

Efeito da redução de nitrito de sódio em consonância com o Regulamento (CE) N° 2108 de 2023 na estabilidade e segurança de produtos cárneos

Carolina de Oliveira Diniz

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em

Engenharia Alimentar

Orientador: Teresa de Jesus da Silva Matos Nolasco Crespo

Mentor: Vitória Maria D'Orey Branco Barreiros dos Reis

Júri:

Presidente: Doutora Anabela Cristina da Silva Naret Moreira Raymundo, Professora Associada com Agregação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Vogais: Doutora Marília Catarina Leal Fazeres Ferreira, Professora Auxiliar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa;

Doutora Teresa de Jesus da Silva Matos Nolasco Crespo, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Agradecimentos

Termina assim um dos principais capítulos da minha vida até agora. Foram 5 anos repletos de alegrias, frustrações e sonhos que em breve se tornarão realidade.

Para conseguir fechar este capítulo, e como nada se consegue sozinho, precisei de muita ajuda (mesmo quando essa ajuda era um simples sorriso).

Desta forma, gostaria de agradecer à Instituição onde passei mais tempo que em casa, ao ISA, e a todos os professores e colegas que me acompanharam nesta caminhada. Nomeadamente, a uma das pessoas que mais me ajudou para que este trabalho chegasse a bom porto, a professora Teresa, por quem eu guardarei a maior estima e admiração

À Mariana, à Mafalda e à Lisa, que durante estes 5 anos caminharam lado a lado comigo, me deram colo e amor (e muitos trabalhos de grupo).

Ao Grupo Montalva, um agradecimento profundo por me acolherem ao longo de 6 meses e me proporcionarem o ambiente ideal para crescer e aprender. Especialmente às equipas de Qualidade e Investigação e Desenvolvimento, que me ajudaram, ensinaram, e apoiaram muito. Obrigada Carolina, Joana, Filipa, Ermesinda, Fátima e Liane. Em particular à Engenheira Vitória, por me desafiar e inspirar.

A todos os meus amigos do coração, que ouviram as minhas lamúrias e frustrações, obrigada não chega. Quando chegava mais em baixo, ou quando desaparecia por uns tempos porque estava enterrada na tese, obrigada por nunca deixarem de acreditar. Obrigada Mariana, Lili, Miguel, Mari, Marta, Mati e Duarte.

Ao meu namorado, que me acompanhou desde o dia 1 deste processo chamado “escrever uma tese”. Nos dias mais desafiantes do estágio, ou nos dias mais assustadores de escrita, estava à distância de uma mensagem e nunca me deixou desistir (mesmo quando eu achava que era a única solução). Obrigada por tudo, Johnny.

E finalmente, porque o melhor fica para o fim, à minha família. Desde o início da Licenciatura até ao fim do Mestrado, sempre fizeram tudo por mim. Quando as coisas corriam mal, o colo da mãe parecia curar tudo, e cura mesmo. Obrigada mãe e pai por serem o meu porto de abrigo, ampararem todas as minhas quedas e acreditarem que serei sempre capaz. Aos meus avós, que torcem muito por mim e me deliciam com as suas palavras sábias. Sem esquecer o meu irmão que, ao desafiar a minha paciência, me prepara para encarar o mundo lá fora.

Sei que ias ficar muito orgulhosa de mim, avó...

Resumo

O processamento de alimentos desempenhou um papel crucial no aumento da procura por produtos cárneos, permitindo estender a vida útil dos mesmos, reduzindo perdas e desperdícios alimentares. No entanto, os consumidores, atualmente, concentram-se em aspetos para além destas conquistas uma vez que estão preocupados com o uso de ingredientes artificiais e aditivos alimentares.

O objetivo do presente trabalho consistiu em estudar o efeito da redução de nitrito de sódio, em consonância com o Regulamento (UE) nº2108 (2023), na estabilidade e segurança de produtos cárneos processados, nomeadamente, fiambre da perna, salsicha tipo frankfurt e chouriço corrente. As fórmulas originais destes produtos foram ajustadas, de modo a reduzir o seu conteúdo em nitrito de sódio. Após a produção dos novos produtos, procedeu-se à recolha de amostras (amostras “Teste”), bem como de amostras de produtos com as fórmulas originais (amostras “Controlo”), de forma a realizar análises microbiológicas ao longo do prazo de validade dos produtos (Contagem de esporos de *clostridium* spp. sulfito-redutores, bactérias ácido-láticas a 30°C, *E. coli* β -glucuronidase positiva, Microrganismos a 30°C, *Enterobacteriaceae*, *Estafilococos coagulase* positiva, Bolores e Leveduras, *Listeria monocytogenes*, pesquisa de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*), à exceção das salsichas tipo frankfurt, que se estabeleceu um prazo de 7 dias, com diferentes temperaturas de incubação (37°C, 55°C e temperatura ambiente), após o qual as amostras de produto foram sujeitas às mesmas análises microbiológicas que os restantes produtos, bem como a provas de estabilidade e esterilidade (NP 4401-1, 2002; NP 2309-1, 1988).

Os resultados destas análises indicaram que a estabilidade das amostras de salsicha tipo frankfurt não foram afetadas, ao contrário das amostras de fiambre da perna, em que as amostras “Teste” revelaram Leveduras na terceira (T3) ($1,8 \pm 0,7$ Log UFC/g) e quarta (T4) semanas ($2,2 \pm 2$ Log UFC/g), e também no chouriço corrente, onde as amostras “Teste” apresentaram, a partir do primeiro mês (T1), valores médios elevados ($1,8 \pm 0,7$ Log UFC/g). Em ambos os casos, a segurança dos produtos revelou-se comprometida antes do termo do prazo de validade (30 dias e 90 dias, respetivamente). Neste contexto, foi possível concluir que apenas as salsichas tipo frankfurt não foram afetadas pela redução de nitrito de sódio, pelo que esta redução poderá ser implementada na indústria sem comprometer a segurança do produto durante o seu período de vida útil.

Palavras-chave: Nitrito de sódio, Produtos cárneos processados, Análises Microbiológicas, Estabilidade.

Abstract

Food processing has played a crucial role by increasing the demand for meat products, allowing an extension of shelf life and reducing food loss and waste. However, consumers are now focusing on aspects beyond these achievements, as they are concerned about the use of artificial ingredients and food additives.

The aim of this study was to investigate the effect of reducing sodium nitrite, in accordance with Regulation (EU) n°2108 (2023), on the stability and safety of processed meat products, specifically, Cooked Leg Ham, Frankfurt-type Sausages, and Chouriço. The original formulas of these products were adjusted to reduce their sodium nitrite content. After producing the new products, samples were collected (referred as "Test" samples), along with samples of the original products (referred as "Control" samples), to conduct microbiological analyses throughout the products' shelf life (Spores of *Clostridium* spp. sulfite-reducing bacteria, Lactic Acid Bacteria at 30°C, *E. coli* β -glucuronidase, Microorganisms at 30°C, *Enterobacteriaceae*, *Coagulase* positive *Staphylococci*, Molds and Yeasts, *Listeria monocytogenes*, testing for *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes*). An exception was made for the Frankfurt-type Sausages, which had a testing period of 7 days, with different incubation temperatures (37°C, 55°C, and room temperature), after which the product samples underwent the same microbiological analyses as the other products, as well as stability and sterility tests (NP 4401-1, 2002; NP 2309-1, 1988).

The results of these analyses indicated that the stability of the Frankfurt-type Sausage samples was not affected, unlike the Cooked Leg Ham samples, where the "Test" samples revealed Yeasts in the third (T3) (1.8 ± 0.7 Log CFU/g) and fourth (T4) weeks (2.2 ± 2 Log CFU/g). Similarly, in the Chouriço, the "Test" samples showed elevated average values (1.8 ± 0.7 Log CFU/g) starting from the first month (T1). In both cases, the safety of these products was compromised before their expiration dates (30 days and 90 days, respectively). In this context, it was concluded that only the Frankfurt-type Sausages were unaffected by the reduction of sodium nitrite, indicating that this reduction can be implemented in the industry without compromising product safety during its shelf life.

Key-words: Sodium nitrite, Processed meat products, Microbiological analyses, Stability.

Índice

Agradecimentos	ii
Resumo	iii
Abstract	iv
Lista de Tabelas	vii
Lista de Figuras	ix
1. Introdução	1
1.1. Produtos cárneos processados	3
1.1.1. Pasteurizados (fiambres).....	3
1.1.2. Emulsões cárneas	5
1.1.3. Fumados	6
1.2. Aditivos alimentares mais utilizados em produtos cárneos	7
1.2.1. Nitrito de sódio em produtos cárneos.....	10
1.2.2. Regulamentação afeta à utilização de nitrito de sódio	13
1.2.3. Efeito da utilização de nitrito de sódio na saúde humana.....	21
1.3. Estabilidade e segurança dos produtos cárneos	22
2. Material e Métodos	24
2.1. IZIDORO (Monte D’Alva, S.A.)	24
2.2. Processamento tecnológico.....	25
2.2.1. Fiambre da perna	25
2.2.2. Salsicha tipo frankfurt	28
2.2.3. Chouriço corrente	32
2.3. Formulações dos produtos antes e após redução do teor de nitrito de sódio.....	34
2.3.1. Fiambre da perna	34
2.3.2. Salsicha tipo frankfurt	37
2.3.3. Chouriço corrente	39
2.4. Amostragem.....	41
2.5. Análises microbiológicas	43

2.6.	Ensaaios de estabilidade.....	45
2.6.1.	Fiambre da perna	45
2.6.2.	Salsicha tipo frankfurt	45
2.6.3.	Chouriço corrente	46
3.	Resultados.....	46
3.1.	Ensaaios de estabilidade.....	46
4.	Conclusões e Perspetivas futuras	57
5.	Referências Bibliográficas	58

