES), pelo uso do espectrofotômetro de emissão plasmática Thermo-Fisher (ICAP 6000) equipado com fonte de radiofrequência de 27.12MHz, uma bomba peristáltica, câmara pulverizadora e um nebulizador concêntrico. O controle do sistema foi feito pelo software ICP com o uso de 99,996% de gás plasma de argônio líquido.

3.3 Análises Microbiológicas

3.3.1 Preparação da amostra

Em câmara estéril, as chouriças foram cortadas com um bisturi e trituradas, posteriormente foram pesados 10g da amostra triturada e transferida para frascos com 90 ml de água peptonada e homogeneizadas. Para as diluições seriadas, 1 mL da primeira diluição foi transferido para um tubo de Falcon com 9 mL de água peptonada e este processo foi repetido até a obtenção da diluição 10^{-7} .

3.3.2 Contagem total de microrganismos mesófilos

A contagem das bactérias aeróbias mesófilas foi realizada em placas de Petri com meio Plate Count Agar (PCA - DIFCO) fundido. As placas foram inoculadas, por incorporação, com 1mL das diluições 10^{-5} , 10^{-6} e 10^{-7} das amostras de chouriça. A incubação foi feita em estufa a 30°C durante 72h, em seguida realizou-se a contagem das colônias e posteriormente foi feita a média das diluições para cada amostra, a contagem total foi obtida a partir da utilização da Eq. (9). Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônia por grama (UFC/g).

$$UFC/g = \frac{\sum c}{V} * (n_1 + 0,1n_2) * d \quad (8)$$

Onde:

$\sum c$ é a soma das colônias em todas as placas contadas;

V é o volume de inóculo semeado em cada placa;

n_1 é o número de placas da primeira diluição contada;

n_2 é o número de placas da segunda diluição contada;

d é a diluição a partir da qual foram obtidas as primeiras contagens.



Figura 6 – Aeróbios totais em placa de Petri.

3.3.3 Contagem de bolores e leveduras

A contagem de bolores e leveduras foi realizada em placas de Petri com meio Rosa de Bengala (VWR Chemicals), fundido e resfriado. Foram inoculados 0,1 mL das diluições 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} por espalhamento em superfície, utilizando um espalhador de vidro esterilizado. As placas foram incubadas em estufa a 25°C por 5 dias, em seguida realizou-se a contagem das colônias observadas na figura 7 e posteriormente foi feita a média das diluições para cada amostra e a contagem total foi obtida a partir da utilização da Eq. (8). Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônia por grama (UFC/g).

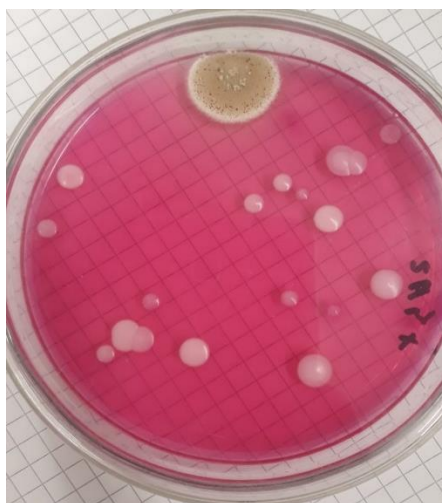


Figura 7 – Bolores e leveduras em placa de Petri.

3.3.4 Contagem de coliformes totais e *Escherichia coli*

A contagem de coliformes e *Escherichia coli* foi feita pela utilização do kit Simplate (Merk). Inicialmente o meio Simplate foi hidratado com água estéril e em seguida adicionou-se 1 ml de amostra da diluição 10^{-1} , em cada 9 mL de meio por placa de contagem. As amostras foram inoculadas na placa de contagem, o excesso de líquido foi retirado pela absorção em algodão, posteriormente as placas foram incubadas em estufa a 37°C por 24h. Consideram-se positivos os poços que mudaram de cor e a presença de *E.coli* foi identificada pela fluorescência após exposição das placas a luz UV com comprimento de onda de 365nm. Os resultados expressam-se em unidades formadoras de colônias por grama (UFC/g).

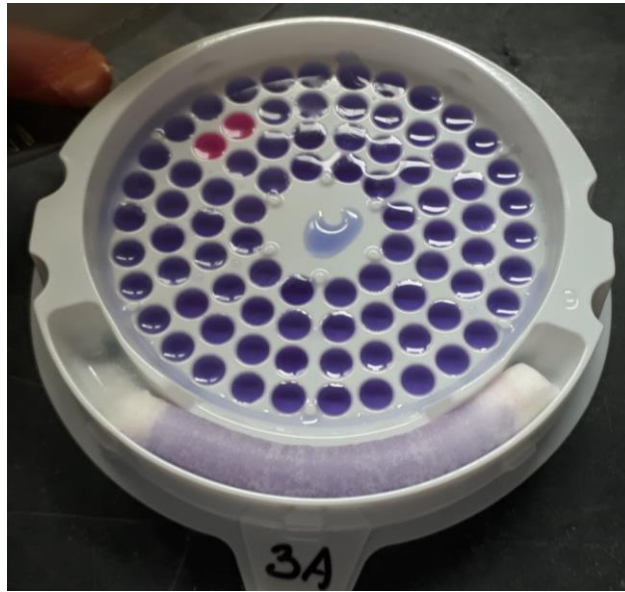


Figura 8 – Coliformes em placa Simplate.

3.3.5 Quantificação de esporos de clostrídeos sulfito redutores

Para determinar os esporos de clostrídeos sulfito redutores (ECSF), colocaram-se 0,1 ml, 1 ml, 5 ml e 10 ml da amostra em tubos de vidro que foram posteriormente introduzidos em banho-maria a 80°C durante 10 minutos para inativar a amostra. Em seguida foi adicionado meio específico para a clostrídeos sulfito redutores ainda quente, aguardou-se sua solidificação e foi colocado Ágar (Fisher Bioreagents) a fim de garantir a anaerobiose do sistema. Os tubos foram incubados em estufa a 37°C durante 5 dias. Foram considerados positivos os tubos em que foi observado o crescimento de colônias pretas.

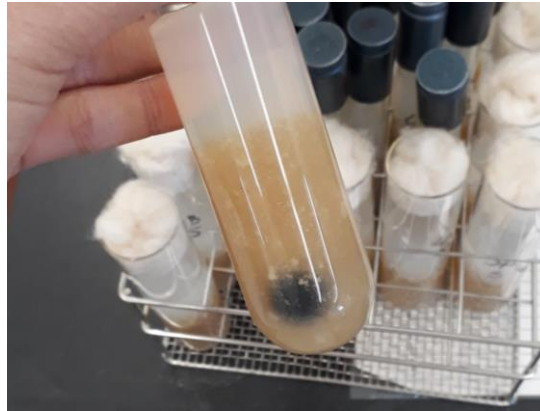


Figura 9 – Resultado positivo para ECSF.

3.3.6 Pesquisa de *Salmonella*

Para efetuar a pesquisa de *Salmonella* spp. utilizou-se o 1-2 Test® (Merk). A realização do teste iniciou-se virando o Kit 1-2 Test® (Merk) com a tampa preta para cima, colocou-se uma gota do Reagente #1 e homogeneizou-se, depois adicionou-se 0,1mL da diluição 10^{-1} e retirou-se a tampa do plug da câmara usando uma pinça estéril. Em seguida, posicionou-se o 1-2 Test® com a tampa branca para cima, removeu-a e colocou-se uma gota do Reagente #2, cortou-se o interior da tampa com um bisturi esterilizado com o auxílio de uma pinça. A incubação foi feita em estufa a 37°C por 24h e os resultados positivos foram identificados pelo aparecimento de um halo esbranquiçado na câmara de mobilidade.



Figura 10 – Resultado negativo para *Salmonella*.

3.3.7 *Staphylococcus coagulase positiva*

A quantificação de *Staphylococcus aureus* foi efetuada em placas de Petri com Meio Baird Parker (VWR Chemicals), enriquecido com gema de ovo. As placas foram inoculadas por

espalhamento com 0,1 ml das diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} das amostras. As culturas foram incubadas em estufa a 37°C durante 48h. Para a pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva, retirou-se uma porção de cada uma das colônias selecionadas e semeou-se em tubos com BHI (Brain Heart Infusion; Liofilchem), que foram incubados a 37°C durante 24h. Juntou-se assepticamente 0,1 ml de cada caldo a 0,3 ml de plasma de coelho em tubos esterilizados e incubou-se a 37°C . Examinou-se a coagulação do plasma após 4 a 6h. Os resultados são expressos como ausência ou presença de *Staphylococcus* coagulase positiva.

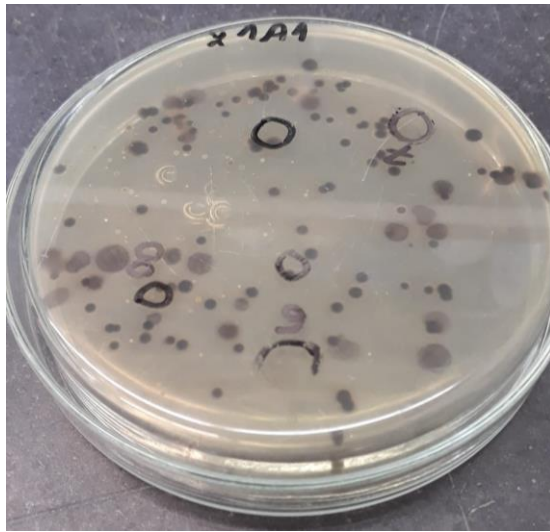


Figura 11 – *Staphylococcus* em placa de Petri.

3.4 Análise estatística

Os dados obtidos para os parâmetros físico-químicos foram tratados estatisticamente utilizando o Software estatístico JMP® Pro 14.0.0 by SAS Institute Inc. 2018. O modelo “Standard Least Squares” foi usado para verificar a existência de diferenças significativas entre os quatro tipos de chouriças, dois tempos de cura e a respectiva interação. As médias estimadas obtidas foram classificadas com base nas diferenças de menor significado entre pares e comparados usando o teste HSD de Tukey para os seguintes níveis de significação: $*P < 0.05$, $**P < 0.01$ ou $***P < 0.001$.

Para os resultados microbiológicos o tratamento estatístico foi realizado pela utilização do Software PAST v4.02 (Hammer, 2001). As tabelas apresentam as médias e o erro-padrão obtidos para os tratamentos (T), tempo de cura (Tc) e para a interação entre os dois parâmetros (TxTc) estudados.

Foi aplicado o teste de Tukey para médias e a significância dos valores foi identificada por letras maiúsculas e minúsculas, referente a cada parâmetro avaliado a partir de três níveis de diferenças significativas: significativa (*) se $P \leq 0.05$; muito significativa (**) se $P \leq 0.01$ e altamente significativa (***) se $P \leq 0.001$.

4 Resultados e discussão

4.1 Análises físico-químicas

4.1.1 Atividade de água (a_w) e pH

Os valores encontrados para o pH e para a a_w das chouriças estão apresentados na tabela 4. Em relação ao pH, o único tratamento que apresentou diferença em relação ao controle (NaCl 2%) foi o com KCl+Sub4Salt® onde foram observados os valores de 5,91 e 5,75, respectivamente. Os valores de pH das chouriças submetidas a 8 dias de cura obtiveram foram inferiores em comparação às com 16 dias de cura, sendo de 5,78 e 5,88, respectivamente.

As formulações com NaCl+KCl e NaCl+Sub4Salt® apresentaram valores próximos para o pH, enquanto a formulação controle e a KCl+Sub4Salt® foram as que apresentaram os valores de pH que mais se distanciaram entre si, o que pode ser explicado pelo fato do mix comercial, conter NaCl além de outros compostos que podem causar reações que reduzam o pH final da chouriça.