Lista de Tabelas

Tabela 1. Aditivos frequentemente utilizados em produtos cárneos.....	9
Tabela 2. Categoria 08.2 – Preparados de carne (na aceção do Regulamento (UE) nº 853, 2004) – Exemplos: lombos injetados (Regulamento (UE) nº 2108, 2023; Regulamento (UE) nº 1333, 2008).....	16
Tabela 3. Categoria 08.3.1 - Produtos à base de carne não submetidos a tratamento térmico – Exemplos: fumados/curados sem tratamento térmico - chouriço, chouriço castelhano e salame (Regulamento (UE) nº 2108, 2023; Regulamento (UE) nº 1333, 2008).	17
Tabela 4. Categoria 08.3.2 - Produtos à base de carne submetidos a tratamento térmico – Exemplos: gama de fiambres e fumados, salsichas a vácuo ou a gás (Regulamento (UE) nº 2108, 2023; Regulamento (UE) nº 1333, 2008).	18
Tabela 5. Categoria 08.3.2 - Produtos à base de carne submetidos a tratamento térmico – Exemplos: gama de salsichas esterilizadas (latas e frascos), refeições prontas (Regulamento (UE) nº 2108, 2023; Regulamento (UE) nº 1333, 2008).	19
Tabela 6. Categoria 08.3.4.2 - Produtos tradicionais curados a seco – Exemplos: presunto, charcutaria curada (Regulamento (UE) nº 2108, 2023; Regulamento (UE) nº 1333, 2008).	20
Tabela 7. Temperatura, tempo e pressão dos processos de aquecimento, esterilização e arrefecimento.....	31
Tabela 8. Fórmula original do fiambre da perna.....	34
Tabela 9. Nova fórmula do fiambre da perna, com a quantidade de nitrito de sódio que respeita o novo Regulamento (UE) nº 2108, 2023.	35
Tabela 10. Fórmula original da salsicha tipo frankfurt.	37
Tabela 11. Nova fórmula da salsicha tipo frankfurt, com a quantidade de nitrito de sódio que respeita novo Regulamento (UE) nº 2108, 2023.	38
Tabela 12. Fórmula original de chouriço corrente.	39
Tabela 13. Nova fórmula de chouriço corrente com acerto na quantidade nitrito de sódio da fórmula original no que concerne o Regulamento (UE) nº1333, 2008.	40
Tabela 14. Nova fórmula de chouriço corrente, com a quantidade de nitrito de sódio que respeita o novo Regulamento (UE) nº 2108, 2023.	41
Tabela 15. Prazo estabelecido e número de amostras “Controlo” e “Teste” para as análises microbiológicas de fiambre da perna (T0- Tempo 0; T1- 1 semana; T2- 2 semanas; T3- 3 semanas; T4- 4 semanas; T5- 5 semanas; T6- 6 semanas; T7- 7 semanas; T8- 8 semanas).	42

Tabela 16. Prazo estabelecido e número de amostras “Controlo” e “Teste” para as análises microbiológicas de chouriço corrente (T0- Tempo 0; T1- 1 mês; T2- 2 meses; T3- 3 meses; T4- 4 meses).....	43
Tabela 17. Análises microbiológicas efetuadas nas amostras “Controlo” e “Teste” de fiambre da perna, salsicha tipo frankfurt e chouriço corrente.	44
Tabela 18. Provas de estabilidade efetuadas nas amostras “Controlo” e “Teste” de salsicha tipo frankfurt.	46
Tabela 19. Resultados das provas de estabilidade ao fim de 7 dias a 37°C e 55°C das amostras Controlo (sem redução do teor de nitrito de sódio e de acordo com o Regulamento (UE) n.º 1333, 2008) e Teste (com redução do teor de nitrito de sódio e de acordo com o Regulamento (UE) nº 2108, 2023) das salsichas tipo frankfurt.	52
Tabela 20. Resultados das provas de esterilidade ao fim de 7 dias a 37°C e 55°C das amostras Controlo (sem redução do teor de nitrito de sódio e de acordo com o Regulamento (UE) n.º 1333, 2008) e Teste (com redução do teor de nitrito de sódio e de acordo com o Regulamento (UE) nº 2108, 2023) das salsichas tipo frankfurt.	56

Lista de Figuras

Figura 1. Fluxograma do processo tecnológico do produto fiambre da perna.....	26
Figura 2. Fluxograma do processo tecnológico do produto salsicha tipo frankfurt.....	30
Figura 3. Gráfico do binómio tempo/temperatura resultante do processo de esterilização numa autoclave.	31
Figura 4. Fluxograma do processo tecnológico do produto chouriço corrente.	33
Figura 5. Resultados das análises microbiológicas de fiambre da perna com redução de nitrito de sódio, ao longo do prazo de validade ($X \pm$ desvio-padrão; n=3) (T0- Tempo 0; T1- 1 semana; T2- 2 semanas; T3- 3 semanas; T4- 4 semanas; T5- 5 semanas; T6- 6 semanas; T7- 7 semanas; T8- 8 semanas). Controlo: amostras de produto sem redução do teor de nitrito de sódio (Regulamento (UE) n.º 1333, 2008); Teste: amostras de produto com a redução do teor de nitrito de sódio (Regulamento (UE) nº 2108, 2023) (A - <i>Clostridium</i> spp. sulfito-redutores; B - Bactérias Ácido-Láticas a 30°C; C - <i>E. coli</i> β -glucuronidase positiva; D - Microrganismos a 30°C; E – <i>Enterobacteriaceae</i> ; F - <i>Estafilococos coagulase</i> positiva; G – Bolores; H – Leveduras; I – Bolores e Leveduras; J - <i>Listeria monocytogenes</i>).	50
Figura 6. Resultados das análises microbiológicas do chouriço corrente com redução de nitrito de sódio, ao longo do prazo de validade ($X \pm$ desvio-padrão; n=3) (T0- Tempo 0; T1- 1 mês; T2- 2 meses; T3- 3 meses; T4- 4 meses). Controlo: amostras de produto sem redução do teor de nitrito de sódio (Regulamento (UE) n.º 1333, 2008); Teste: amostras de produto com a redução do teor de nitrito de sódio (Regulamento (UE) nº 2108, 2023) (A - <i>Clostridium</i> spp. sulfito-redutores; B - Bactérias Ácido-Láticas a 30°C; C - <i>E. coli</i> β -glucuronidase positiva; D - Microrganismos a 30°C; E – <i>Enterobacteriaceae</i> ; F - <i>Estafilococos coagulase</i> positiva; G – Bolores; H – Leveduras; I – Bolores e Leveduras; J - <i>Listeria monocytogenes</i>).	51
Figura 7. Resultado das análises microbiológicas, após incubadas durante 7 dias à temperatura ambiente, Controlo (sem redução do teor de nitrito de sódio e de acordo com o Regulamento (UE) n.º 1333, 2008) e Teste (com redução do teor de nitrito de sódio e de acordo com o Regulamento (UE) nº 2108, 2023) das salsichas tipo frankfurt.	53
Figura 8. Resultado das análises microbiológicas, após incubadas durante 7 dias a 37°C, Controlo (sem redução do teor de nitrito de sódio e de acordo com o Regulamento (UE) n.º 1333, 2008) e Teste (com redução do teor de nitrito de sódio e de acordo com o Regulamento (UE) nº 2108, 2023) das salsichas tipo frankfurt.	54

Figura 9. Resultado das análises microbiológicas, após incubadas durante 7 dias a 55°C, Controlo (sem redução do teor de nitrito de sódio e de acordo com o Regulamento (UE) n.º 1333, 2008) e Teste (com redução do teor de nitrito de sódio e de acordo com o Regulamento (UE) n.º 2108, 2023) das salsichas tipo frankfurt. 55

1. Introdução

Caminhamos para um futuro em que o consumo de carne deve ser cada vez menor, quer por questões de saúde, quer por questões ambientais. No entanto, esse consumo continua a aumentar globalmente, devido ao aumento exponencial da população (Jakobsen & Hansen, 2020). O aumento da procura por carne e produtos cárneos deve-se ao crescimento da população e maior poder de compra, bem como à procura, por parte dos consumidores, por alimentos ricos nutricionalmente, isto porque a carne e os produtos cárneos contribuem com cerca de 20 a 40% das proteínas da dieta e são ricos em vitaminas, minerais e ácidos gordos essenciais (Nethra et al., 2023).

O processamento de alimentos desempenhou um papel crucial no aumento da procura por produtos cárneos, pois permitiu estender a vida útil dos mesmos, reduzindo perdas e desperdícios alimentares, além de melhorar a disponibilidade e a composição nutricional. No entanto, a perceção do consumidor, atualmente, concentra-se em aspetos para além destas conquistas, uma vez que estão preocupados com o uso intensivo de pesticidas nas práticas agrícolas convencionais e intensivas e o uso de ingredientes artificiais e aditivos alimentares. Consequentemente, os consumidores consciencializaram-se dos efeitos adversos para a saúde associados a este sistema alimentar (Arokiyaraj et al., 2024).

As tendências associadas à saúde e à sustentabilidade levaram os consumidores a questionarem-se sobre os componentes utilizados nos produtos alimentares que consomem no seu dia a dia. Desta forma, uma nova tendência de produtos alimentares emergiu, denominada *clean label* (rótulo limpo) (Asioli et al., 2017). Esta procura por produtos mais *clean*, está relacionada com a consciencialização da sociedade dos riscos associados aos produtos processados, destacando-se os aditivos alimentares como principal foco de preocupação (Maruyama et al., 2021).

Os aditivos alimentares são substâncias adicionadas principalmente a alimentos processados, que apresentam como principal objetivo, melhorar a segurança, aumentar o tempo de armazenamento do alimento ou modificar as propriedades sensoriais do mesmo (Zhou et al., 2023). Desta forma, os aditivos são incorporados nos produtos cárneos para prolongar o período de armazenamento em refrigeração, que é o método mais comum para preservar este tipo de produtos (Bernardo et al., 2021).

Um dos principais aditivos utilizados nos produtos cárneos processados é o nitrito de sódio (Stoica et al., 2022), com o código europeu E 250. Os números E são códigos usados para identificar aditivos alimentares na União Europeia (UE). Esses números foram demonstrados seguros e são oficialmente aprovados para uso em alimentos em toda a UE (Regulamento (UE) nº 1333, 2008).

Com base na sua função, este aditivo é classificado como conservante, uma vez que retarda a decomposição causada pela exposição ao ar, a bactérias e a fungos (Zhou et al., 2023). No entanto, estes compostos têm sido objeto de vários estudos, que apontam para impactos negativos na saúde humana (Shakil et al., 2022), uma vez que possuem propriedades carcinogénicas e tóxicas (Jayasena & Jo, 2013). As propriedades tóxicas atribuídas ao nitrito devem-se à sua capacidade de mediar a formação de compostos N-nitrosos, como nitrosaminas e nitrosamidas, que podem apresentar ação carcinogénica (Demeyer et al., 2016).