Ferreira et al. (2007) em estudo que caracterizou amostras comerciais da chouriça de Vinhais IGP, obtiveram para o pH o valor médio de 5,4, que se encontra abaixo do encontrado nas formulações testadas que oscilou entre 5,91 – 5,75, já Trigo et al. (2003), indicou para o pH da chouriça portuguesa o valor médio de 6,0.

As diferenças entre os valores de pH podem ser devidas à quantidade de sal utilizada e ao tempo de cura ao qual os produtos foram submetidos, além das diferenças entre os ingredientes e aditivos utilizados na confecção das chouriças comerciais.

Em relação a a_w das chouriças em 24h e 48h, os valores foram semelhantes entre os tratamentos, não sendo encontrada nenhuma diferença estatística em relação ao controle, no entanto as formulações com substituição do NaCl por KCl e Sub4Salt® apresentaram diferença entre si.

Os diferentes níveis de sal utilizados não foram responsáveis por alterar significativamente a a_w , já quando foi realizada a substituição de 28% do NaCl por KCl

Tabela 4 – Atividade de água (a_w) e pH das formulações de chouriça avaliadas.

	Tempo de Cura	Tratamento												Média (Tc)	Significância								
		NaCl 2%			NaCl 1,5% + KCl 0,5%			KCl 1,5% + Sub 0,5%			NaCl 1,5% + Sub 0,5%				T	Tc	T x Tc						
pH	8 dias	5,90	±	0,07	a	5,79	±	0,07	a,b	5,69	±	0,07	b	5,75	±	0,07	a,b	5,78	±	0,03			
	16 dias	5,93	±	0,07	a	5,92	±	0,07	a,b	5,81	±	0,07	a,b	5,87	±	0,07	a,b	5,88	±	0,03	ns	*	ns
	Média (T)	5,91	±	0,05	A	5,86	±	0,05	A,B	5,75	±	0,05	B	5,81	±	0,05	A,B						
aw 24h	8 dias	0,921	±	0,004	a	0,914	±	0,004	a	0,920	±	0,004	a	0,917	±	0,004	a	0,918	±	0,002			
	16 dias	0,875	±	0,004	b,c	0,865	±	0,004	c	0,877	±	0,004	b	0,875	±	0,004	b,c	0,873	±	0,002	ns	***	ns
	Média (T)	0,898	±	0,003	A	0,890	±	0,003	B	0,898	±	0,003	A	0,896	±	0,003	A,B						
aw 48h	8 dias	0,919	±	0,009	a	0,917	±	0,009	a	0,913	±	0,013	a,b	0,927	±	0,013	a	0,918	±	0,006			
	16 dias	0,875	±	0,009	c,d	0,854	±	0,009	d	0,885	±	0,009	b,c	0,859	±	0,009	d	0,868	±	0,005	ns	***	ns
	Média (T)	0,897	±	0,006	A	0,885	±	0,006	A	0,894	±	0,008	A	0,881	±	0,008	A						

Legenda:

T: Tratamento; Tc: Tempo de Cura; TxTc: Tratamento x Tempo de cura.

a-d: Médias com letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre a análise conjunta de Tratamento x Tempo de cura.

A-D: Médias com letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os tratamentos.

ns – não significativo; * P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001.

em chouriças, Safa et al. (2016) observaram o aumento da a_w , tendo atribuindo este aumento à menor capacidade da redução do parâmetro pelo KCl em comparação ao NaCl. Corral et al. (2013) em chouriças com 9 dias de cura e com substituição de 16% de NaCl por KCl não encontraram diferenças entre a formulação controle e a com substituição.

Ao avaliar nossos resultados, infere-se que a substituição do NaCl pelo Sub4Salt® não foi responsável por alterações nos valores de a_w em relação à formulação controle. No que diz respeito ao tempo de cura observou-se diferença estatisticamente significativa, sendo obtidos os valores de 0,918 para as chouriças frescas e de 0,873 para as chouriças secas em 24h, 0,918 e 0,868 em 48h.

As diferenças significativas encontradas devem-se as próprias características do processo de cura que consiste basicamente em fumagem e secagem, portanto é normal que ocorra uma redução da a_w ao longo desse período e como existem tempos de cura diferentes, a chouriça com mais tempo possui, naturalmente um menor valor para este parâmetro. Os resultados obtidos foram corroborados pelas observações de Casaburi et al. (2007) em salsichas fermentadas tradicionais do sul da Itália. Herrero et al. (2007) classificam os enchidos secos portugueses como de umidade intermediária, já que o valor médio para a a_w foi inferior a 0,90. As chouriças produzidas que foram submetidas ao tempo de cura de 16 dias e denominaram-se como secas atendem a este valor, enquanto as submetidas a apenas 8 dias de cura, apresentaram valores superiores, sendo caracterizadas como alimento de umidade elevada e altamente perecível.

No entanto, Campelos et al. (2016) em seu estudo observaram que mais de 40% das chouriças avaliadas apresentaram valores para a a_w acima de 0,90, variação semelhante a encontrada nos resultados em discussão.

4.1.2 Composição centesimal

Na tabela 5 encontram-se os valores para os teores de proteína, umidade, cinzas e lipídeos das diferentes formulações de chouriça avaliadas.

Em relação ao teor de proteína verificaram-se diferenças significativas entre o controle e as formulações KCl+Sub4Salt® e NaCl+Sub4Salt®, no entanto não foi observada essa diferença no tempo de cura de 8 dias já que, neste caso, a formulação não afetou o teor proteico de forma a reduzi-lo ou aumentá-lo. Na caracterização de chouriças de Vinhais IGP, Ferreira et al. (2007) obtiveram para o teor de proteína total valores que variavam de 12,3% a 35,9%, as chouriças produzidas no presente estudo obtiveram valores médios que variaram entre 26,6%

Tabela 5 – Composição centesimal das formulações de chouriça avaliadas.

	Tempo de Cura	Tratamento										Média (Tc)	Significância					
		NaCl 2%			NaCl 1,5% + KCl 0,5%			KCl 1,5% + Sub 0,5%			NaCl 1,5% + Sub 0,5%			T	Tc	T x Tc		
Proteína (%)	8 dias	27,31	± 0,39	d	26,71	± 0,39	d	26,60	± 0,39	d	27,44	± 0,39	d	27,01	± 0,20			
	16 dias	32,35	± 0,39	c	32,51	± 0,40	c	33,76	± 0,40	b	36,96	± 0,40	a	33,88	± 0,20	***	***	***
	Média (T)	29,83	± 0,28	B	29,61	± 0,28	B	30,18	± 0,28	B	32,20	± 0,28	A					
Umidade (%)	8 dias	45,50	± 0,47	b	44,90	± 0,43	b	48,64	± 0,43	a	49,62	± 0,43	a	47,24	± 0,21			
	16 dias	35,92	± 0,43	c	33,93	± 0,43	d	34,55	± 0,43	d	36,16	± 0,43	c	35,14	± 0,21	***	***	***
	Média (T)	40,28	± 0,32	C	39,42	± 0,30	D	41,60	± 0,30	B	42,89	± 0,30	A					
Cinzas (%)	8 dias	4,92	± 0,62	a,b	6,26	± 0,57	a	4,46	± 0,57	b	4,54	± 0,57	b	5,05	± 0,29			
	16 dias	5,37	± 0,57	a,b	5,17	± 0,57	a,b	5,90	± 0,57	a,b	6,16	± 0,58	a,b	5,64	± 0,28	ns	ns	ns
	Média (T)	5,17	± 0,42	A	5,71	± 0,40	A	5,18	± 0,40	A	5,33	± 0,40	A					
Lipídeos (%)	8 dias	16,64	± 1,49	b,c	19,74	± 1,39	a,b	16,88	± 1,39	b,c	15,59	± 1,39	c	17,23	± 0,71			
	16 dias	20,62	± 1,39	a,b	22,26	± 1,39	a	17,26	± 1,39	b,c	17,35	± 1,39	b,c	19,37	± 0,70	**	*	*
	Média (T)	18,76	± 1,02	A,B	21,00	± 0,99	A	17,07	± 0,99	B	16,47	± 0,99	B					

Legenda:

T: Tratamento; Tc: Tempo de Cura; TxTc: Tratamento x Tempo de cura.

a-d: Médias com letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre a análise conjunta de Tratamento x Tempo de cura.

A-D: Médias com letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os tratamentos.

ns – não significativo; * P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001.

e 36,96%, não ultrapassando muito o valor encontrado pelos autores previamente referidos.

Para proteína em chouriças reduzidas em sal, Corral et al. (2013) encontrou uma média de 35,3% para o controle, 37% para redução de 16% de NaCl e 34,9% para substituição de 16% por KCl, como não houve diferença estatística, concluiu que a alteração do conteúdo de sal não alterou o conteúdo proteico. Os valores obtidos também se encontram de acordo com a Norma Portuguesa 589 de 2008, a qual infere que a chouriça de carne extra deve possuir no mínimo 19% de proteína para obter tal nomeação. O Instituto Nacional de Saúde (INSA) em sua Tabela de Composição de Alimentos (TCA) apresenta a referência de 20% de proteína para a chouriça de carne de porco crua, valores inferiores aos resultados obtidos para as formulações utilizadas. Os valores apresentados pelo INSA são uma estimativa das médias obtidas em pesquisas sobre produtos disponíveis comercialmente e são comumente utilizados como referência para a produção de alimentos, porém não possuem caráter obrigatório (INSA, 2018). Marcos et al. (2016), em seu estudo sobre enchidos portugueses constatou para a chouriça de carne de porco a média de 24,5% para o teor de proteína, valor que se aproxima do que foi encontrado no presente estudo.

Para a umidade das chouriças avaliadas, os valores variaram de 33,93% a 49,62% e apresentam diferenças estatisticamente significativas tanto em relação ao tratamento, quanto ao tempo de cura e à interação entre ambas variáveis. De acordo com Ferreira et al. (2007) a umidade da chouriça de Vinhais comercial varia de 13,9% a 44%, em sua pesquisa foram utilizadas chouriças provenientes de diferentes produtores fazendo com que a variação entre o conteúdo de umidade fosse elevada. Para que seja caracterizada como tal, a chouriça de Vinhais IGP deve ser submetida a um tempo de cura de 3 a 4 semanas, processo que influencia diferentes parâmetros, particularmente a umidade, que pode contribuir para explicar a grande variação entre valores observada pelos diferentes investigadores. Na TCA, a estimativa da umidade indicada para a chouriça é de 27,8%, que se encontra abaixo do valor observado para as formulações avaliadas, porém não há descrição do tempo de cura ou do processamento a que o produto foi submetido, que podem alterar sua umidade. Segundo Corral et al. (2013) em relação a chouriças, a umidade final variou entre 48,1% e 49,5%, valores que se aproximam dos observados nas chouriças com Sub4Salt® e com 8 dias de cura, no entanto considerados elevados em relação à chouriça tradicional de carne. Marcos et al. (2016), obtiveram a umidade média de 32,5% em chouriças, valor que encontra-se próximo da média observada em nosso estudo para o tempo de

cura de 16 dias que foi de 35,14%, porém o estudo não indicou o tempo de cura das chouriças avaliadas, portanto não é possível afirmar que a proximidade de valores seja devido a este fator. Quanto aos tratamentos, a substituição pelo mix comercial resultou nos dois maiores teores de umidade encontrados, portanto a composição do mix comercial pode ser responsável pelo aumento da umidade, sendo necessários estudos posteriores a fim de verificar se há relação direta entre este componente e o aumento da umidade em chouriças de carne.

O conteúdo de cinzas refere-se ao resíduo inorgânico, representando os resíduos minerais que permanecem após a completa incineração do alimento, podendo sofrer alterações quando são realizadas mudanças nos teores de sais (Marshall, 2010). Os resultados obtidos para o conteúdo de cinzas não apresentaram diferenças estatisticamente significativas quanto a nenhum das formulações avaliadas, com valores que variaram entre 5,17% e 5,71%. Segundo a TCA, as chouriças de carne de porco possuem aproximadamente 8,6% de cinzas, já Mendes (2013) indicou que entre diferentes amostras de enchidos o conteúdo de cinzas variou de 3,81% a 6,5%, valores que se aproximam mais dos encontrados para as chouriças avaliadas. De acordo com Okrouhla et al. (2008) a quantidade de cinzas no lombo de porco varia de 1,37% a 1,56%, já para Fernandes e Teixeira (2015) os valores para determinadas peças variam de 2,06% a 2,13%. A utilização de sais para a produção das chouriças acaba resultando no aumento do teor de cinzas, como é possível verificar pela diferença do teor de cinzas na carne fresca e nos enchidos.

A gordura de porco é um dos principais ingredientes utilizados na produção da chouriça de carne a qual contribui para o teor de lipídeos. Nos resultados obtidos para as diferentes formulações utilizadas, o conteúdo de lipídeos variou entre 15,59% e 22,26%. Este parâmetro apresentou diferença significativa entre os tempos de cura, já que o teor de lipídeos possui tendência a aumentar ao longo deste processo, o que pode justificar os resultados encontrados em estudo, onde as chouriças com 16 dias de cura apresentaram valores maiores para este parâmetro (Lorenzo e Franco, 2012). Ferreira et al. (2007), para o teor de lipídeos, obtiveram valores que variaram de 20,4% a 68,2%, esta variação pode ser em virtude de serem utilizadas diferentes amostras, diferentes formulações e a falta de homogeneidade da amostra de chouriça utilizada em análise. O teor de lipídeos encontrado por Marcos et al. (2016) foi de aproximadamente 34,5%, e o valor reportado pela TCA de 44,1%, enquanto Mendes (2013) obteve valores que variaram de 6,22% a 47,86%. Gómez e Lorenzo (2013) também constataram um aumento no teor de lipídeos, onde imediatamente após produção as chouriças apresentaram aproximadamente 32% de gordura

e após o processo de cura, este valor variou entre 45% e 60%. Apesar do teor de lipídeos das chouriças em estudo não ter sido avaliado imediatamente após produção, foi possível identificar a mesma tendência de aumento entre 8 e 16 dias de cura. Considerando as diferentes formulações de enchidos avaliadas pelos pesquisadores é possível inferir que a formulação utilizada no presente estudo possui um teor de lipídeos compatível com o observado nas chouriças comerciais, convém, no entanto, salientar que em alguns casos constatou-se um teor reduzido de lipídeos quando comparado aos observados na literatura citada. Em relação ao controle, não foi observada diferença entre os tratamentos portanto a variação das formulações não alterou a quantidade de lipídeos da chouriça, apenas é possível observar uma ligeira redução entre os tratamentos com Sub4Salt® e o tratamento com NaCl+KCl, onde houve diferença estatística.

4.1.3 Cloretos e TBARs

Na tabela 6 estão apresentados os resultados obtidos para as análises do teor de cloretos e para o índice de oxidação lipídica das chouriças avaliadas.

O teor de cloretos presente nas chouriças está diretamente relacionado aos tratamentos utilizados, onde foi efetuada alteração da proporção dos sais utilizados, essa alteração é indicada pelo fato de que haverá diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos. Também é possível observar diferenças estatísticas entre os tempos de cura avaliados, onde as chouriças com 8 dias apresentaram o valor de 3,32% e as com 16 dias, de 4,11%, que pode ser explicado pela redução da quantidade de água presente, resultando em uma maior concentração de cloretos na amostra.

Como esperado, a formulação com KCl+Sub4Salt® apresentou o menor valor para a porcentagem de cloretos que foi de 3,44%, em comparação com as outras formulações e principalmente com a formulação controle que obteve o valor de 3,96%. Para as outras formulações avaliadas foram encontrados valores intermediários, sendo 3,67% para a formulação NaCl+Sub4Salt e de 3,79% para a formulação NaCl+KCl.

O teor de TBARs está relacionado ao conteúdo de malonaldeído (MDA), que é um dos componentes resultantes da degradação de lipídeos, e utilizado como indicador do grau de oxidação lipídica, característica importante na qualidade de chouriças de carne de porco (Wenjiao et al., 2014). O excesso de oxidação lipídica está entre as principais causas da deterioração de enchidos, por gerar odores e sabores desagradáveis, além de poder originar compostos potencialmente tóxicos produzidos pela reação de oxidação (Guéraud et al., 2010). Kim et al.

Tabela 6 – Cloretos (%) e TBA (mg malonaldeído/kg de amostra) das formulações de chouriça avaliadas.

	Tempo de Cura	Tratamento												Média (Tc)		Significância							
		NaCl 2%			NaCl 1,5% + KCl 0,5%			KCl 1,5% + Sub 0,5%			NaCl 1,5% + Sub 0,5%			T	Tc	T x Tc							
Cloretos (%)	8 dias	3,50	±	0,06	d	3,41	±	0,06	d,e	3,11	±	0,06	f	3,25	±	0,06	e,f	3,32	±	0,03			
	16 dias	4,41	±	0,06	a	4,17	±	0,06	b	3,77	±	0,06	c	4,09	±	0,06	b	4,11	±	0,03	***	***	*
	Média (T)	3,96	±	0,04	A	3,79	±	0,04	B	3,44	±	0,04	C	3,67	±	0,04	D						
TBA (mgMDA/kg)	8 dias	0,03	±	0,01	a,b	0,05	±	0,01	a	0,02	±	0,01	b	0,03	±	0,01	a,b	0,03	±	0,00			
	16 dias	0,01	±	0,01	b	0,01	±	0,01	b	0,04	±	0,01	a,b	0,03	±	0,01	a,b	0,03	±	0,01	ns	ns	*
	Média (T)	0,02	±	0,01	A	0,04	±	0,01	A	0,03	±	0,01	A	0,03	±	0,01	A						

Legenda:

MDA: malonaldeído; T: Tratamento; Tc: Tempo de Cura; TxTc: Tratamento x Tempo de cura.

a-f: Médias com letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre a análise conjunta de Tratamento x Tempo de cura.

A-D: Médias com letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os tratamentos.

ns – não significativo; * P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001.

(2018), em estudo que avaliou as alterações causadas pela substituição de NaCl por cloreto de cálcio (CaCl), cloreto de potássio (KCl) e cloreto de magnésio (MgCl₂) em salsichas reduzidas em gordura (11,2% de lipídeos), observou maior índice oxidativo ao longo do período de armazenamento nas amostras em que houve a substituição parcial do NaCl. Contudo não é possível observar essa tendência para os resultados obtidos no presente estudo.

Cheng, Wanf e Ockerman (2007) observaram menor oxidação lipídica em misturas de carne de porco em que o conteúdo de NaCl foi parcialmente substituído por KCl. Em contrapartida, no presente estudo no tempo de cura de 8 dias o teor de TBARs foi de 0,03mg e a com substituição de 0,05mg, apesar do aumento não foi observada diferença significativa entre as formulações. Para o tempo de cura de 16 dias, as chouriças com Sub4Salt® apresentaram valores acima do controle e do tratamento com KCl, sugerindo que o mix comercial pode causar interferência no índice oxidativo.

Os valores obtidos para o índice de oxidação lipídica apenas apresentou diferença estatisticamente significativa na interação dos parâmetros tratamento e tempo de cura. Os nossos resultados são considerados baixos em relação aos valores obtidos nos estudos consultados, não afetando negativamente a qualidade da chouriça.

4.1.4 Parâmetros colorimétricos (CIELab)

Os valores para a cor instrumental das formulações de chouriça avaliadas estão expressos na tabela 7. Nas coordenadas CIELab a luminosidade ou claridade varia de 0 a 100, o a* indica o índice de vermelho e b* o índice de amarelo, e quanto aos atributos da cor tem-se variação de 0 a 200 para o croma e de 0° a 360° para o tom.

A luminosidade (L) encontrada para as chouriças apresentou diferenças estatisticamente significativas quanto ao tratamento, tempo de cura e em relação a interação entre ambos parâmetros. Segundo Costa et al. (2008), o processo de cura reduz a luminosidade, o que pode ser observado quando este parâmetro é avaliado em relação aos tempos de cura utilizados, para todos os tratamentos, as chouriças que passaram por 8 dias de cura apresentaram o valor de 42,43 e as submetidas a 16 dias apresentaram o valor de 35,01. Fernandez-Lopez et al. (2004), observaram em carne de porco com 0%, 1,5% e 3% de sal, que a luminosidade e o conteúdo de sal eram inversamente proporcionais, onde a maior luminosidade foi obtida na carne sem sal e o menor, na carne com maior concentração.

Tabela 7 – Parâmetros colorimétricos (CIELab) das formulações das chouriças avaliadas.

	Tempo de Cura	Tratamento										Média (Tc)	Significância					
		NaCl 2%		NaCl 1,5% + KCl 0,5%		KCl 1,5% + Sub 0,5%		NaCl 1,5% + Sub 0,5%		T	Tc		T x Tc					
L	8 dias	40,87	± 0,75	b	39,63	± 0,70	b	45,24	± 0,70	a	43,79	± 0,70	a	42,43	± 0,36			
	16 dias	37,61	± 0,70	c	33,86	± 0,70	d	35,22	± 0,70	d	33,35	± 0,70	d	35,01	± 0,35	***	***	***
	Média (T)	39,13	± 0,51	A,B	36,74	± 0,50	C	40,23	± 0,50	A	38,57	± 0,50	B					
C	8 dias	26,64	± 0,66	b	25,95	± 0,62	b	29,29	± 0,62	a	29,28	± 0,62	a	27,83	± 0,31			
	16 dias	25,50	± 0,62	b	22,18	± 0,62	c	23,60	± 0,62	c	22,64	± 0,62	c	23,48	± 0,31	***	***	***
	Média (T)	26,03	± 0,45	A	24,06	± 0,44	B	26,44	± 0,44	A	25,96	± 0,44	A					
H	8 dias	10,04	± 5,92	b	15,19	± 5,92	a,b	9,48	± 5,92	a,b	12,53	± 5,92	a,b	11,81	± 2,96			
	16 dias	20,03	± 5,92	a	24,08	± 5,92	a	18,05	± 5,92	a	24,39	± 5,92	a	21,64	± 2,96	ns	***	ns
	Média (T)	15,04	± 4,18	A	19,63	± 4,18	A	13,77	± 4,18	A	18,46	± 4,18	A					
a*	8 dias	14,64	± 0,65	b,c	16,11	± 0,61	a,b	17,18	± 0,61	a	17,14	± 0,61	a	16,32	± 0,31			
	16 dias	15,99	± 0,61	a,b	14,09	± 0,61	c	14,41	± 0,61	b,c	14,66	± 0,61	b,c	14,79	± 0,31	ns	***	**
	Média (T)	15,36	± 0,45	A	15,10	± 0,43	A	15,80	± 0,43	A	15,90	± 0,43	A					
b*	8 dias	22,02	± 0,90	a,b	19,98	± 0,84	b,c	23,24	± 0,84	a	23,25	± 0,84	a	22,13	± 0,43			
	16 dias	19,56	± 0,84	c	16,69	± 0,84	d	18,19	± 0,84	c,d	16,90	± 0,84	d	17,83	± 0,42	ns	***	ns
	Média (T)	20,71	± 0,61	A	18,34	± 0,59	B	20,72	± 0,59	A	20,07	± 0,59	A					

Legenda:

T: Tratamento; Tc: Tempo de Cura; TxTc: Tratamento x Tempo de cura.

a-d: Médias com letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre a análise conjunta de Tratamento x Tempo de cura.

A-D: Médias com letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os tratamentos.

ns – não significativo; * P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001.

Em misturas de carne de porco com redução de sal, Stanley, Bower e Sullivan (2017), observaram que a chouriça com redução de sódio foi a que apresentou maior valor para a luminosidade entre os tratamentos realizados. Essa característica também pode ser observada no presente estudo, onde a chouriça com maior redução de sódio (KCl+Sub4Salt®) apresentou o maior valor para a luminosidade.