Todos estes fatores, resultaram numa revisão dos níveis atuais de nitrato e nitrito permitidos no fabrico de produtos cárneos. A União Europeia estabeleceu novos limites máximos para a utilização de nitratos e nitritos na Indústria Alimentar, através do Regulamento Europeu (UE) nº 2108 (2023), substituindo os limites estabelecidos no anterior Regulamento Europeu (EU) nº 1333 (2008). Pelo que, a redução ou eliminação do uso de nitrito passou a ser uma questão-chave para a Indústria. No entanto, esta redução pode ser extremamente desafiante. O nitrito de sódio desempenha um papel essencial na produção de produtos cárneos processados, uma vez que previne e reduz o crescimento de bactérias patogénicas (como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp.), aumenta o período de vida útil, limita a oxidação e contribui para a cor e o sabor dos produtos processados (Guéraud et al., 2023). O principal objetivo da utilização do nitrito está associado, então, à sua função como conservante. A suscetibilidade dos produtos cárneos à contaminação nas distintas etapas da cadeia de produção, desde a preparação, armazenamento e distribuição, obriga a utilização deste tipo de aditivos (Jayasena & Jo, 2013). Fatores como a higiene e temperatura de armazenamento são cruciais para preservação das características esperadas por parte do consumidor, no momento da compra destes produtos (Dave & Ghaly, 2011). Assim sendo, avaliar o efeito da redução deste tipo de aditivos, ou mesmo a sua eliminação, nos diferentes produtos cárneos processados é inadiável, já que aspetos como a durabilidade dos produtos podem estar em causa.

Neste contexto, este estudo, teve como objetivo avaliar o efeito da redução de nitrito de sódio na estabilidade e segurança dos produtos cárneos processados de 150 mg/kg produto acabado para 80 mg/kg produto acabado, adicionados para fiambre da perna e chouriço corrente, e 100 mg/kg produto acabado para 55 mg/kg produto acabado, adicionados para salsicha tipo frankfurt, durante o seu prazo de validade.

1.1. Produtos cárneos processados

A legislação europeia sobre higiene da carne, Regulamento (UE) nº 853 (2004), define como carne os músculos esqueléticos provenientes de espécies animais especificadas, podendo incluir vísceras comestíveis especificadas e sangue. Por outro lado, carne processada caracteriza-se como carne que foi transformada através de métodos como salga, fumo, cura, cozedura, fermentação ou pela adição de conservantes químicos, com o objetivo de promover o sabor e melhorar a conservação e segurança do produto final (Crowe et al., 2019).

Toda a carne é processada, tal como a maioria dos produtos que consumimos diariamente (Giromini e Givens, 2022). O termo processado é utilizado logo assim que se promove o ato de alterar fisicamente qualquer alimento ou bebida. Isto porque, toda a carne deve ser preparada antes do consumo, de modo a valorizar o valor digestivo e nutritivo da mesma (Lofgren, 2013). Assim sendo, denominações como carne minimamente processada referem-se a produtos cárneos ainda crus, que foram minimamente alterados, com cortes ou picagens. Neste tipo de produtos, não são utilizados quaisquer aditivos ou conservantes, como é o caso de bifes e hambúrgueres que contenham apenas carne (Arokiyaraj et al., 2024).

Posto isto, durante o processamento, podem ser adicionados outros tipos de carne, bem como gordura animal, juntamente com uma ampla variedade de substâncias não cárneas e aditivos, dando origem a produtos mais complexos (Giromini e Givens, 2022).

Bem conhecidos pelos consumidores, os produtos cárneos processados existentes encontram-se na forma de fiambre, salsicha, chouriço (diversos), presunto, bacon, pepperoni, salame, preparados de carne, carne seca e patês de carne (Lofgren, 2013).

1.1.1. Pasteurizados (fiambres)

A aplicação de temperaturas para reduzir ou destruir a atividade microbiana e enzimática, é o princípio do processamento e tratamento térmico dos alimentos. Ora, a pasteurização é um dos tratamentos térmicos mais utilizados, onde os alimentos ou bebidas são aquecidos a temperaturas inferiores a 100°C, de forma a eliminar ou reduzir o número de organismos que deterioram o produto final (Lyng et al., 2019).

Quanto aos microrganismos eliminados pela pasteurização, estão incluídos a *Salmonella*, *Listeria*, *Campylobacter* e *Escherichia coli*. No entanto, é importante realçar que a exposição ao calor é relativamente suave, de modo a preservar as qualidades sensoriais e nutricionais dos alimentos. Os parâmetros da pasteurização não são projetados para destruir todos os organismos. Portanto, os produtos pasteurizados devem ser utilizados em conjunto com outros métodos de preservação, como a

refrigeração (Lyng et al., 2019). São exemplos destes, os inúmeros produtos cárneos processados, sendo um dos mais prestigiados o fiambre.

De acordo com a Norma Portuguesa NP 4393 (2023), entende-se por fiambre o produto à base de carne, preparado exclusivamente a partir de carne de suíno, salmourada, prensada ou não em moldes e posteriormente submetida a tratamento térmico. Segundo a mesma norma, o produto em causa apresenta uma estrutura muscular da carne identificável. O fiambre pode ser obtido a partir da perna ou da pá de suíno, assim como outros condimentos e aditivos devidamente autorizados, resultando um bloco com configurações distintas ou em forma de fatias. No momento do corte, este deve apresentar uma superfície húmida, rosada, de textura compacta e cheiro e sabor característicos (Lidon e Silvestre, 2007). Quanto à produção de fiambre, existem duas formas distintas: fiambre produzido a partir de carne triturada ou fiambre produzido com músculo inteiro. Relativamente ao fiambre produzido a partir de carne triturada, é possível identificar algumas vantagens, nomeadamente o aumento da superfície de contato que, por sua vez, irá proporcionar maior absorção de salmoura e formação da cor (Pérez et al., 2023).

A pasteurização é um tratamento térmico bastante utilizado na indústria alimentar por apresentar uma elevada eficiência (Ambrosoli et al., 2007). Este tratamento tem como objetivo eliminar as formas vegetativas de microrganismos patogénicos com baixa resistência térmica e reduzir os restantes microrganismos para níveis mínimos, com o objetivo de tornar o produto mais seguro e com uma vida útil superior (Lyng et al., 2019). Dependendo do produto em questão, existem dois tipos de pasteurização: uma pasteurização que ocorre a elevadas temperaturas durante um curto período, para destruir os microrganismos patogénicos (*High Temperature Short Time Treatment - HTST*); ou uma pasteurização que utiliza baixas temperaturas por um longo período (*Low Temperature Long Time Treatment - LTLT*) (Ambrosoli et al., 2007). Contudo, o tempo e a temperatura a serem utilizados depende do tipo de alimento e do resultado que se quer obter ao nível dos nutrientes, da cor, textura, sabor e aroma (Lyng et al., 2019). Por fim, é necessário validar o processo, nomeadamente através da determinação do tempo que o produto demora para atingir a temperatura pretendida no seu centro térmico que, por sua vez, irá depender das propriedades de transferência de calor do alimento, da embalagem e do meio de aquecimento utilizado (vapor, água ou ar) (Azizi-Lalabadi et al., 2023).

1.1.2. Emulsões cárneas

Segundo a NP 724 (2006), a salsicha tipo Frankfurt, define-se como um “produto cozido, fumado, de pasta fina e homogénea, de formato cilíndrico, com diâmetro entre 12 mm e 25 mm, constituído por carne e gordura de suíno e, facultativamente, carne de bovino e carne de aves, adicionadas de condimentos e aditivos autorizados”. Também pode denominar-se por emulsão cárnea, uma vez que apresenta uma fase dispersa, que contém gordura, constituída por mono, di e triagliceróis, ácidos gordos livres, vitaminas lipossolúveis e uma fase dispersante constituída por água e componentes hidrossolúveis (Álvarez et al., 2007).

As emulsões cárneas caracterizam-se por misturas de carne finamente moída, compostas por água, proteína, gordura, sal e outros ingredientes. Uma das etapas mais importantes na produção de emulsões de carne é a picagem. Sendo que, durante este processo, as matérias-primas cruas são trituradas intensivamente, numa picadora, com o intuito de reduzir o tamanho das partículas e, desta forma, obter uma emulsão estável e homogénea (Álvarez et al., 2007). Durante a fase final do processamento térmico, quando a temperatura atinge os 75°C, o colagénio é transformado em gelatina, e as proteínas miofibrilares coagulam, resultando numa redução significativa na capacidade de retenção de água por parte das proteínas. A desnaturação por parte das proteínas solúveis em sal, após a cozedura, transforma a emulsão numa matriz de gel viscoelástico (Serdaroğlu et al., 2016).

As proteínas da carne têm o papel de agente emulsificante natural, numa emulsão cárnea. De modo a formar uma emulsão estável, essas proteínas devem envolver as partículas de gordura, antes da cozedura. A proteína mais importante para a emulsificação de gordura e capacidade de retenção de água das carnes processadas, denomina-se miosina. Esta proteína tem o poder de se ligar à interface óleo-água, durante as etapas de emulsificação. Assim, a estabilidade da emulsão aumenta, à medida que o tamanho das partículas de gordura diminui, durante o processo de picagem (Álvarez et al., 2007). No entanto, é necessário que haja proteína suficiente para revestir todas as partículas de gordura. Desde modo, o aumento da temperatura da emulsão, durante o processo de picagem, provoca uma diminuição da tensão superficial das partículas de gordura (Ursachi et al., 2020). Essa diminuição beneficia o processo de redução das partículas, aumentando rapidamente a área superficial das partículas de gordura, sendo necessária mais proteína de modo a envolver os glóbulos de gordura. Logo, promover o aumento o revestimento das partículas de gordura requer a adição de amido e proteínas não cárneas, para aprimorar a textura dos produtos (Serdaroğlu et al., 2016).

Durante o processo de cozedura, o amido gelatiniza, provocando o aumento da viscosidade da emulsão e reduzindo a mobilidade dos glóbulos de gordura. Como resultado, obter uma emulsão estável depende de diversos fatores e requer (Álvarez et al., 2007):

- Redução do tamanho das partículas de carne e gordura;
- Extração e dispersão das proteínas miofibrilares das estruturas celulares;
- Manter o grau de desnaturação das proteínas miofibrilares no mínimo, durante o processo de picagem, de forma a garantir o revestimento ideal dos glóbulos de gordura, antes da cozedura.

Estes são os principais requisitos para desenvolver uma emulsão estável e estão, inevitavelmente, dependentes do processo de picagem. Por isso, o seu impacto é determinante no rendimento e qualidade do produto final (Serdaroğlu et al., 2016).