O croma (C) se refere à saturação da cor em questão, quanto maior seu valor, maior é a intensidade da cor observada. Quanto aos valores obtidos para o croma, o único tratamento que apresentou diferença estatística em relação aos outros foi o de NaCl+KCl, com o menor valor observado para este parâmetro. Segundo Cañeque e Sañudo (2005), em carnes, o croma está conectado a fatores *pre-mortem* como a alimentação, tipo de criação e raça do animal. A carne do porco de raça Bísara, que possui características específicas devido à sua criação e alimentação apresenta valores de croma entre 12 e 22, que se aproxima dos encontrados nas chouriças com 16 dias de cura (Leite et al., 2015). Na carne de porco, Fernandez-Lopez et al. (2004) observaram uma redução do valor do croma de acordo com o aumento da concentração de sal, porém como o teor de mioglobina não foi alterado entre os tratamentos, essa diferença foi atribuída às proporções dos diferentes estados da mioglobina.

O tom (H) característico da carne também é resultado do estado e quantidade de mioglobina presente, em produtos como a chouriça, que passam por desidratação a forma mais presente é a de metamioglobina que confere um tom castanho escuro (Hunt et al., 2012; Rodrigues, 2019). Os valores obtidos para o tom das chouriças produzidas não apresentaram diferença estatisticamente significativa em relação aos tratamentos, porém houve diferença entre os tempos de cura avaliados, onde para 8 dias o valor foi de 11,81° e para 16 dias foi de 21,64°. Em presuntos, o processo de fabricação faz com que ocorra a oxidação da mioglobina, causando a redução do valor do tom na carne curada, no entanto o oposto foi observado nas chouriças avaliadas já que os valores para o 16 dias de cura foram maiores que o de 8 dias (Barbosa, 2017).

Quanto ao índice de vermelho (a^*), não foram encontradas diferenças estatísticas entre tratamentos, porém há diferenças entre o tempo de cura e a interação entre ambos parâmetros. As chouriças que passaram por 16 dias de cura apresentaram um valor menor do que as que passaram por 8 dias, sendo respectivamente 14,79 e 16,32, indicando uma redução no índice de vermelho, Barbosa (2017) também observou a redução do índice de vermelho ao longo do tempo de cura.

Fernandez-Lopez et al. (2004) propõem que as variações no índice de vermelho também podem ser explicadas pela alteração da capacidade de retenção de água da carne, afetada pela adição de sal, fazendo com que ocorra uma aglomeração de mioglobina na superfície da carne. Em chouriças é necessário ressaltar que sua composição compreende majoritariamente carne e gordura, em seu aspecto visual externo é possível identificar pontos brancos que são pedaços de gordura rígidos, fator que interfere na avaliação da cor.

Para o índice de amarelo (b^*) foram encontradas diferenças estatísticas entre tratamentos, onde a formulação com NaCl+KCl apresentou um valor menor do que as outras, e entre os tempos de cura, em que as chouriças que passaram por 8 dias de cura obtiveram 22,13 e as de 16 dias, obtiveram o valor de 17,83 para este parâmetro. Barbosa (2017) também indicou em seu estudo uma relação entre o índice de amarelo e o tempo de cura, onde quanto maior o tempo de cura, maior foi a redução do índice. Em contrapartida, Fernandez-Lopez et al. (2004) em seu estudo, observou que o índice de amarelo variou inversamente em relação as concentrações de sal utilizadas, relacionando essa variação à oxidação lipídica e a alteração dos pigmentos presentes, porém essa alteração não foi observada no presente trabalho.

4.1.5 Composição Mineral

A composição mineral das chouriças avaliadas está apresentada na tabela 8.

Quanto a quantidade de Cálcio (Ca) presente nas chouriças produzidas, foram identificadas diferenças significativas entre a formulação controle e as outras três formulações avaliadas, apresentando 34,86mg, o maior valor obtido para este parâmetro. Também foram encontradas diferenças estatísticas em relação ao tempo de cura, as chouriças que passaram por 8 dias de cura apresentaram 25,47mg de Ca, um valor menor do que o observado nas que passaram por 16 dias que apresentaram 33,81mg. De acordo com a TCA a quantidade de Ca encontrado em chouriças varia de 23mg a 30mg, valores que incluem os encontrados em 8 dias de cura, se aproximam dos encontrados para 16 dias, e para as formulações que continham o mix comercial, sendo a de KCl+Sub4Salt® com 24,95mg e a de NaCl+Sub4Salt® com 28,56mg. Marcos et al. (2016) encontrou o valor médio de 30mg de Ca para a chouriça de carne, que também se aproxima da formulação controle, das formulações de NaCl+KCl com 30,19mg e da NaCl+Sub4Salt® com 28,56mg.

A presença desse mineral geralmente é relacionada a dois fatores, a quantidade já existente na carne, entretanto não de forma muito significativa por não estar presente em grandes

porções na carne e a presença de partículas de ossos, que ocorre pela dispersão de pedaços no momento da dessecação da carcaça (Cobos e Díaz, 2015; Essary, 1979). Apesar dos valores encontrados, os tratamentos não podem ser indicados como a causa dessa alteração, já que não há nenhuma forma de adição de Ca.

A quantidade de potássio (K) encontrado nas chouriças apresentou diferenças estatísticas em relação a todos os tratamentos. O tratamento com menor quantidade de K foi o controle, onde não ocorreu sua utilização e a quantidade encontrada corresponde apenas ao que estava naturalmente presente na chouriça de carne. Em estudo, Tomovic et al. (2015) indicam que a quantidade aproximada de potássio apenas na carne de porco é de aproximadamente 400mg, no entanto este valor pode ser alterado ao longo do processamento pela utilização de ingredientes e aditivos. De acordo com a TCA as chouriças de carne de porco possuem aproximadamente de 210mg a 370mg de K. No presente estudo, a formulação controle, apesar de apresentar o menor valor entre as formulações testadas, corresponde a um valor elevado quando comparado com os valores encontrados na literatura consultada. Essa mudança no conteúdo do mineral pode ser devido a utilização da pasta de pimentão (*Capsicum annuum*) que possui valores consideráveis de minerais, principalmente potássio (González-Tenorio et al., 2012). A alteração do conteúdo de potássio era esperada, no entanto os valores encontrados ultrapassam os valores observados na literatura em relação a chouriças comuns, que podem ser resultantes da utilização da pasta de pimentão, citada como uma fonte desse mineral. Da análise da tabela 8 podemos verificar que a formulação sem qualquer potássio adicionado (NaCl 2%) apresenta um valor 500,9mg de potássio. Ao contrário do esperado, a formulação onde foi observada a maior quantidade de potássio foi a de NaCl+KCl com 864,26mg, já a formulação com KCl+Sub4Salt® apresentou 686,35mg. A quantidade de K presente na carne e os ingredientes utilizados na chouriças podem, em parte, justificar as discrepâncias encontradas em relação ao que era esperado para o conteúdo de potássio em cada uma das formulações.

Em relação ao ferro (Fe) presente nas chouriças, não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos, porém houve diferença entre os dois tempos de cura avaliados, onde as chouriças com 16 dias apresentaram maior quantidade desse mineral. Para a carne de porco, a quantidade média de Fe é de aproximadamente 1,01mg, entretanto é necessário levar em conta os diferentes músculos utilizados e a adição de ingredientes,

Tabela 8 – Composição de minerais (/100g) das formulações de chouriça avaliadas.

Parâmetros	Tempo de Cura	Tratamento												Significância				
		NaCl 2%			NaCl 1,5% + KCl 0,5%			KCl 1,5% + Sub 0,5%			NaCl 1,5% + Sub 0,5%			Média (Tc)	T	Tc	T x Tc	
Ca (mg)	8 dias	28,01	± 2,22	b,c	27,06	± 2,22	b,c	22,18	± 2,22	c	24,61	± 2,22	c	25,47	± 1,11			
	16 dias	41,70	± 2,22	a	33,32	± 2,22	b	27,73	± 2,22	b,c	32,51	± 2,22	b	33,81	± 1,11	**	***	*
	Média (T)	34,86	± 1,57	A	30,19	± 1,57	B	24,95	± 1,57	C	28,56	± 1,57	B,C					
K (mg)	8 dias	470,83	± 27,28	e	788,24	± 27,28	b	637,41	± 27,28	d	480,62	± 27,28	e	594,28	± 13,64			
	16 dias	530,96	± 27,28	e	940,28	± 27,28	a	735,30	± 27,28	b,c	665,14	± 27,28	c,d	717,92	± 13,64	***	***	*
	Média (T)	500,90	± 19,29	D	864,26	± 19,29	A	686,35	± 19,29	B	572,88	± 19,29	C					
Fe (mg)	8 dias	1,29	± 0,07	b	1,32	± 0,07	b	1,24	± 0,07	b	1,24	± 0,07	b	1,27	± 0,03			
	16 dias	1,74	± 0,07	a	1,80	± 0,07	a	1,68	± 0,07	a	1,66	± 0,07	a	1,72	± 0,03	ns	***	*
	Média (T)	1,52	± 0,05	A	1,56	± 0,05	A	1,46	± 0,05	A	1,45	± 0,05	A					
Mn (µg)	8 dias	40,03	± 4,51	a	42,88	± 4,51	a	43,37	± 4,51	a	42,27	± 4,51	a	42,14	± 2,26			
	16 dias	51,69	± 4,51	a	48,90	± 4,51	a	46,69	± 4,51	a	50,36	± 4,51	a	49,41	± 2,26	ns	*	ns
	Média (T)	45,86	± 3,19	A	45,89	± 3,19	A	45,03	± 3,19	A	46,32	± 3,19	A					
Na (mg)	8 dias	1371,98	± 45,73	c,d	1147,75	± 45,73	e,f	1097,25	± 45,73	f	1243,67	± 45,73	d,e	1215,16	± 22,86			
	16 dias	1727,66	± 45,73	a	1455,98	± 45,73	b,c	1298,27	± 45,73	d	1585,91	± 45,73	b	1516,95	± 22,86	***	***	*
	Média (T)	1549,82	± 32,33	A	1301,86	± 32,33	C	1197,76	± 32,33	D	1414,79	± 32,33	B					
P (mg)	8 dias	295,10	± 9,39	c	310,00	± 9,39	c	302,76	± 9,39	c	298,21	± 9,39	c	301,52	± 4,69			
	16 dias	380,23	± 9,39	a	381,84	± 9,39	a	349,72	± 9,39	b	375,50	± 9,39	a,b	371,82	± 4,69	ns	***	*
	Média (T)	337,67	± 6,64	A,B	345,92	± 6,64	A	326,24	± 6,64	B	336,86	± 6,64	A,B					
Zn (mg)	8 dias	3,66	± 0,13	b	3,74	± 0,13	b	4,76	± 0,13	b	3,56	± 0,13	b	3,64	± 0,07			
	16 dias	4,67	± 0,13	a	4,74	± 0,13	a	3,59	± 0,13	a	4,48	± 0,13	a	4,66	± 0,07	ns	***	ns
	Média (T)	4,16	± 0,09	A	4,24	± 0,09	A	4,17	± 0,09	A	4,02	± 0,09	A					
Cu (mg)	8 dias	0,15	± 0,02	a	0,18	± 0,02	a	0,20	± 0,02	a	0,19	± 0,02	a	0,18	± 0,01			
	16 dias	0,20	± 0,02	a	0,18	± 0,02	a	0,16	± 0,02	a	0,17	± 0,02	a	0,17	± 0,01	ns	ns	ns
	Média (T)	0,17	± 0,02	A	0,18	± 0,02	A	0,18	± 0,02	A	0,18	± 0,02	A					

Legenda:

T: Tratamento; Tc: Tempo de Cura; TxTc: Tratamento x Tempo de cura.

a-d: Médias com letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre a análise conjunta de Tratamento x Tempo de cura.

A-D: Médias com letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os tratamentos.

ns – não significativo; * P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001.

que interferem na quantidade de ferro que pode ser encontrado em produtos cárneos (Cheung e Mehta, 2015). Segundo a TCA a quantidade de ferro presente em chouriças de carne de porco deve oscilar entre 2,5mg a 2,7mg, valores muito acima dos encontrados nas chouriças em estudo, onde o teor máximo de ferro foi de 1,80mg. Os resultados obtidos ajustam-se aos reportados por Kongkachuichai, Napatthalung e Charoensiri (2002), que para chouriças de porco constataram valores médios que variaram de 1,7mg a 1,9mg de Fe.

O manganês ou manganésio (Mn) é um mineral essencial para o ser humano, está amplamente presente em plantas e tecidos animais em concentrações baixas. Hugas et al. (2002) evidencia sua relação com o conteúdo de pimenta preta, referindo que este é um de seus princípios ativos na inibição microbiana. Na carne de porco, de acordo com Cheung e Mehta (2015) há em média 29 μ g de Mn e a adição de especiarias como pimenta, pimentão, alho, vinho tinto e outros, aumenta seu conteúdo. No presente estudo os valores obtidos variaram de 40,03 μ g a 51,69 μ g, apesar desta variação, não se observaram diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, tempo de cura ou em relação à interação de ambos parâmetros, demonstrando a homogeneidade das formulações em relação aos ingredientes, já que não houve alteração na quantidade de especiarias utilizada. Em chouriças portuguesas Alves et al. (2015), obteve valores entre 40 μ e 59 μ g para o teor de Mn, os quais apresentam concordância com os valores encontrados nas chouriças avaliadas.

O conteúdo de sódio (Na) foi o parâmetro utilizado na diferenciação das formulações, logo, foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos, tempos de cura e na interação entre ambos parâmetros, estando em concordância com as alterações efetuadas nas formulações avaliadas. Quanto ao tempo de cura, nas chouriças submetidas a 16 dias de cura observou-se um teor de Na de 1516,95mg, enquanto no enchidos com 8 dias se obteve 1215,16mg, a diferença encontrada pode ser resultante da perda de água durante o período de cura. O tratamento que apresentou o menor teor de sódio foi o KCl+Sub4Salt® (1197,76mg), seguido de NaCl+KCl (1301,86mg), de NaCl+Sub4Salt (1414,79mg) e do controle com 2% de NaCl (1549,82mg). De acordo com a TCA, a quantidade de sódio em chouriças de carne varia de 2300mg a 2470mg, valores consideravelmente acima dos observados no presente estudo. Já Muguerza et al. (2004) referem que especificamente para chouriças, a quantidade de sódio variou de 1350mg a 1980mg, também mais elevados do que os observados no presente estudo. García-Íñiguez et al. (2013) estudaram a redução de sal a dois níveis, sendo eles 46,15% e 61,5%,

em seus resultados foi observada uma redução no conteúdo de NaCl das chouriças, apresentando o controle 1870mg, a primeira redução 1160mg e a segunda 940mg de sódio. Os valores encontrados no presente estudo encontram-se em concordância com os encontrados na literatura consultada, tanto em relação à formulação controle, quanto as formulações que sofreram alterações no teor de sal.

Em relação ao fósforo (P) apenas os tratamentos com NaCl+KCl e com KCl+Sub4Salt® apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre si, com os valores de 345,92mg e 326,24mg respectivamente. Entretanto em nenhum dos dois tratamentos foram verificadas diferenças estatísticas com o controle e com o tratamento NaCl+Sub4Salt®. Também se observaram diferenças significativas entre os dois tempos de cura, tendo as chouriças com 8 dias apresentado valor médio de 301,52mg e as com 16 dias de 371,82mg. Segundo a TCA os valores do teor de fósforo em chouriças variam de 200mg a 280mg, em contrapartida, segundo González-Tenorio et al. (2012) em chouriças tradicionais da Espanha o teor médio desse mineral foi de 431mg e em uma mistura de carne de porco moída com gordura, a quantidade média foi de 300mg. A pasta de pimentão também interfere no teor de fósforo, por possuir uma quantidade expressiva desse mineral, portanto sua utilização como ingrediente afeta a quantidade final de fósforo presente nos produtos, o que pode explicar o conteúdo acima do apresentado pela TCA (González-Tenorio et al., 2012).

O teor de zinco (Zn) presente nas chouriças não apresentou diferenças estatisticamente significativas em relação aos tratamentos e ao interação dos tratamentos, no entanto, observaram-se diferenças entre os dois tempos de cura avaliados. As chouriças com o menor tempo de cura (8 dias) apresentaram o valor de 3,64mg e as de 16 dias de 4,6mg de Zn. De acordo com Bou, Cofrades e Jiménez-Colmenero (2017), a quantidade de Zn encontrada em carnes por ele analisadas foi elevada, variando de 1,6 a 4mg. Segundo a TCA, o valor médio de zinco presente em chouriças de carne de porco deve ser de 3,1mg. González-Tenorio et al. (2012), para a chouriça seca tradicional da Espanha, refere o valor médio de 7,4mg, para a chouriça seca comum 3mg e para a carne de porco moída com gordura 4,3mg. Os teores de zinco observados no presente estudo encontram-se próximos dos valores da chouriça comum e da carne de porco moída, este fato pode ser explicado pela variação dos ingredientes e aditivos utilizados nas chouriças portuguesas e espanholas.

O cobre (Cu) é um mineral essencial para o ser humano, no entanto, quando presente em níveis elevados é considerado como contaminação por metais pesados, portanto sua presença deve ser regulada de forma a não prejudicar a saúde do consumidor. Segundo o Regulamento (UE) n°1169/2011, a dose diária de referência deste mineral para adultos é de 1mg, devendo ser evitado o consumo acima desse valor. Não foram encontradas diferenças significativas no teor de cobre em relação a nenhum dos diferentes tratamentos, tempos de cura ou a interação entre ambos parâmetros, os valores variaram de 0,15mg a 0,20mg. Em chouriças portuguesas Alves et al. (2015) obtiveram o valor de 0,16mg, Ferreira et al. (2005) para salsichas frescas e curadas observou valores médios de 0,08mg e 0,10mg respectivamente. Apesar de exceder ligeiramente os valores observados nos estudos citados, a quantidade de cobre encontrada nas chouriças analisadas, está de acordo com o reportado pela literatura, não representando risco à saúde do consumidor.

4.2 Análises microbiológicas

A qualidade microbiológica dos gêneros alimentícios é definida a partir de padrões regulamentados de forma a assegurar sua qualidade e segurança para o consumidor, contagens com valores elevados são sinal de deterioração ou falha em relação a higiene no processamento e das matérias-primas.

Em enchidos, o limite estabelecido em Portugal pelo Regulamento (CE) n°1441 de 2007, para a contagem de microrganismos aeróbios totais é de 5×10^6 UFC/g (6,7 log UFC/g) e para *E. coli* é de 5×10^3 UFC/g (3,7 log UFC/g).

Na tabela 9 estão sumariados os valores obtidos para as contagens de microrganismos aeróbios totais a 30°C e para a contagem de bolores e leveduras. As contagens de microrganismos totais a 30°C das diferentes formulações de chouriça avaliadas não apresentaram diferença significativa entre tratamentos, tempo de cura e entre a interação de ambos parâmetros, abrangendo valores que variaram de 6,51 a 7,31 log UFC/g. Campelos et al. (2016), em seu estudo sobre a chouriça de Vinhais obtiveram valores que variaram entre 5,1 e >7,5 log UFC/g, idênticos aos obtidos no presente estudo, podendo ser atribuídos ao processo de fermentação e ao crescimento de bactérias ácido lácticas ao longo do processo de cura.

De acordo com Ferreira et al. (2009) as chouriças de Vinhais, no final do processamento, apresentaram valores para a contagem de microrganismos totais que variaram de 8 a 9,5 log UFC/g, superiores aos valores obtidos nas chouriças avaliadas e que podem ser atribuídos as

Tabela 9 – Valores obtidos nas contagens de microrganismos totais a 30°C e de bolores e leveduras.

Variável	Tempo de Cura	Tratamento											Média (Tc)			Significância			
		NaCl 2%			NaCl 1,5% + KCl 0,5%			KCl 1,5% + Sub 0,5%			NaCl 1,5% + Sub 0,5%			T	Tc	T x Tc			
Totais (log UFC/g)	8 dias	6,81	±	0,14	6,84	±	0,22	6,70	±	0,33	7,15	±	0,58	6,88	±	0,37			
	16 dias	7,00	±	1,23	7,31	±	1,32	6,82	±	0,30	6,51	±	0,91	6,91	±	0,96	ns	ns	ns
	Média (T)	6,90	±	0,82	7,08	±	0,91	6,76	±	0,30	6,83	±	0,79						
Bolores e Leveduras (log UFC/g)	8 dias	4,49	±	0,16	4,15	±	0,04	3,83	±	0,25	4,10	±	0,63	4,14	±	0,36			
	16 dias	3,83	±	0,47	3,53	±	0,36	3,74	±	0,46	3,77	±	0,23	3,72	±	0,36	ns	*	ns
	Média (T)	4,16	±	0,50	3,84	±	0,42	3,79	±	0,35	3,93	±	0,37						

Legenda:

T: Tratamento; Tc: Tempo de Cura; TxTc: Tratamento x Tempo de cura.
 ns – não significativo; * P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001

diferentes condições de processamento como o tempo e temperatura, matérias-primas e higiene do local.

Para bolores e leveduras, os mesmos investigadores obtiveram valores que aumentaram ao longo do processamento (valores de <1 e $4,7$ log UFC/g respectivamente). Nas formulações avaliadas foram obtidos valores para contagem de bolores e leveduras que variam de $3,53$ a $4,49$ log UFC/g, apenas se observou diferença estatisticamente significativa entre os tempos de cura, sendo que as chouriças com 8 dias apresentaram contagem de $4,14$ log UFC/g e as com 16 dias apresentaram $3,72$ log UFC/g, ambos valores compreendidos entre os observados por Ferreira et al. (2019). Os valores obtidos também são corroborados pelas observações de Ferreira et al. (2007) em chouriças de Vinhais, em que a contagem de bolores e leveduras oscilou entre <1 e $5,7$ log UFC/g. Santos et al. (2005) indicaram que o limite aceitável para bolores é de 2 log UFC/g e para leveduras é de 4 log UFC/g, como a contagem de bolores e leveduras foi realizada em conjunto, é levado em consideração o maior valor, logo as chouriças que passaram por 8 dias de cura estão classificadas como insatisfatórias, enquanto as com 16 dias estão adequadas ao limite especificado.

Na tabela 10 estão expressos os valores encontrados nas contagens de coliformes totais e de *E. coli*, de acordo com a réplica, tempo de cura e tratamento. Nos resultados obtidos foi encontrada diferença significativa entre as réplicas realizadas, onde as chouriças produzidas na primeira batelada apresentaram uma contagem de coliformes totais maior, variando de <1 a $2,89$ log UFC/g e a segunda batelada apresentou valores até $1,3$ log UFC/g. De acordo com Santos et al. (2005), para coliformes totais o limite aceitável é de 3 log UFC/g, logo apesar das contagens da primeira réplica serem maiores que na segunda, ambos são considerados aceitáveis. A diferença encontrada entre as réplicas em relação ao resultado de coliformes totais pode ser atribuída às divergências quanto a higienização do ambiente de produção e dos equipamentos utilizados. Já para *E. coli*, todos os resultados foram <1 log UFC/g, Ferreira et al. (2007) obtiveram resultados semelhantes para as chouriças de Vinhais avaliadas, entretanto em posterior estudo de Ferreira et al. (2009) as chouriças de dois produtores apresentaram valores de $5,2$ e $5,3$ log UFC/g.

As contagens de *E. coli* para as chouriças produzidas e avaliadas neste estudo se encontram classificadas como satisfatórias de acordo com o regulamento em vigor, já que estão abaixo do limite estipulado.

Tabela 10 – Valores obtidos nas contagens de coliformes totais e *E. coli*.