Para que seja alcançada a estabilidade ideal da emulsão, bem como de alta qualidade, é necessária uma gelificação adequada das proteínas durante a cozedura. Se a emulsão não se encontrar estável, ocorrerá uma maior separação entre gordura e água. O aumento desta separação, afetará o rendimento e qualidade do produto final, levando a uma rejeição do produto, por parte dos consumidores, por não atingir as características esperadas (Serdaroğlu et al., 2016). O processo de picagem apresenta uma duração ideal quando a estabilidade do produto é maximizada, e a separação de água e gordura é minimizada. Uma picagem insuficiente implica um défice na ligação entre as partículas de gordura e água, por outro lado, uma picagem excessiva resulta numa maior separação entre estas partículas. Por consequência, para obter uma emulsão estável, é fundamental controlar o processo de emulsificação (Ursachi et al., 2020).

1.1.3. Fumados

Produtos fumados são alimentos que passaram por um processo de fumagem, uma técnica de conservação e aromatização que remonta aos primórdios da humanidade. Neste processo, o alimento é exposto ao fumo proveniente da queima de madeira, que confere um sabor característico, e auxilia a conservação do produto. Estes produtos são valorizados pelo seu sabor único e, fundamentalmente, pela sua prolongada vida útil, devido à redução da humidade e à ação antimicrobiana do fumo (Lopez et al., 2021).

A fumagem confere aos alimentos alterações sensoriais características, em termos de sabor, cor e textura. Para além destas alterações, influencia positivamente a extensão do tempo de vida útil do alimento, uma vez que apresenta efeitos antioxidantes e inibe o crescimento de microrganismos. O processo de fumagem caracteriza-se por distintos métodos de fumagem, tendo em conta o produto final que se deseja. Contudo,

o tempo necessário que o alimento deve permanecer no fumeiro, depende de fatores como o tipo de produto em causa, o processamento anterior à fumagem, o tipo de armazenamento, processamento culinário posterior, entre outros (Varnam, 1995).

Esses métodos distintos de fumagem são os seguintes (Lopez et al., 2021):

- Fumagem a frio: uma vez que as temperaturas aplicadas estão compreendidas entre os 20°C e os 30°C;
- Fumagem a quente: neste caso, as temperaturas utilizadas estão compreendidas entre os 40°C e os 80°C;

Os alimentos, inicialmente, devem ser submetidos a um processo de fumagem a frio, num período específico. Posteriormente, de acordo com o tipo de armazenamento, é efetuada, ou não, a fumagem a quente. Em relação à fumagem a quente, ocorre um processo de cozedura lenta, onde a temperatura do ar é elevada. Esta temperatura deve ser controlada com enorme cautela, de modo a evitar uma subida abrupta da temperatura, que dificultaria a penetração do fumo no alimento, graças à formação de uma crosta na superfície do produto (Varnam, 1995).

A produção tradicional de produtos fumados baseia-se, muitas vezes, na aplicação de uma temperatura inicial mais elevada, e depois, a temperatura desce e o produto fica exposto a uma maior quantidade de fumo, intensificando o sabor e aroma. Habitualmente, os alimentos que sofrem um processo de fumagem, apresentam altos teores de sal. Isto porque, quando se adiciona fumo a um alimento salgado, verifica-se uma diminuição da atividade da água do alimento que, por consequência, melhora a capacidade de conservação. O fumo é essencial para preservação destes produtos. Ainda assim, os produtos fumados devem ser armazenados e conservados em condições de refrigeração, de forma a manter a segurança dos mesmos (Lopez et al., 2021).

1.2. Aditivos alimentares mais utilizados em produtos cárneos

A qualidade dos produtos cárneos é determinada por quatro parâmetros de qualidade, que incluem a qualidade nutricional, tecnológica, sensorial e de segurança. Todos estes parâmetros estão interligados, afetando não só, a qualidade do produto, como a sua vida útil (Guerra, 2024). O crescimento microbiano, a ação enzimática e os danos físicos são fatores que reduzem a vida útil destes alimentos, levando à insatisfação dos consumidores e à perda de alimentos (Stoica et al., 2022).

Uma vez que os produtos cárneos são vulneráveis ao crescimento de microrganismos patogénicos, o que contribui para a sua deterioração, o processamento da carne desempenha um papel crucial para manter a carne em condições favoráveis até ao consumo humano (Arokiyaraj et al., 2024). Assim, como a maioria dos produtos

à base de carne é suscetível à degradação devido ao crescimento microbiano, são adicionados conservantes para controlar esse crescimento dos microrganismos indesejáveis, o que confere segurança aos produtos, mas também para manter a frescura, sabor, textura e aparência (Nethra et al., 2023).

Aditivo alimentar é definido como qualquer substância que, direta ou indiretamente, se torne um componente de qualquer alimento ou que afete as suas características. Isto inclui qualquer substância usada na produção, processamento, embalagem, transporte ou armazenamento de alimentos (Lundberg et al., 2018). Estes compostos não são normalmente consumidos como alimentos nem utilizados como ingredientes típicos em alimentos, e por isso, a maioria dos alimentos minimamente processados e não processados não contém aditivos alimentares (Nethra et al., 2023).

Deste modo, os aditivos frequentemente utilizados em produtos cárneos incluem conservantes, antioxidantes, corantes, intensificadores de sabor e agentes de cura. Na Tabela 1 é possível observar os principais aditivos utilizados nestes alimentos, bem como a sua principal função (Zhou et al., 2023).

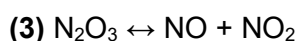
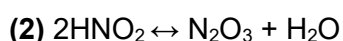
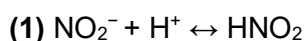
Tabela 1. Aditivos frequentemente utilizados em produtos cárneos.

Aditivo	Função	Exemplo
Nitratos e Nitritos	Utilizados para preservar a cor rosada das carnes curadas e inibir o crescimento de bactérias patogênicas, como <i>Clostridium botulinum</i> .	Nitrito de sódio, nitrato de potássio
Sais	Agem como conservantes e realçam o sabor.	Cloreto de sódio (sal de cozinha)
Fosfatos	Melhora a capacidade de retenção de água e a textura das carnes processadas.	Fosfato de sódio
Ácido Ascórbico	Atua como antioxidante, prevenindo a oxidação da carne e ajudando a manter a cor.	Ascorbato de sódio, Vitamina C
Antioxidantes	Previnem a oxidação das gorduras.	BHA (butil-hidroxi-anisol), BHT (butil-hidroxitolueno), Tocoferóis (vitamina E)
Aromatizantes e Intensificadores de sabor	Melhoram o sabor dos produtos cárneos processados.	Glutamato monossódico (MSG)
Ácidos Orgânicos	Usados para baixar o pH e impedir o crescimento microbiano.	Ácido láctico, Ácido acético
Agentes de Cura	Ajudam a conservar a carne e conferir sabor característico aos produtos curados.	Sal de cura (uma mistura de nitrito de sódio e sal)
Espessantes e Emulsionantes	Mantêm a consistência e evitam a separação dos ingredientes.	Lecitina, Goma xantana

1.2.1. Nitrito de sódio em produtos cárneos

Entre os diversos aditivos encontrados nos produtos cárneos, a utilização de sal nitritado é extremamente significativa (Shakil et al., 2022), mais de 15.000 produtos embalados no mercado francês atualmente contém nitritos ou nitratos adicionados (Lundberg et al., 2018). É um produto químico versátil com uma ampla gama de usos, incluindo a produção de corantes e a conservação de alimentos (Afkhani et al., 2004). Os sais de nitrito e nitrato são incorporados como aditivos alimentares em vários produtos cárneos, para prevenir ou reduzir o crescimento de bactérias patogênicas como *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*), *Salmonella* spp. (Bernardo et al., 2021). O principal objetivo da incorporação destes aditivos visa prolongar a vida útil, limitar a oxidação e contribuir para promover a cor e sabor dos produtos processados (Srour et al., 2023).

A cor da carne é altamente variável e influenciada por inúmeros fatores. Quando o nitrito é introduzido na carne, é posteriormente convertido em óxido nítrico (NO), por meio das reações abaixo (Honikel, 2008):



O nitrito reage com os íons de hidrogênio (H⁺) da água para produzir ácido nitroso. De seguida, o ácido nitroso decompõe-se progressivamente em moléculas de água (H₂O) e trióxido de dinitrogénio (N₂O₃), como é possível verificar nas equações (1) e (2) (Honikel, 2008).

De seguida, óxido nítrico e dióxido de nitrogénio são gerados a partir do trióxido de dinitrogénio. O principal componente responsável pela função aparente do nitrito em produtos de carne curada é o óxido nítrico (Honikel, 2008). O óxido nítrico combina-se com o ferro, tanto da mioglobina (Fe²⁺) como da metamioglobina (Fe³⁺) para produzir uma cor rosa, característica das carnes curadas. A mioglobina é a proteína sarcoplasmática responsável pela cor vermelha da carne, enquanto a metamioglobina (de cor avermelhada) é a forma oxidada da mioglobina (Mb). O NO-mioglobina é formado quando o óxido nítrico (NO) reage com a mioglobina (Fe²⁺) (Shakil et al., 2022). O complexo de nitrosil-mioglobina, de cor vermelha brilhante, fornece a base para a cor característica da carne curada. Este complexo é extremamente instável e transforma-se num pigmento estável, de cor vermelha-rosada (nitroso-hemocromo) durante o tratamento térmico (Lee et al., 2021).

A presença de outros aditivos em carnes curadas também afeta o desenvolvimento da cor. Antioxidantes, incluindo eritorbato, ácido ascórbico e polifenóis, estimulam a produção de NO, ao permitirem a redução do N₂O₃ (Weitzberg & Lundberg, 2013).

Essencialmente, apenas uma quantidade muito pequena de nitrito é necessária para o desenvolvimento da cor curada nas carnes, geralmente cerca de 2 a 14 ppm (Lee et al., 2021). No entanto, o nível de nitrito residual em carnes curadas diminui gradualmente devido à oxidação durante o armazenamento. Como resultado, a carne começa a perder a cor curada. Esta perda também ocorre quando a carne é exposta ao ar e à luz, no entanto, a presença de nitrito residual, bem como de substâncias redutoras, atrasam este processo (Sindelar & Milkowski, 2011). Os fatores mais importantes que afetam a cor da carne baseiam-se no teor e no estado químico da mioglobina (ГКОBAPH & Pexara, 2018).