Réplica	Tempo de cura	Tratamento	Coliformes totais (log UFC/g)	<i>E. Coli</i> (UFC/g)
1	8 dias	NaCl 2%	1,30 ^a	<1
		NaCl 1,5% + KCl 0,5%	2,24 ^a	<1
		KCl 1,5% + Sub 0,5%	2,16 ^a	<1
	16 dias	NaCl 1,5% + Sub 0,5%	1,30 ^a	<1
		NaCl 2%	2,89 ^a	<1
		NaCl 1,5% + KCl 0,5%	1,30 ^a	<1
		KCl 1,5% + Sub 0,5%	<1 ^a	<1
		NaCl 1,5% + Sub 0,5%	2,54 ^a	<1
		NaCl 2%	1,30 ^b	<1
2	8 dias	NaCl 1,5% + KCl 0,5%	<1 ^b	<1
		KCl 1,5% + Sub 0,5%	0 ^b	<1
		NaCl 1,5% + Sub 0,5%	0 ^b	<1
	16 dias	NaCl 2%	<1 ^b	<1
		NaCl 1,5% + KCl 0,5%	0 ^b	<1
		KCl 1,5% + Sub 0,5%	0 ^b	<1
		NaCl 1,5% + Sub 0,5%	0 ^b	<1
		NaCl 2%	1,30 ^b	<1
		NaCl 1,5% + KCl 0,5%	1,30 ^b	<1

Legenda:

a-b: Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa. P < 0,05.

Na tabela 11 estão demonstrados os resultados obtidos na pesquisa de *Salmonella*, na contagem de esporos de clostrídeos sulfito redutores e de *Staphylococcus* coagulase positiva.

Em ambas as réplicas, apenas dois tratamentos indicaram positivo para a presença de *Salmonella*, o Regulamento (CE) n° 1441 de 2007 infere que para o alimento ser classificado como satisfatório, deve ser constatada ausência de colônias de *Salmonella* em 25g de alimento.

Não é possível atribuir a presença de *Salmonella* a um determinado tratamento já que os resultados não apresentaram interação entre si, apenas pode ser observado que o tratamento KCL+Sub4Salt® resultou positivo em duas ocasiões, contudo este resultado não pode ser utilizado para concluir que este tratamento tenha sido ineficiente quanto a inibição do crescimento deste microrganismo. A contaminação por *Salmonella* pode ser proveniente da matéria-prima ou ocorrer em vários estágios do processamento apesar disto, há uma maior probabilidade de contaminação nos abatedouros, que acabam por transferir-se aos produtos cárneos (Mürmann, dos Santos e Cardoso, 2009). Além desse fator, para produtos que passam por muitas etapas de manipulação, também é necessário levar em consideração a ocorrência de

contaminação cruzada no ambiente de produção, pela manipulação de produtos contaminados e ao longo da armazenagem (Boughton et al., 2004; Gomes-Neves et al., 2012).

Os esporos de clostrídeos sulfito redutores (ECSF) foram encontrados principalmente na primeira réplica, mais especificamente entre as chouriças com 16 dias de cura, onde o único tratamento com ausência de esporos de clostrídeos sulfito redutores foi o de NaCl+Sub4Salt®. Na segunda réplica a presença só foi constatada nas chouriças com 16 dias de cura, no controle e a com NaCl+Sub4Salt®.

Tabela 11 – Resultados obtidos nas pesquisas de *Salmonella*, contagem de ECSF e *Staphylococcus* coagulase positiva.

Réplica	Tempo de cura	Tratamento	Salmonella	ECSF	S. coagulase positiva
1	8 dias	NaCl 2%	negativo	ausente	ausente
		NaCl 1,5% + KCl 0,5%	negativo	ausente	ausente
		KCl 1,5% + Sub 0,5%	positivo	ausente	ausente
		NaCl 1,5% + Sub 0,5%	positivo	presente	ausente
	16 dias	NaCl 2%	negativo	presente	ausente
		NaCl 1,5% + KCl 0,5%	negativo	presente	ausente
		KCl 1,5% + Sub 0,5%	negativo	presente	ausente
		NaCl 1,5% + Sub 0,5%	negativo	ausente	ausente
2	8 dias	NaCl 2%	negativo	ausente	ausente
		NaCl 1,5% + KCl 0,5%	negativo	ausente	ausente
		KCl 1,5% + Sub 0,5%	negativo	ausente	ausente
		NaCl 1,5% + Sub 0,5%	negativo	ausente	ausente
	16 dias	NaCl 2%	negativo	presente	ausente
		NaCl 1,5% + KCl 0,5%	positivo	ausente	ausente
		KCl 1,5% + Sub 0,5%	positivo	ausente	ausente
		NaCl 1,5% + Sub 0,5%	negativo	presente	ausente

Legenda:

ECSF – Esporos de clostrídeos sulfito redutores.

S. coagulase positiva – *Staphylococcus* coagulase positiva.

Os esporos por possuírem grande resistência a tratamentos térmicos e ambientes desfavoráveis para crescimento de microrganismos, são de difícil eliminação, portanto a contaminação pode ter ocorrido, em qualquer lugar, desde a produção da matéria-prima até o armazenamento do produto.

Matos, Bruno-Soares e Azevedo (2013) em duas formulações de chouriça portuguesa observaram a presença de ECSF em ambas formulações avaliadas. No entanto, Campelos et al. (2016) obtiveram resultados negativos tanto para ECSF quanto para *Salmonella* e *S. aureus* em todas amostras analisadas. Da mesma forma, nas chouriças em estudo não foi encontrada a presença de *S. aureus* em nenhuma das amostras avaliadas, Ferreira et al. (2009) em sua caracterização da chouriça de Vinhais, obteve contagens de *S. aureus* abaixo de 1 log UFC/g.

A qualidade microbiológica da chouriça depende fortemente da higiene da produção e do controle dos processos realizados, Ferreira et al. (2009) avaliou chouriças de três diferentes produtores ao longo do processamento e os resultados indicaram que apenas um produtor foi capaz de obter contagens reduzidas, atribuídas à higiene e ao uso de matérias-primas de qualidade microbiológica garantida.

5 Conclusão

Com base nas condições experimentais e nos resultados obtidos, e tendo em conta os objetivos do trabalho, julgamos ser possível tirar as seguintes conclusões:

- O pH e a a_w das chouriças de carne não foram afetadas pelos níveis de substituição do NaCl. A a_w como indicador da qualidade e segurança alimentar do produto não se viu assim comprometida pela substituição do NaCl. Já o tempo de cura foi responsável por alterações no pH e na a_w das chouriças avaliadas, no entanto estas alterações não afetam a segurança alimentar do produto;
- A composição centesimal das chouriças não foi afetada pelos níveis de substituição de NaCl, com exceção do teor de umidade que se diferenciou entre os níveis de substituição de NaCl. A presença do mix comercial Sub4Salt® pode ser indicada como responsável pelo aumento na umidade das chouriças. O tempo de cura também resultou em alterações na umidade das chouriças;
- A substituição de NaCl não teve efeito no teor de TBARs, pelo não houve qualquer efeito no índice oxidativo do produto final;
- O único parâmetro da cor instrumental das chouriças avaliadas que foi afetado pela alteração do NaCl e pelo tempo de cura foi a luminosidade;
- A composição mineral não variou em relação ao tempo de cura e à substituição do NaCl, com exceção dos sais que foram propositalmente alterados;

- Quanto ao sódio, na formulação com 1,5% de KCl e 0,5% de Sub4Salt® foi obtida uma redução de 22,7%, na formulação com 1,5% de NaCl e 0,5% de KCl, foi observada uma redução de 16% e na formulação com 1,5% NaCl e 0,5% Sub4Salt® houve a redução de 8,7%.
- O nível máximo de redução obtido nas chouriças de carne de porco Bísaro permite a denominação de alimento reduzido em sódio, de acordo com o Regulamento (CE) N° 1924/2006;
- A qualidade microbiológica das chouriças não foi afetada pela substituição do NaCl, no entanto o tempo de cura de 8 dias apresentou elevada contagem de bolores e leveduras;
- A contagem de coliformes elevada na primeira réplica e a grande variação de valores poderão ser atribuídos às condições higiênicas durante produção e manipulação da chouriça;
- A *Salmonella* foi confirmada em três tratamentos, não sendo possível relacionar estes à presença deste patógeno por não haver correlações entre si;
- Os esporos de clostrídeos sulfito redutores foram encontrados em 37,5% das chouriças analisadas, devido à higiene do processamento ou contaminação cruzada;
- Em nenhuma das chouriças foi encontrada a presença de *Staphylococcus coagulase* positiva;

A redução de sal em chouriça de carne de porco Bísaro, com 8 e 16 dias de cura, pela substituição de NaCl por diferentes níveis de KCl e Sub4Salt® pode ser realizada de forma a não afetar negativamente suas características físico-químicas e microbiológicas, resultando numa redução até ao máximo de 22,7% de sódio, não comprometendo a qualidade do produto final.

6 Referências Bibliográficas

- Aaslyng, M. D., Vestergaard, C., & Koch, A. G. (2014). The effect of salt reduction on sensory quality and microbial growth in hotdog sausages, bacon, ham and salami. *Meat Science*, *96*(1), 47-55.
- Albuquerque, T. G., Santos, J., Silva, M. A., Oliveira, M. B. P., & Costa, H. S. (2018). An update on processed foods: Relationship between salt, saturated and trans fatty acids contents. *Food chemistry*, *267*, 75-82.
- Alcantara, M., de Moraes, I. C. L., de Matos, C., & de Souza, O. D. C. C. (2012). Principais Microrganismos envolvidos na deterioração das características sensoriais de derivados cárneos. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, *6*(1), 1-20.
- Aliño, M., Grau, R., Toldrá, F., & Barat, J. M. (2010). Physicochemical changes in dry-cured hams salted with potassium, calcium and magnesium chloride as a partial replacement for sodium chloride. *Meat Science*, *86*(2), 331-336.
- Almeida, I. F. M. D. (2009). *Caracterização preliminar do microbiota de enchidos tradicionais portugueses embalados em atmosferas protectoras* (Bachelor's thesis).
- Alves, S. P., Alfaia, C. M., Škrbić, B., Đurišić-Mladenović, N., Fernandes, M. J., Bessa, R. J., & Fraqueza, M. J. (2015). Tracing nutritional composition of dry fermented sausages from distinct origins. *Journal of food processing and preservation*, *39*(6), 2969-2978.
- António, D. R. (2014). *Importância da transformação de carne de suínos e processamento de produtos curados* (Doctoral dissertation).
- Barbosa, N. D. (2017). *Caracterização físico-química de Presuntos de porcos da raça Bísara com diferentes tempos de cura* (Doctoral dissertation).
- Bidlas, E., & Lambert, R. J. (2008). Comparing the antimicrobial effectiveness of NaCl and KCl with a view to salt/sodium replacement. *International Journal of Food Microbiology*, *124*(1), 98-102.
- Blesa, E., Aliño, M., Barat, J. M., Grau, R., Toldrá, F., & Pagán, M. J. (2008). Microbiology and physico-chemical changes of dry-cured ham during the post-salting stage as affected by partial replacement of NaCl by other salts. *Meat Science*, *78*(1-2), 135-142.
- Bou, R., Cofrades, S., & Jiménez-Colmenero, F. (2017). Fermented meat sausages. In *Fermented Foods in Health and Disease Prevention* (pp. 203-235). Academic Press.

-
- Boughton, C., Leonard, F. C., Egan, J., Kelly, G., O'mahony, P., Markey, B. K., & Griffin, M. (2004). Prevalence and number of Salmonella in Irish retail pork sausages. *Journal of food protection*, 67(9), 1834-1839.
- Cachaldora, A., Fonseca, S., Franco, I., & Carballo, J. (2013). Technological and safety characteristics of Staphylococcaceae isolated from Spanish traditional dry-cured sausages. *Food microbiology*, 33(1), 61-68.
- Campelos, M. I., Silva, J., Gibbs, P. A., & Teixeira, P. (2016). Contributing data for risk assessment of traditional fermented sausages: “Salpicão de Vinhais” and “Chouriça de Vinhais”. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 1131886.
- Cañeque, V., & Sañudo, C. (2005). *Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes* (No. 637.51 CAÑe).
- Carvalho, M. (2015a). Os suínos da raça Bísara—oportunidades e desafios. In *Livro de Atas do Congresso Ibérico de Raças Autóctones, Economia Local e Paisagem Rural* (pp. 61-63). Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.
- Carvalho, M. (2015b). Os suínos da raça Bísara e sustentabilidade do Mundo Rural. *Agricultura Familiar e Sustentabilidade dos Territórios Rurais*, 121-144.
- Casaburi, A., Aristoy, M. C., Cavella, S., Di Monaco, R., Ercolini, D., Toldrá, F., & Villani, F. (2007). Biochemical and sensory characteristics of traditional fermented sausages of Vallo di Diano (Southern Italy) as affected by the use of starter cultures. *Meat Science*, 76(2), 295-307.
- Charnpi, C., Van der Veken, D., Van Reckem, E., De Vuyst, L., & Leroy, F. (2020). Raw meat quality and salt levels affect the bacterial species diversity and community dynamics during the fermentation of pork mince. *Food Microbiology*, 89, 103434.
- Cheng, J. H., Wang, S. T., & Ockerman, H. W. (2007). Lipid oxidation and color change of salted pork patties. *Meat Science*, 75(1), 71-77.
- Cheung, P. C. K., & Mehta, B. M. (Eds.). (2015). *Handbook of food chemistry*. Springer Berlin Heidelberg, 472-506.
- Clavero, M. R., & Beuchat, L. R. (1996). Survival of Escherichia coli O157: H7 in broth and processed salami as influenced by pH, water activity, and temperature and suitability of media for its recovery. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62(8), 2735-2740.

-
- Cobos, Á., & Díaz, O. (2015). Chemical composition of meat and meat products. *Handbook of Food Chemistry*, 1-32.
- Corral, S., Salvador, A., & Flores, M. (2013). Salt reduction in slow fermented sausages affects the generation of aroma active compounds. *Meat science*, 93(3), 776-785.
- Costa, M. D. R., Bergamin Filho, W., Silveira, E. T. F., & Felício, P. E. D. (2008). Colour and texture profiles of boneless restructured dry-cured hams compared to traditional hams. *Scientia Agricola*, 65(2), 169-173.
- Costa, R. G. B., Sobral, D., Teodoro, V. A. M., Junior, L. C. G. C., de Paula, J. C. J., Landin, T. B., & de Oliveira, M. B. (2018). Sodium substitutes in Prato cheese: Impact on the physicochemical parameters, rheology aspects and sensory acceptance. *LWT*, 90, 643-649.
- Desmond, E. (2006). Reducing salt: A challenge for the meat industry. *Meat science*, 74(1), 188-196.
- Desmond, E., & Vasilopoulos, C. (2019). Reducing salt in meat and poultry products. In *Reducing salt in foods*. Woodhead Publishing, 159-183.
- Dias, C. I. B. (2018). *Avaliação microbiológica e físico-química de três tipos de enchidos com e sem a adição de aditivos alimentares* (Doctoral dissertation, Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária).
- Essary, E. O. (1979). Moisture, fat, protein and. Mineral content of mechanically deboned poultry meat. *Journal of Food Science*, 44(4), 1070-1073.
- Europeia, U. Regulamento (UE) n. 1151/2012 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 21 de novembro, relativo aos regimes de qualidade dos produtos agrícolas e dos géneros alimentícios. *Jornal Oficial da União Europeia L*, 343/1-29.
- Europeia, U. Regulamento (UE) n. 1441/2007 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 5 de Dezembro de 2007, que altera o Regulamento (CE) n.º 2073/2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. *Jornal Oficial da União Europeia L*, 322(12), 12-07.
- Europeia, U. Regulamento (UE) n. 1924/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 20 de Dezembro de 2006, relativo às alegações nutricionais e de saúde sobre os alimentos. *Jornal Oficial da União Europeia L*, 404(9).

-
- Europeia, U. Regulamento (UE) n. 853/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 29 de Abril de 2004 que estabelece regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal. *Jornal Oficial da União Europeia L*, 139(55), 04-29.
- Feitosa, T. (1999). Contaminação, conservação e alteração da carne. *Embrapa Agroindústria Tropical-Documentos (INFOTECA-E)*.
- Fernandes, A., Ribeiro, M. I., Cabo, P., & Matos, A. (2016). Consumo de enchidos DOP/IGP/ETG no concelho de Bragança, Portugal. *Revista Mundi Meio Ambiente e Agrárias*, 1(1), 4-23.
- Fernandez-Lopez, J., Sayas-Barberá, E., Pérez-Alvarez, J. A., & Aranda-Catalá, V. (2004). Effect of sodium chloride, sodium tripolyphosphate and pH on color properties of pork meat. *Color Research & Application: Endorsed by Inter-Society Color Council, The Colour Group (Great Britain), Canadian Society for Color, Color Science Association of Japan, Dutch Society for the Study of Color, The Swedish Colour Centre Foundation, Colour Society of Australia, Centre Français de la Couleur*, 29(1), 67-74.
- Ferreira, K. S., Gomes, J. C., & Chaves, J. B. P. (2005). Copper content of commonly consumed food in Brazil. *Food chemistry*, 92(1), 29-32.
- Ferreira, V., Barbosa, J., Silva, J., Gibbs, P., Hogg, T., & Teixeira, P. (2009). Microbiological profile of Salpicão de Vinhais and Chouriça de Vinhais from raw materials to final products: Traditional dry sausages produced in the North of Portugal. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(2), 279-283.
- Ferreira, V., Barbosa, J., Silva, J., Vendeiro, S., Mota, A., Silva, F., ... & Teixeira, P. (2007). Chemical and microbiological characterisation of “Salpicão de Vinhais” and “Chouriça de Vinhais”: Traditional dry sausages produced in the North of Portugal. *Food Microbiology*, 24(6), 618-623.
- Ferreira, W. F. C., & Sousa, J. C. F. (2010). Conceitos Gerais de Microbiologia. *Ferreira, WFC; Sousa, JCF e Lima, N. Microbiologia. Lisboa: Lidel*.
- Freitas, T. A., dos Santos, S. G. P., Gonçalves, C. A. A., dos Santos, B. A., Silva, M. S., Cichoski, A. J., & Campagnol, P. C. B. (2017). Utilization of flavor enhancers in hamburgers with replacement of 70% NaCl by KCl. *International Food Research Journal*, 24(1), 202.

-
- FSAI – Food Safety Authority of Ireland (2016). Salt and Health. In F. S. A. of Ireland (Ed.), Review of the scientific evidence and recommendations for public policy in Ireland (Revision 1).
- García-Íñiguez de Ciriano, M., Berasategi, I., Navarro-Blasco, Í., Astiasarán, I., & Ansorena, D. (2013). Reduction of sodium and increment of calcium and ω -3 polyunsaturated fatty acids in dry fermented sausages: effects on the mineral content, lipid profile and sensory quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(4), 876-881.
- Gimeno, O., Astiasarán, I., & Bello, J. (2001). Influence of partial replacement of NaCl with KCl and CaCl₂ on microbiological evolution of dry fermented sausages. *Food microbiology*, 18(3), 329-334.
- Gomes, A. M. C. L. (2017). Influência da tecnologia de produção na qualidade e segurança de produtos de salsicharia tradicional (Doctoral dissertation).
- Gomes, J. I. R. (2018). *Revisão e validação dos processos produtivos numa indústria de carnes processadas* (Doctoral dissertation).
- Gomes-Neves, E., Antunes, P., Tavares, A., Themudo, P., Cardoso, M. F., Gärtner, F., ... & Peixe, L. (2012). Salmonella cross-contamination in swine abattoirs in Portugal: carcasses, meat and meat handlers. *International journal of food microbiology*, 157(1), 82-87.
- Gómez, M., & Lorenzo, J. M. (2013). Effect of fat level on physicochemical, volatile compounds and sensory characteristics of dry-ripened “chorizo” from Celta pig breed. *Meat Science*, 95(3), 658-666.
- González-Tenorio, R., Fernández-Diez, A., Caro, I., & Mateo, J. (2012). Comparative Assessment of the Mineral Content of a Latin American Raw Sausage Made by Traditional or Non-Traditional Processes. *Atomic absorption spectroscopy*, 12.
- Gou, P., Guerrero, L., Gelabert, J., & Arnau, J. (1996). Potassium chloride, potassium lactate and glycine as sodium chloride substitutes in fermented sausages and in dry-cured pork loin. *Meat Science*, 42(1), 37-48.
- Graça, P. (2013). Estratégia para a redução do consumo de sal na alimentação em Portugal. *Direção Geral de Saúde, Lisboa*.
- Guàrdia, M. D., Guerrero, L., Gelabert, J., Gou, P., & Arnau, J. (2008). Sensory characterisation and consumer acceptability of small calibre fermented sausages with 50% substitution of NaCl by mixtures of KCl and potassium lactate. *Meat Science*, 80(4), 1225-1230.

-
- Guéraud, F., Atalay, M., Bresgen, N., Cipak, A., Eckl, P. M., Huc, L., ... & Uchida, K. (2010). Chemistry and biochemistry of lipid peroxidation products. *Free radical research*, *44*(10), 1098-1124.
- Herrero, A. M., Ordóñez, J. A., de Avila, R., Herranz, B., De la Hoz, L., & Cambero, M. I. (2007). Breaking strength of dry fermented sausages and their correlation with texture profile analysis (TPA) and physico-chemical characteristics. *Meat science*, *77*(3), 331-338.
- Hoffmann, W., Luzzi, G., Steffens, M., Clawin-Rädecker, I., Franz, C. M., & Fritsche, J. (2020). Salt reduction in film-ripened, semihard Edam cheese. *International Journal of Dairy Technology*, *73*(1), 270-282.
- Holck, A. L., Axelsson, L., Rode, T. M., Høy, M., Måge, I., Alvseike, O., ... & Heir, E. (2011). Reduction of verotoxigenic *Escherichia coli* in production of fermented sausages. *Meat science*, *89*(3), 286-295.
- Horita, C. N., Messias, V. C., Morgano, M. A., Hayakawa, F. M., & Pollonio, M. A. R. (2014). Textural, microstructural and sensory properties of reduced sodium frankfurter sausages containing mechanically deboned poultry meat and blends of chloride salts. *Food Research International*, *66*, 29-35.
- Horita, C. N., Morgano, M. A., Celeghini, R. M. S., & Pollonio, M. A. R. (2011). Physico-chemical and sensory properties of reduced-fat mortadella prepared with blends of calcium, magnesium and potassium chloride as partial substitutes for sodium chloride. *Meat science*, *89*(4), 426-433.
- Hugas, M., Garriga, M., Pascual, M., Aymerich, M. T., & Monfort, J. M. (2002). Enhancement of sakacin K activity against *Listeria monocytogenes* in fermented sausages with pepper or manganese as ingredients. *Food Microbiology*, *19*(5), 519-528.
- Hunt, M. C., King, A., Barbut, S., Clause, J., Cornforth, D., Hanson, D., ... & Pohlman, F. (2012). AMSA meat color measurement guidelines. *American Meat Science Association, Champaign, Illinois USA*, *61820*, 1-135.
- Hutton, T. (2002). Sodium Technological functions of salt in the manufacturing of food and drink products. *British Food Journal*, *104*(2), 126-152.
- IHME. (2018). Global Burden of Disease Compare. University of Washington: Institute for Health Metrics and Evaluation. Acessado em: 21 de Novembro de 2019.