O sabor é a combinação de várias qualidades, incluindo odor, fragrância, gosto, textura e temperatura da carne, que influenciam a percepção do consumidor (Gray et al., 1981). Embora seja reconhecido que o nitrito influencia o sabor da carne, as reações responsáveis por esse efeito não são completamente compreendidas (Bedale et al., 2016). A atividade antioxidante do nitrito contra a oxidação lipídica é considerada um dos potenciais mecanismos de alteração do sabor dos produtos cárneos, suprimindo o sabor de "aquecido" (*warmed-over flavor*) (Di Nunzio et al., 2022). Aldeídos como pentanal e hexanal, que são produtos da oxidação lipídica, são eliminados na carne curada, uma vez que a oxidação lipídica é inibida pelo nitrito. Assim, o uso de nitrito, apesar de não afetar a síntese de compostos de sabor específicos, inibe a formação de aldeídos, ocultando os compostos que contêm enxofre, e conferem à carne curada o seu sabor singular (Villaverde et al., 2014).

Nesse sentido, é possível afirmar que o sabor da carne curada é a combinação de dois aspectos fundamentais, a supressão da oxidação lipídica pelo nitrito e o desenvolvimento de sabores associados ao nitrito (Ursachi et al., 2020).

Outra característica notável do nitrito é que este pode prevenir a rancidez durante o armazenamento, bem como a formação de sabores desfavoráveis quando os produtos cárneos são aquecidos (Parthasarathy DK, Bryan NS, 2012). O processo de oxidação afeta lípidos, proteínas e pigmentos da carne, que causam alterações na tonalidade, sabor, textura e valor nutritivo do produto final (Domínguez et al., 2014). Durante a refrigeração, a oxidação lipídica produz sabores indesejáveis, geralmente caracterizados como rançosos, e acentua a descoloração dos alimentos. Para além disso, produz e acumula substâncias químicas que podem representar um risco à saúde dos consumidores (Lee et al., 2021).

O oxigénio é um dos principais fatores que influenciam a oxidação lipídica na carne, uma vez que interage com os lípidos insaturados da carne e gera peróxidos lipídicos. A produção de peróxidos lipídicos leva, em última instância, à formação de uma variedade de componentes químicos, como aldeídos, álcoois e cetonas. Posto isto, o óxido nítrico,

produzido a partir do nitrito, reage com radicais lipídicos para interromper as reações em cadeia de oxidação (Skibsted, 2011). O nitrito pode inibir a iniciação da oxidação lipídica ao reagir com ROS (espécies reativas de oxigênio), como radicais hidroxila. O óxido nítrico (NO) também pode inibir a oxidação lipídica, uma vez que, ao combinar com radicais peróxil lipídicos, forma moléculas não radicais (Di Nunzio et al., 2022).

Este aditivo demonstrou ter propriedades antioxidantes em concentrações baixas, a partir de 40 mg por kg (Al-Shuibi & Al-Abdullah, 2002), bem como uma redução de cerca de 65% na oxidação lipídica quando a concentração de nitrito de sódio nos produtos cárneos é de 50 ppm (Girouard et al., 2011). A oxidação de proteínas causa inúmeras alterações físico-químicas e nutricionais nas proteínas da carne, tal como a redução da biodisponibilidade de aminoácidos, alteração na composição de aminoácidos, diminuição da solubilidade das proteínas, redução da digestibilidade das proteínas e atividade proteolítica reduzida (Lund et al., 2011). Todas estas alterações podem ser minimizadas pela atividade antioxidante do nitrito. Portanto, pode dizer-se que este componente desempenha um papel importante como antioxidante ao inibir a oxidação de lipídios e proteínas, prevenindo assim a deterioração da qualidade da carne (Di Nunzio et al., 2022).

O nitrito de sódio é um aditivo que tem provado ser extremamente eficaz como agente bacteriostático e bactericida na inibição ou regulação do desenvolvimento de bactérias em produtos cárneos (Crowe et al., 2019). Durante a conservação de produtos cárneos, o nitrito reduz a quantidade de *Clostridium sporogenes*, que possui características semelhantes ao *Clostridium botulinum* (Parthasarathy DK, Bryan NS, 2012). Além disso, diversos estudos concluíram que o nitrito inibe o desenvolvimento de *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* e *Staphylococcus aureus* em vários produtos cárneos (Myers et al., 2013; Allaker et al., 2001; Shakil et al., 2022).

O nitrito de sódio ataca as bactérias de diversas formas, bloqueando enzimas metabólicas, restringindo a absorção de oxigênio e rompendo o gradiente de prótons (Flores & Toldrá, 2021). Além disso, o óxido nítrico liga-se ao ferro e reduz a disponibilidade desse elemento, que é necessário para a atividade enzimática, bem como para a atividade metabólica e o desenvolvimento bacteriano (Majou & Christieans, 2018). A supressão do desenvolvimento de microrganismos aumenta à medida que os níveis de nitrito sobem (Di Nunzio et al., 2022). Acredita-se que o nível de nitrito adicionado tenha uma influência maior nessa inibição do que o nitrito residual durante o armazenamento, sugerindo que a produção de compostos antimicrobianos, como resultado das reações relacionadas com o nitrito, pode ser significativa (Lim et al., 2016). No entanto, a eficácia da atividade antimicrobiana depende também de outros fatores,

como pH, nível de nitrito residual, teor de ferro, presença de redutores, temperatura de armazenamento, entre outros (Hospital et al., 2016).

1.2.2. Regulamentação afeta à utilização de nitrito de sódio

A presença de nitrato e nitrito nos alimentos tem sido objeto de vários estudos mundialmente (Flores & Toldrá, 2021). Investigou-se a presença de resíduos de nitrato e nitrito em diversos alimentos em todo o globo, e concluiu-se que a ingestão de destas substâncias na dieta humana provém predominantemente de vegetais e produtos cárneos (Kalaycioğlu & Erim, 2019). Outro estudo com salsichas à base de carne de porco, frango e patê de fígado, que são populares entre crianças suecas de 4 anos, revelou que a ingestão de nitrito excedeu, na maioria dos casos, a ingestão diária recomendada (Merino et al., 2016).

O anexo II do Regulamento (UE) nº 1333 (2008) estabelece uma lista dos aditivos alimentares autorizados para utilização nos alimentos, bem como as condições de utilização. Assim sendo, entre outras substâncias, o nitrito de sódio (E 250) está autorizado em conformidade com o anexo II do Regulamento (UE) nº 1333 (2008). Tal como já fora mencionado anteriormente, este aditivo é utilizado há várias décadas como conservante para garantir, em conjunto com outros fatores, a conservação e a segurança microbiológica dos géneros alimentícios, em especial carne, peixe e produtos à base de queijo, e para contribuir para as suas propriedades organoléticas características. No entanto, sabe-se que a presença de nitritos e nitratos nos géneros alimentícios pode dar origem à formação de nitrosaminas, algumas das quais são cancerígenas. Por conseguinte, é necessário, por um lado, minimizar o risco de formação de nitrosaminas derivado da presença de nitritos e nitratos nos géneros alimentícios, e, por outro, manter os seus efeitos protetores contra a multiplicação de bactérias.

Os teores máximos de nitrito de sódio nos géneros alimentícios, atualmente estabelecidos no Regulamento (UE) nº 1333 (2008), baseiam-se nos pareceres do Comité Científico da Alimentação Humana de 1990 e 1995. Esses teores são expressos como “quantidade adicionada”, uma vez que é a quantidade adicionada de nitritos, e não a quantidade residual, que contribui para a atividade inibidora do *C. botulinum*.

O Regulamento de Execução (UE) nº 1165 (2021) da Comissão só autoriza a utilização de nitrito de sódio (E 250) em produtos biológicos à base de carne, com teores máximos inferiores aos teores máximos estabelecidos no Regulamento (UE) nº 1333 (2008), e apenas na condição de ter sido demonstrado que não se encontra disponível qualquer alternativa tecnológica.

Segundo o Regulamento Europeu (UE) nº 2108 (2023), a Comissão Europeia realizou um estudo sobre a aplicação, pelos Estados-Membros, das regras em matéria

de nitritos. Esse estudo revelou que, com algumas exceções, a quantidade típica de nitritos adicionados aos produtos à base de carne não esterilizados é inferior ao teor máximo estabelecido. Concluindo-se que, tendo em conta que na maioria dos Estados-Membros os nitritos eram geralmente adicionados aos produtos à base de carne em níveis inferiores aos níveis máximos permitidos, tinha de ser considerada a possibilidade de rever os atuais teores máximos de nitritos com o objetivo de reduzir ainda mais a exposição a esses aditivos alimentares. Dessa forma, o Regulamento (UE) nº 2108 (2023) estabeleceu novos limites máximos permitidos, substituindo os limites anteriormente estabelecidos no Regulamento (UE) nº 1333 (2008), relativamente à adição desses dois aditivos alimentares em produtos cárneos. As quantidades máximas de nitrito que podem ser adicionadas aos alimentos foram, então, reduzidas, a fim de manter o nível de nitrosaminas potencialmente formado devido a essa utilização tão baixo quanto possível, garantindo simultaneamente a segurança microbiológica. Além disso, são estabelecidos teores residuais máximos, provenientes de todas as fontes para os produtos prontos para comercialização durante todo o prazo de conservação, com o objetivo de monitorizar e controlar mais eficazmente a exposição a este aditivo e respetivas doses diárias admissíveis (DDA). É de notar que, embora os atuais teores máximos sejam expressos em nitrito de sódio, os novos teores máximos devem ser expressos em iões nitrito, em conformidade com as DDA estabelecidas pela Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar (EFSA, 2017).

Por último, tendo em conta que a EFSA não identificou quaisquer preocupações imediatas relacionadas com a presença de nitrito de sódio, permite-se que, durante um período transitório, a utilização destes aditivos alimentares legalmente colocados no mercado antes da data de entrada em vigor do presente regulamento. Da mesma forma, qualquer género alimentício, que contenha este aditivo, e tendo sido colocado no mercado antes da data de entrada em vigor no novo regulamento (Regulamento (UE) nº 1333, 2008) pode continuar inserido no mercado, durante um período transitório até à respetiva data de durabilidade mínima.

Nas Tabela 2, Tabela 3, Tabela 4, Tabela 5 e Tabela 6 é possível verificar um resumo das principais alterações entre os dois Regulamentos (Regulamento (UE) nº 2108, 2023 e Regulamento (UE) nº 1333, 2008). Estas alterações podem ser resumidas em dois aspetos principais, a redução acentuada dos teores de nitritos e, por outro lado, na alteração da forma de controlo, uma vez que acresce o controlo residual.

O nitrito pode reagir ou ligar-se a vários constituintes dentro dos sistemas de carne, uma vez que é um composto extremamente reativo. Esta reatividade é aumentada pelo calor aplicado durante o processamento térmico. O nitrito adicionado em produtos à base de carne pode ser completamente recuperado como nitrato,

nitrosilmioglobina, compostos gasosos de nitrogénio e nitrito residual. Devido à combinação do nitrito com pigmentos da carne e outros compostos, a quantidade detetável diminui rapidamente durante o armazenamento. Portanto, a quantidade residual de nitrito é consideravelmente menor em comparação com a quantidade de nitrito inicial/adicionado (Alahakoon et al., 2015).

Tabela 2. Categoria 08.2 - Preparados de carne (na aceção do Regulamento (UE) nº 853, 2004) – Exemplos: lombos injetados (Regulamento (UE) nº 2108, 2023; Regulamento (UE) nº 1333, 2008).

Regulamento	Nº E	Designação	Teor máximo (mg/kg ou mg/l)	Notas de rodapé
1333/2008	E 249 – 250	Nitritos	150	Quantidade máxima que pode ser adicionada durante o fabrico expressa em NaNO ₂ ou NaNO ₃ .
2023/2108	E 249 – 250	Nitritos	80	Quantidade máxima que pode ser adicionada durante o fabrico expressa em iões NO ₂ Quantidade residual máxima proveniente de todas as fontes para o produto pronto para comercialização durante todo o prazo de conservação do produto não pode exceder 45 mg/kg , expressa em iões NO ₂ ;

Tabela 3. Categoria 08.3.1 - Produtos à base de carne não submetidos a tratamento térmico – Exemplos: fumados/curados sem tratamento térmico - chouriço, chouriço castelhano e salame (Regulamento (UE) nº 2108, 2023; Regulamento (UE) nº 1333, 2008).

Regulamento	Nº E	Designação	Teor máximo (mg/kg ou mg/l)	Notas de rodapé
1333/2008	E 249 – 250	Nitritos	150	Quantidade máxima que pode ser adicionada durante o fabrico expressa em NaNO ₂ ou NaNO ₃
	E 251-252	Nitratos	150	Quantidade máxima que pode ser adicionada durante o fabrico expressa em NaNO ₂ ou NaNO ₃
2023/2108	E 249 – 250	Nitritos	80	Quantidade máxima que pode ser adicionada durante o fabrico expressa em iões NO ₂ . Quantidade residual máxima proveniente de todas as fontes para o produto pronto para comercialização durante todo o prazo de conservação do produto não pode exceder 45 mg/kg , expressa em iões NO ₂ ;
	E 251-252	Nitratos	90	Quantidade máxima que pode ser adicionada durante o fabrico expressa em iões NO ₃ . Os casos em que a quantidade residual proveniente de todas as fontes para o produto pronto para comercialização exceder 90 mg/kg expressa em iões NO ₃ durante todo o prazo de conservação do produto, os operadores das empresas do setor alimentar devem investigar a razão desse excesso;
	E 251-252	Nitratos	110	Quantidade máxima que pode ser adicionada durante o fabrico expressa em iões NO ₃ . Nos casos em que a quantidade residual proveniente de todas as fontes para o produto pronto para comercialização exceder 110 mg/kg expressa em iões NO ₃ durante todo o prazo de conservação do produto, os operadores das empresas do setor alimentar devem investigar.

Tabela 4. Categoria 08.3.2 - Produtos à base de carne submetidos a tratamento térmico – Exemplos: fiambres e fumados, salsichas a vácuo ou atmosfera modificada (Regulamento (UE) nº 2108, 2023; Regulamento (UE) nº 1333, 2008).

Regulamento	Nº E	Designação	Teor máximo (mg/kg ou mg/l)	Notas de rodapé
1333/2008	E 249 – 250	Nitritos	150	Quantidade máxima que pode ser adicionada durante o fabrico expressa em NaNO ₂ ou NaNO ₃ . Alguns produtos à base de carne tratados termicamente podem conter nitratos que resultam da conversão natural dos nitritos em nitratos num ambiente de baixa acidez.
2023/2108	E 249 – 250	Nitritos	80	Alguns produtos à base de carne tratados termicamente podem conter nitratos que resultam da conversão natural dos nitritos em nitratos num ambiente de baixa acidez. Quantidade máxima que pode ser adicionada durante o fabrico expressa em iões NO ₂ . Quantidade residual máxima proveniente de todas as fontes para o produto pronto para comercialização durante todo o prazo de conservação do produto não pode exceder 45 mg/kg , expressa em iões NO ₂ ;

Tabela 5. Categoria 08.3.2 - Produtos à base de carne submetidos a tratamento térmico – Exemplos: gama de salsichas esterilizadas (latas e frascos), refeições prontas (Regulamento (UE) nº 2108, 2023; Regulamento (UE) nº 1333, 2008).

Regulamento	Nº E	Designação	Teor máximo (mg/kg ou mg/l)	Notas de rodapé
1333/2008	E 249 – 250	Nitritos	100	Quantidade máxima que pode ser adicionada durante o fabrico expressa em NaNO ₂ ou NaNO ₃ . Alguns produtos à base de carne tratados termicamente podem conter nitratos que resultam da conversão natural dos nitritos em nitratos num ambiente de baixa acidez.
2023/2108	E 249 – 250	Nitritos	55	Alguns produtos à base de carne tratados termicamente podem conter nitratos que resultam da conversão natural dos nitritos em nitratos num ambiente de baixa acidez. Quantidade máxima que pode ser adicionada durante o fabrico expressa em iões NO ₂ . Quantidade residual máxima proveniente de todas as fontes para o produto pronto para comercialização durante todo o prazo de conservação do produto não pode exceder 25 mg/kg , expressa em iões NO ₂ ;

Tabela 6. Categoria 08.3.4.2 - Produtos tradicionais curados a seco – Exemplos: presunto, charcutaria curada (Regulamento (UE) nº 2108, 2023; Regulamento (UE) nº 1333, 2008).

Regulamento	Nº E	Designação	Teor máximo (mg/kg ou mg/l)	Notas de rodapé
1333/2008	E 249 – 250	Nitritos	100	Quantidade residual máxima, teor de resíduos no final do processo de fabrico, expressa em NaNO ₂ ou NaNO ₃
	E 251– 252	Nitratos	250	Quantidade residual máxima , teor de resíduos no final do processo de fabrico, expressa em NaNO ₂ ou NaNO ₃ Alguns produtos à base de carne tratados termicamente podem conter nitratos que resultam da conversão natural dos nitritos em nitratos num ambiente de baixa acidez
2023/2108	E 249 – 250	Nitritos	65	Quantidade residual máxima proveniente de todas as fontes para o produto pronto para comercialização expressa em iões NO ₂ , durante todo o prazo de conservação do produto.
	E 251– 252	Nitratos	150	Alguns produtos à base de carne tratados termicamente podem conter nitratos que resultam da conversão natural dos nitritos em nitratos num ambiente de baixa acidez Quantidade residual máxima proveniente de todas as fontes para o produto pronto para comercialização expressa em iões NO ₂ , durante todo o prazo de conservação do produto.

1.2.3. Efeito da utilização de nitrito de sódio na saúde humana

Embora o nitrito de sódio seja um dos aditivos alimentares mais utilizados em produtos cárneos processados, o seu consumo excessivo tem sido associado a impactos negativos na saúde humana (Shakil et al., 2022). Devido à elevada reatividade química do nitrito, este pode combinar-se com diversos componentes nos sistemas de carne, desde aminoácidos, compostos fenólicos, aminas, mioglobina, entre outros. Consequentemente, o calor utilizado durante o tratamento térmico dos produtos cárneos, aumenta essa reatividade (Pourazrang et al., 2002).

O nitrito atua como agente nitrosante, uma vez que pode ser precursor de nitrosaminas e, posteriormente, formar vários compostos nitrosos. Atualmente, considera-se que a quantidade de nitrito adicionada, bem como a produção de nitrosaminas, têm uma relação positiva, no entanto, esta não é linear (Demeyer et al., 2016). Outros agentes nitrosantes incluem o ácido nitroso e o óxido nítrico, que também são derivados do nitrito (Pourazrang et al., 2002). As nitrosaminas formam-se através da reação do nitrito com aminas secundárias no trato intestinal (Dellavalle et al., 2014) e, algumas são consideradas cancerígenas (Flores & Toldrá, 2021). Desenvolvem-se durante os processos de produção, durante a confeção, e após a ingestão (Herrmann et al., 2015). No parecer científico da EFSA publicado em março de 2023, sobre os riscos para a saúde pública relacionados com a presença de nitrosaminas nos alimentos, a Autoridade concluiu que a exposição relativa às nitrosaminas cancerígenas é elevada, e a principal categoria de alimentos que contribui para essa exposição é de “carne e produtos à base de carne” (EFSA, 2023).

Diversos estudos comprovaram uma incidência de cancro colorretal associado à adição de nitrito de sódio durante o processamento da carne (Wang et al., 2023; Hung et al., 2016; Santarelli et al., 2008; Crowe et al., 2019). Em comparação com os não consumidores, os consumidores de altos níveis de alimentos com aditivos alimentares como o nitrito, apresentaram um risco elevado para vários tipos de cancro, como a mama e próstata, enquanto nenhuma associação foi observada para nitrito/nitrato provenientes de fontes naturais (Chazelas et al., 2022). O consumo excessivo de nitrito também pode resultar em intoxicações, paralisia do centro respiratório e outros sintomas relacionados à hipoxia. Em casos extremos, pode causar asfixia e até mesmo a morte, reduzindo a capacidade de transporte de oxigénio da hemoglobina no sangue humano (Huang et al., 2020).

Outra preocupação de saúde relacionada com o elevado consumo de nitrito é a metemoglobinemia conhecida como “síndrome do bebé azul”. Desenvolve-se quando o nitrito é convertido em nitrito reativo, pelas bactérias redutoras na saliva ou no sistema

digestivo, e apresenta este nome devido à coloração azulada da pele de um recém-nascido, quando os seus níveis de nitrito no sangue são elevados (Gassara et al., 2016). No entanto, as carnes processadas não têm sido associadas à metemoglobinemia (Bedale et al., 2016).

Contudo, apesar dos efeitos toxicológicos, a comunidade científica tem se pronunciado para os possíveis efeitos positivos do nitrito, graças à sua promoção da produção de óxido nítrico e ao conseqüente benefício para a saúde cardiovascular (Berardi et al., 2021; Kalaycioğlu & Erim, 2019). O óxido nítrico (NO), produzido pela redução de nitratos e nitritos, é uma substância sinalizadora muito importante no corpo humano e desempenha um papel importantíssimo em praticamente todos os órgãos do organismo (Oliver et al., 2021). Esta substância afeta todas as atividades dos órgãos no corpo, tal como anomalias na produção e na transmissão de sinais do NO, que estão associadas a vários sintomas e doenças. Portanto, manter os níveis de NO equilibrados é importante para a saúde e prevenção de doenças (Pereira et al., 2013; Hord et al., 2009).