-
- Inguglia, E. S., Zhang, Z., Tiwari, B. K., Kerry, J. P., & Burgess, C. M. (2017). Salt reduction strategies in processed meat products—A review. *Trends in Food Science & Technology*, 59, 70-78.
- INSA – Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge. (2018) Tabela de Composição de Alimentos. Disponível em: <http://www2.insa.pt/sites/INSA/Portugues/AreasCientificas/AlimentNutricao/AplicacoesOnline/TabelaAlimentos/Paginas/TabelaAlimentos.aspx>. Acessado em 20 de Março de 2020.
- Jungbunzlauer. (2016) Sub4Salt – For Tasty Low Sodium Products (Product Brochure).
- Kilcast, D., & Angus, F. (Eds.). (2007). *Reducing salt in foods: Practical strategies*. elsevier.
- Kim, G. D., Hur, S. J., Park, T. S., & Jin, S. K. (2018). Quality characteristics of fat-reduced emulsion-type pork sausage by partial substitution of sodium chloride with calcium chloride, potassium chloride and magnesium chloride. *LWT*, 89, 140-147.
- Kongkachuichai, R., Napatthalung, P., & Charoensiri, R. (2002). Heme and nonheme iron content of animal products commonly consumed in Thailand. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15(4), 389-398.
- Kotchen, T. A., Cowley Jr, A. W., & Frohlich, E. D. (2013). Salt in health and disease—a delicate balance. *New England Journal of Medicine*, 368(13), 1229-1237.
- Laranjo, M., Agulheiro-Santos, A. C., Potes, M. E., Cabrita, M. J., Garcia, R., Fraqueza, M. J., & Elias, M. (2015). Effects of genotype, salt content and calibre on quality of traditional dry-fermented sausages. *Food Control*, 56, 119-127.
- Leite, A., Oliveira, A., Amorim, A., Gonçalves, A., Paulos, K., Pereira, E., Rodrigues, S., Teixeira, A. (2015). In Porco Bísaro-Qualidade da carcaça e da carne. Ed. Alexandrina Fernandes/Alfredo Teixeira. *Quinta do Bísaro, Bragança, Portugal*. 81-95.
- Lilic, S., Brankovic, I., Koricanac, V., Vranic, D., Spalevic, L., Pavlovic, M., & Lakicevic, B. (2015). Reducing sodium chloride content in meat burgers by adding potassium chloride and onion. *Procedia Food Science*, 5, 164-167.
- Lopes, A., Teixeira, D., Calhau, C., Pestana, D., Padrão, P., & Graça, P. (2015). Ervas aromáticas: uma estratégia para a redução de sal na alimentação dos portugueses. *Direção Geral da Saúde, Lisboa*.

-
- Lopes, C., Torres, D., Oliveira, A., Severo, M., Alarcão, V., Guiomar, S., ... & Magalhães, V. (2017). Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física, IAN-AF 2015-2016: relatório de resultados.
- Lorenzo, J. M., & Franco, D. (2012). Fat effect on physico-chemical, microbial and textural changes through the manufactured of dry-cured foal sausage lipolysis, proteolysis and sensory properties. *Meat science*, 92(4), 704-714.
- Lorenzo, J. M., Bermúdez, R., Domínguez, R., Guiotto, A., Franco, D., & Purrinos, L. (2015). Physicochemical and microbial changes during the manufacturing process of dry-cured lacón salted with potassium, calcium and magnesium chloride as a partial replacement for sodium chloride. *Food Control*, 50, 763-769.
- Maneffa, A. J., Stenner, R., Matharu, A. S., Clark, J. H., Matubayasi, N., & Shimizu, S. (2017). Water activity in liquid food systems: A molecular scale interpretation. *Food chemistry*, 237, 1133-1138.
- Marcos, C., Viegas, C., de Almeida, A. M., & Guerra, M. M. (2016). Portuguese traditional sausages: different types, nutritional composition, and novel trends. *Journal of Ethnic Foods*, 3(1), 51-60.
- Marshall, M. R. (2010). Ash analysis. In *Food analysis* (pp. 105-115). Springer, Boston, MA.
- Matos, T. D. J. D. S., Bruno-Soares, A., & Azevedo, A. A. (2013). Microbial spoilage of portuguese chouriço along shelf life period. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(1), 105-108.
- Mendes, J. I. S. (2013). *Qualidade nutricional e microbiológica de enchidos* (Doctoral dissertation).
- Muguerza, E., Gimeno, O., Ansorena, D., & Astiasarán, I. (2004). New formulations for healthier dry fermented sausages: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 15(9), 452-457.
- Mürmann, L., dos Santos, M. C., & Cardoso, M. (2009). Prevalence, genetic characterization and antimicrobial resistance of Salmonella isolated from fresh pork sausages in Porto Alegre, Brazil. *Food Control*, 20(3), 191-195.
- Nascimento, R. D., Campagnol, P. C. B., Monteiro, E. S., & Pollonio, M. A. R. (2008). Substituição de cloreto de sódio por cloreto de potássio: influência sobre as características físico-químicas e sensoriais de salsichas. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, 18(3), 297-302.

-
- Norma Portuguesa (NP) 1614, 2002. Carne e produtos cárneos Determinação do teor de proteína – Método de referência. Instituto Português da Qualidade.
- Norma Portuguesa (NP) 1614, 2002. Carne e produtos cárneos Determinação do teor de humidade – Método de referência. Instituto Português da Qualidade.
- Norma Portuguesa (NP) 1615, 2002. Carne e produtos cárneos Determinação da cinza total – Método de referência. Ed. Instituto Português da Qualidade.
- Norma Portuguesa (NP) 1845, 1982. Carnes, derivados e produtos cárneos Determinação do teor de cloretos – Método corrente. Ed. Instituto Português da Qualidade.
- Norma Portuguesa (NP) 589, 2008. Chouriço de carne: definição, classificação, características e acondicionamento. Instituto Português da Qualidade.
- Norma Portuguesa (NP) 3356, 2009. Carne e produtos cárneos Determinação do índice de ácido tiobarbitúrico (TBA) – Método de referência. Instituto Português da Qualidade.
- Okrouhla, M., Stupka, R., Čítek, J., Šprysl, M., Trnka, M., & Kluzakova, E. (2009). Effect of lean meat proportion on the chemical composition of pork. *Czech Journal of Food Sciences*, 26(6), 464-469.
- Pretorius, B., & Schönfeldt, H. C. (2018). The contribution of processed pork meat products to total salt intake in the diet. *Food chemistry*, 238, 139-145.
- Raab, F. (2017). Sodium reduction made easy with Sub4Salt® cure and potassium lactates. Sodium Reduction made easy. Disponível em: <https://www.jungbunzlauer.com/en/services/downloads.html#c4790>. Acesso em 15 de Dezembro de 2019.
- Regulamento (EU) n°1169/2011 do Parlamento Europeu e do Conselho de 25 de Outubro de 2011 relativo à prestação de informação aos consumidores sobre os géneros alimentícios, que altera os Regulamentos (CE) n.o 1924/2006 e (CE) n.o 1925/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho e revoga as Directivas 87/250/CEE da Comissão, 90/496/CEE do Conselho, 1999/10/CE da Comissão, 2000/13/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, 2002/67/CE e 2008/5/CE da Comissão e o Regulamento (CE) n.o 608/2004 da Comissão
- Roberts, T. A., Tompkin, R. B., & Baird-Parker, A. C. (1996). *Microorganisms in foods 5: Microbiological specifications of food pathogens*. Chapman & Hall.
- Roça, R. O. (2009). Propriedade da Carne. Disponível em: <http://dgta.fca.unesp.br/docentes/roca/carnes/Roca105.pdf>. Acesso em 4 de Janeiro de 2020.

-
- Rodrigues, R. I. A. (2019). *Estudo de indicadores de qualidade da carne e do presunto do porco Bísaro* (Master's thesis).
- Ruusunen, M., & Puolanne, E. (2005). Reducing sodium intake from meat products. *Meat science*, 70(3), 531-541.
- Safa, H., Gatellier, P., Berdagué, J. L., Kondjoyan, N., Mercier, F., Portanguen, S., ... & Mirade, P. S. (2016). Physicochemical, biochemical and instrumental attributes and consumer acceptability of dry-fermented sausages elaborated with combined partial substitutions of sodium chloride and pork backfat. *Food and Nutrition Sciences*, 7, 1297-1314.
- Samapundo, S., Deschuyffeleer, N., Van Laere, D., De Leyn, I., & Devlieghere, F. (2010). Effect of NaCl reduction and replacement on the growth of fungi important to the spoilage of bread. *Food microbiology*, 27(6), 749-756.
- Santos, B. A., Campagnol, P. C. B., Fagundes, M. B., Wagner, R., & Pollonio, M. A. R. (2017). Adding blends of NaCl, KCl, and CaCl₂ to low-sodium dry fermented sausages: Effects on lipid oxidation on curing process and shelf life. *Journal of Food Quality*, 2017(8).
- Santos, M. I., Correia, C., Cunha, M. I. C., Saraiva, M. M., & Novais, M. R. (2005). Valores Guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração. *Revista da ordem dos Farmacêuticos*, 64, 66-68.
- Silva, M. V., & Couto, J. A. (2003). Segurança alimentar de produtos cárneos tradicionais, enchidos e produtos curados. *Porto: AESBUC/UCP*, 1-34.
- Stanley, R. E., Bower, C. G., & Sullivan, G. A. (2017). Influence of sodium chloride reduction and replacement with potassium chloride based salts on the sensory and physico-chemical characteristics of pork sausage patties. *Meat science*, 133, 36-42.
- Teixeira, A., Rodrigues, S., Dias, L. (2020). In *Catálogo de Productos Cárnicos Ibero Americanos*. Ed. Alfredo Teixeira. Rede CYTED – Healthy Meat, 159-181.
- Toldra, F. (1998). Proteolysis and lipolysis in flavour development of dry-cured meat products. *Meat science*, 49, S101-S110.
- Tomovic, V., Jokanovic, M., Sojic, B., Skaljic, S., Tasic, T., & Ikonc, P. (2015). Minerals in pork meat and edible offal. *Procedia food science*, 5, 293-295.
- Totosaus, A., & Perez-Chabela, M. L. (2009). Textural properties and microstructure of low-fat and sodium-reduced meat batters formulated with gellan gum and dicationic salts. *LWT-Food Science and Technology*, 42(2), 563-569.

-
- Trigo, M. J., Andrade, M. E., Veloso, M. G., & Barreto, A. (2003). Irradiation of raw portuguese sausages and meat based ready-to-eat meals. *Radiation processing for safe, shelf-stable and ready-to-eat food*, 198.
- VIDAL, V. A. S., PAGLARINI, C. D. S., FERREIRA, A., SANTOS, J. R. D., & POLLONIO, M. A. R. (2019). Influence of the addition of KCl and CaCl₂ blends on the physicochemical parameters of salted meat products throughout the processing steps. *Food Science and Technology*, (AHEAD).
- Wenjiao, F., Yongkui, Z., Yunchuan, C., Junxiu, S., & Yuwen, Y. (2014). TBARS predictive models of pork sausages stored at different temperatures. *Meat science*, 96(1), 1-4.
- WHO. (2012). Guideline: Sodium intake for adults and children.
- World Health Organization. (2013). *Health 2020: a European policy framework and strategy for the 21st century*. World Health Organization. Regional Office for Europe.
- WHO. (2016). Salt Reduction. Retrieved 12, Dezembro, 2019
- Wijnker, J. J., Weerts, E. A. W. S., Breukink, E. J., Houben, J. H., & Lipman, L. J. A. (2011). Reduction of Clostridium sporogenes spore outgrowth in natural sausage casings using nisin. *Food microbiology*, 28(5), 974-979.
- Zanandrea, G., Priesnitz, M. C., dos Santos Dullius, A. I., Menegotto, M. L. A., Camargo, M. E., Russo, S. L., & Fabris, J. P. (2018). Produtos Tradicionais Portugueses: Indicação Geográfica. *Revista GEINTEC-Gestão, Inovação e Tecnologias*, 8(1), 4250-4258.
- Zanardi, E., Ghidini, S., Conter, M., & Ianieri, A. (2010). Mineral composition of Italian salami and effect of NaCl partial replacement on compositional, physico-chemical and sensory parameters. *Meat Science*, 86(3), 742-747.