1.3. Estabilidade e segurança dos produtos cárneos

A conservação dos alimentos, nomeadamente carne e produtos cárneos, é conseguida através da aplicação de condições previamente conhecidas como desfavoráveis ao crescimento de microrganismos e desenvolvimento de reações químicas e enzimáticas (Coombs et al., 2017). Com estes processos, procura-se atrasar ou eliminar as alterações responsáveis pela deterioração destes alimentos que, conseqüentemente, levam a perdas de qualidade e à inviabilização dos produtos para consumo (Halagarda & Wójciak, 2022).

Todos os anos, um nível significativo de contaminação ocorre, em diferentes etapas da cadeia de produção, nos produtos cárneos (Jayasena & Jo, 2013). Para além da oxidação lipídica e da deterioração enzimática, a contaminação microbiana desempenha um papel fundamental neste processo de deterioração, resultando num impacto económico e ambiental substancial (Ishangulyyev et al., 2019). Por estas razões, de modo a assegurar que um produto reúna todos os requisitos de qualidade e segurança, bem como o controlo do crescimento de microrganismos para manter e garantir na totalidade da sua vida útil as suas características organolépticas e nutricionais, é importantíssimo deter um bom método de conservação (Halagarda & Wójciak, 2022).

Assim, para garantir alimentos seguros e com uma vida útil prolongada, processos clássicos de preservação, como processamento térmico, secagem, salga, congelação, entre outros, impõem barreiras físicas e químicas que impedem o crescimento e inativam bactérias patogénicas (Coombs et al., 2017).

A refrigeração permite retardar as reações químicas e enzimáticas, permitindo controlar a perda de qualidade dos alimentos decorrente da atividade fisiológica ou de outras reações químicas, como a oxidação dos lípidos, a degradação dos pigmentos e vitaminas, desnaturação enzimáticas, entre outras (Gava et al., 2008). Deste modo, na conservação de carne e produtos cárneos que necessitem de refrigeração, é recomendado o uso de temperaturas entre 0°C e 5°C, devendo esta ser sempre assegurada, uma vez que a temperatura de armazenamento determina a qualidade do produto final (Coombs et al., 2017).

No entanto, baixas temperaturas não são suficientes para destruir esporos responsáveis pela degradação de produtos cárneos, como *Bacillus* spp. e *Clostridium* spp., uma vez que, na ausência de qualquer competição por parte de outros microrganismos, estes esporos podem germinar e crescer sob condições favoráveis, causadas pelo manuseamento inadequado dos produtos (Samad et al., 2024). Portanto, como a aplicação de frio não é suficiente para evitar a deterioração da carne, deve ser complementada com outras tecnologias, como a incorporação de ingredientes não cárneos, como aditivos alimentares que conferem durabilidade aos produtos (Cheng et al., 2024). Por conseguinte, após a Revolução Industrial, surgiram grandes avanços na indústria química que permitiram o desenvolvimento de aditivos com o objetivo de retardar a deterioração dos géneros alimentícios e, também, melhorar as suas características organolépticas e sensoriais (Gava et al., 2008).

Os microrganismos reagem homeostaticamente a fatores de stress que perturbam as suas condições de desenvolvimento. Os conservantes, tal como outros processos de conservação, perturbam um ou mais desses mecanismos de homeostase dos microrganismos impedindo, dessa forma, o seu desenvolvimento (Marwaha, 2010). A sinergia entre a utilização de baixas temperaturas, processamento térmico, embalagens em atmosfera modificada ou adição de conservantes, concedem um nível superior de segurança e estabilidade ao produto (Tauxe et al., 2010). Os principais responsáveis pela deterioração de produtos cárneos são microrganismos que produzem odores desagradáveis, descoloração e viscosidade, como *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium* spp. e *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus*, *Brochothrix*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, assim como membros da família *Enterobacteriaceae*, leveduras e bolores (El-Saber Batiha et al., 2021). A cor, o odor, o sabor e a textura da carne e produtos cárneos nem sempre sofrem alterações por bactérias patogénicas. No entanto, são as principais responsáveis por toxinfecções alimentares, e por isso, práticas de proteção adequadas devem ser aplicadas à carne e aos produtos cárneos para garantir a sua estabilidade e segurança (Fратиanni et al., 2010).

2. Material e Métodos

2.1. IZIDORO (Monte D'Alva, S.A.)

A Monte D'Alva – Alimentação S.A. (Unidade Montijo), antes designada Estabelecimentos Isidoro M. de Oliveira, S.A., iniciou a sua atividade no setor das carnes a 11 de Novembro de 1900, sendo o seu fundador Isidoro Sampaio de Oliveira. É uma empresa 100% portuguesa, especialista em proteína animal, dominando o processo desde a criação animal até à produção, garantindo qualidade e excelência. Mais recentemente tem vindo a especializar-se também na proteína vegetal, com o desenvolvimento de uma nova gama de produtos de origem vegetal. Para além da IZIDORO, o Grupo Montalva também possui a marca DAMATTA, conhecida pelos seus presuntos, fumados/curados e fatiados.

Com o objetivo de agradar sempre o cliente e os consumidores, a Visão do grupo passa pela aspiração em criar alimentos que se adequem a todas as necessidades dos consumidores. Esta visão demonstra o desejo constante de inovar e surpreender o consumidor, de forma a manter sempre a sua confiança e curiosidade. Por outro lado, representando o propósito da empresa e a sua razão de existir, a missão surge como o comprometimento do Grupo na criação de soluções alimentares de forma responsável para satisfazer diariamente os consumidores, aliando três aspetos fundamentais: Inovação, Qualidade e Tradição. Aspetos estes que são os pilares do Grupo e que asseguram a relevância da marca IZIDORO, bem como a sua história centenária e constante inovação em todos os processos de produção.

Por fim, quanto aos valores, as regras pelas quais o Grupo se rege, baseiam-se na existência da empresa para satisfazer os clientes, na valorização e capacitação dos colaboradores, na ética e responsabilidade social e no retorno aos investidores. Para além da preocupação com os clientes e consumidores diretamente, a IZIDORO assume uma grande responsabilidade face ao meio envolvente, incluindo na sua constante inovação várias alternativas mais amigas do ambiente e processos que provoquem o mínimo de desperdício alimentar ou métodos de reaproveitamento de subprodutos de forma a evitar esse desperdício.

2.2. Processamento tecnológico

2.2.1. Fiambre da perna

O processamento tecnológico do produto Fiambre da Perna para fatiar encontra-se apresentado na Figura 1.

Este processamento inicia-se pela receção da matéria-prima cárnea, que deverá manter-se armazenada numa câmara de refrigeração com temperaturas entre 0°C e 5°C. No início da produção, de modo a garantir que a matéria-prima carne encontra-se conforme os parâmetros de qualidade pré-estabelecidos, procede-se à avaliação da temperatura e pH.

De seguida, é efetuada a preparação da salmoura, num tanque devidamente identificado para o efeito. Para a preparação da salmoura, utiliza-se, aproximadamente 20% de gelo e 80% de água. Quanto aos ingredientes, estes são adicionados respeitando a seguinte ordem de incorporação: emulsionantes, proteína, sal refinado e sal nitritado, dextrose, carragenato, aromas, antioxidante, lactato de potássio e diacetado de sódio. A salmoura encontra-se finalizada quando não existirem, visivelmente, quaisquer aglomerados que comprometam a sua utilização. Durante o processo, a temperatura deve ser controlada e, no final, apresentar valores não superiores a 3°C.

Assim que a salmoura se encontra finalizada, prossegue-se para a pesagem da matéria-prima cárnea. As peças devem apresentar valores de temperatura compreendidos entre os 0°C e 5°C, enquanto os valores de pH devem estar compreendidos entre os 5,5 e os 6,1. Se a matéria-prima não respeitar estes parâmetros, é segregada para contentores destinados para o efeito. Estes contentores, devidamente identificados, são transportados para uma de duas câmaras de refrigeração onde numa se armazenam os produtos reciclados que seguem para alimentação dos animais das unidades de criação e abate, e noutra armazenam-se os produtos que não podem ser reciclados. É de salientar a importância da monitorização da temperatura da sala, bem como das câmaras de refrigeração, pois o seu impacto na qualidade do produto é extremamente relevante.

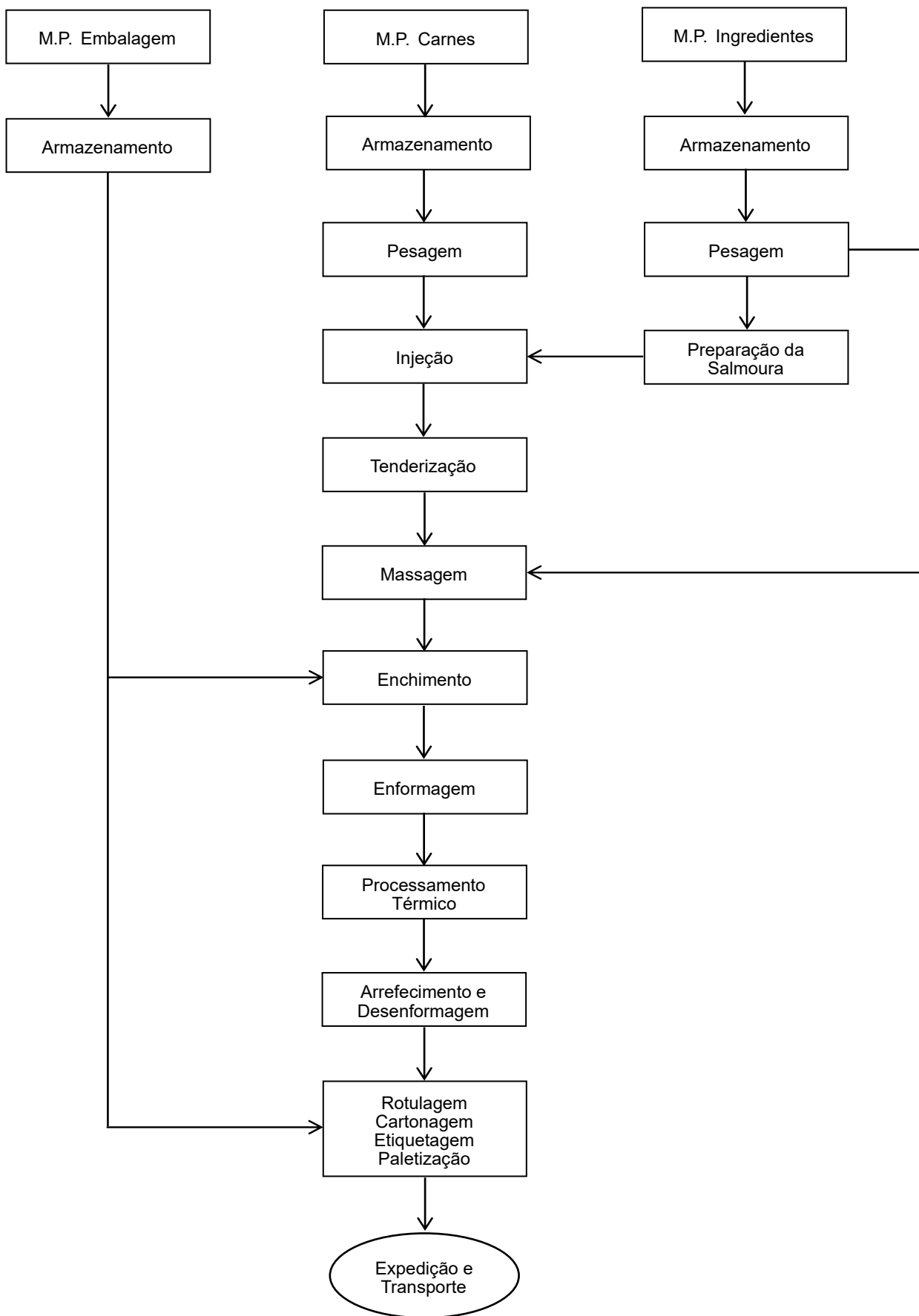


Figura 1. Fluxograma do processo tecnológico do produto fiambre da perna.

Após a preparação da salmoura e pesagem da matéria-prima, é possível prosseguir para a injeção e tenderização. A injeção consiste na difusão homogênea da salmoura na carne, através de agulhas injetoras, que possuem orifícios cruzados na extremidade para a saída da solução. Para este fiambre, a percentagem de injeção utilizada é de 31%. Por outro lado, a tenderização consiste na passagem da carne, entre dois cilindros com pequenas lâminas que golpeiam a carne, permitindo, assim, a extração da proteína solúvel, a distribuição e homogeneização da salmoura, bem como o aumento da capacidade de absorção nas etapas seguintes.

Imediatamente a seguir, a carne injetada é levada, em carrinhos de aço inoxidável, para o respetivo bombo massajador, com o programa específico para obtenção do produto final desejado. Este processo de massagem sob vácuo, é extremamente relevante no fabrico de fiambre, uma vez que influencia a capacidade de retenção de água e conseqüente rendimento e textura do produto final. Durante a massagem, a carne deve ser mantida, idealmente, a temperaturas entre 0°C e 4°C para prevenir o crescimento e multiplicação de microrganismos.

Posteriormente, é realizado o enchimento a vácuo da massa em invólucros de PA/PE (poliamida/poliestireno) retrácteis, sucedendo-se a enformagem em moldes de aço inoxidável. Relativamente ao processo de enchimento, a massa passa em contínuo pelo detetor de metais, que ao detetar a presença de metal, automaticamente rejeita a porção de massa que se encontra no tubo de enchimento. A massa rejeitada, passa novamente pelo detetor de metais e, se se verificar nova rejeição, essa massa será segregada para identificação do objeto metálico.

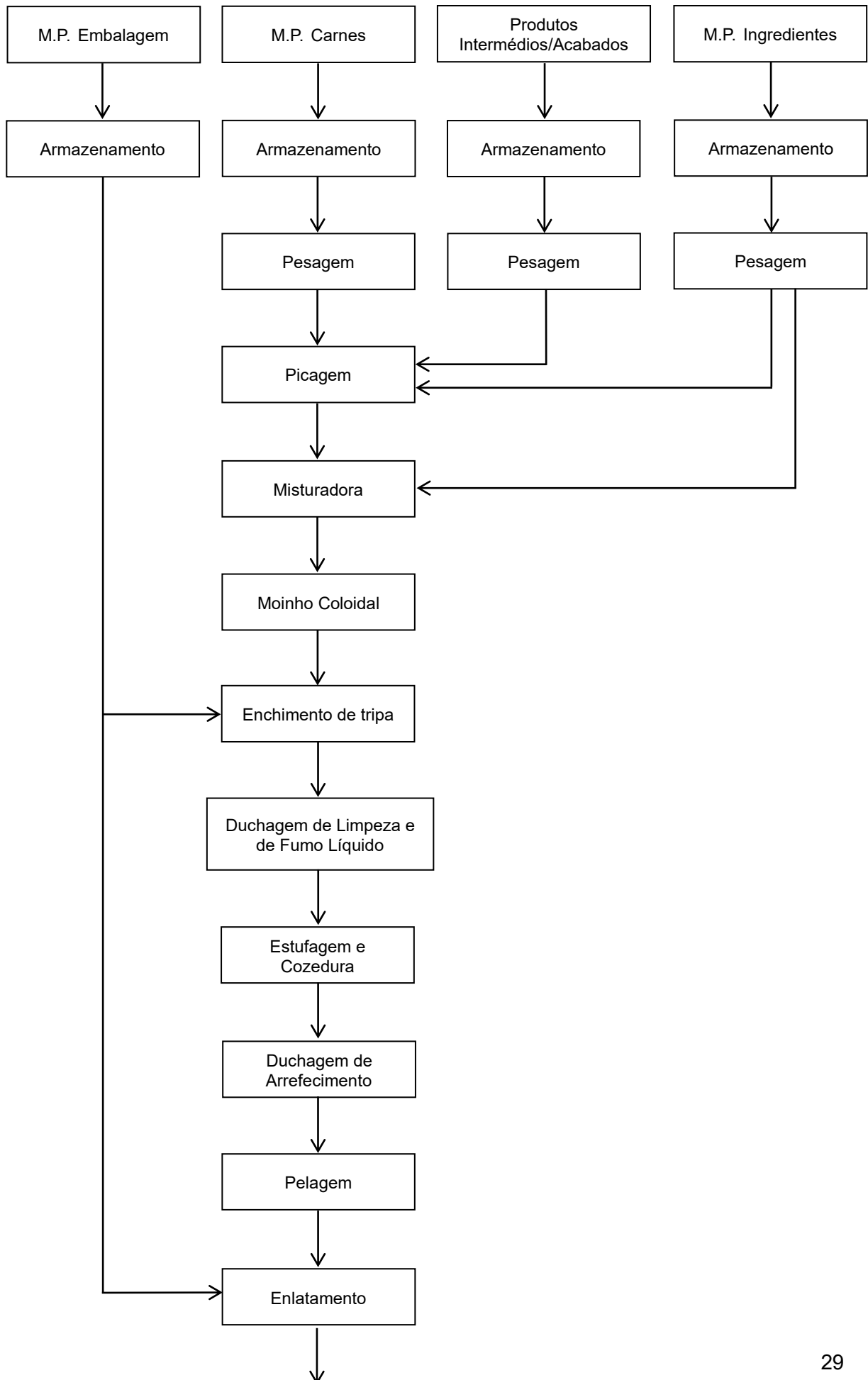
O processamento térmico, ou cozedura, é uma etapa que requer muito rigor e controlo do tempo e temperatura. O fiambre, previamente colocado nos carros de cozedura, é carregado para as câmaras de cozedura. O último carro a ser carregado possui a forma adaptada para a colocação da sonda de controlo de temperatura do centro térmico do produto. Durante este processo, o fiambre é submetido a temperaturas entre os 74°C e os 80°C, de modo que o seu interior atinja valores de temperatura entre 68°C e 70°C. É nesta etapa que ocorre a coagulação das proteínas musculares formando-se um bloco gelificado, a desnaturação das fibras degradadas durante a massagem favorece o a sua compactação e a formação de uma rede tridimensional capaz de reter água, conferindo ao produto consistência, firmeza e coesão. Desenvolve-se também o aroma e o sabor característicos e a estabilização da cor do produto.

Após o processamento térmico, os carros de cozedura são colocados na zona de arrefecimento (chuveiros), e posteriormente na câmara de refrigeração específica. Uma vez que se trata de um produto para fatiar, após as barras de fiambre serão colocadas no túnel de congelação, até se encontrarem nas devidas condições, ou seja, até

congelarem o suficiente (inferior a 0°C) para possibilitarem o corte pela fatiadora. Em seguida, procede-se à pesagem da quantidade previamente definida por embalagem e ao seu consequente embalamento. Finalmente, respeitando todos os parâmetros de qualidade, o produto está pronto a ser expedido.

2.2.2. Salsicha tipo frankfurt

Na Figura 2 é possível verificar o processamento tecnológico da Salsicha tipo Frankfurt. De facto, uma linha de produção de emulsões cárneas, habitualmente, é constituída por câmaras de refrigeração e de congelação, uma zona de processamento da emulsão, seguida por uma zona de enchimento e fumagem, outra de enlatamento e cravação, terminando numa zona de esterilização e num armazém de produto acabado. A matéria-prima cárnea é rececionada e armazenada em câmaras de congelação. Aquando da produção, as matérias-primas cárneas a serem utilizadas são previamente retiradas e mantidas em câmaras de refrigeração até ao momento de produção.



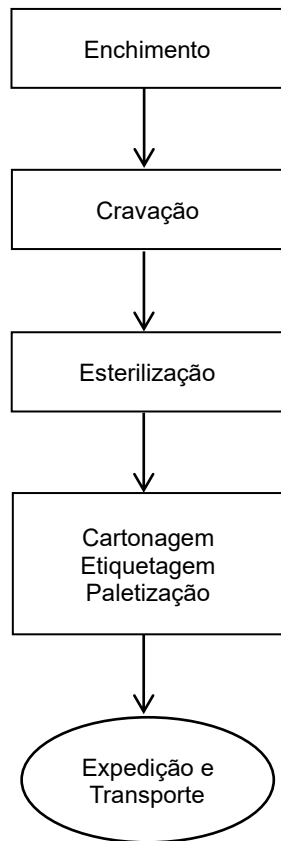


Figura 2. Fluxograma do processo tecnológico do produto salsicha tipo frankfurt.

Na sala destinada à preparação das emulsões, são pesadas as matérias-primas cárneas, que devem ter temperaturas compreendidas entre - 2°C e 4°C, e estas são posteriormente picadas, no moinho de congelados. Procede-se à mistura das carnes com os aditivos e condimentos, na misturadora, alternando o sentido de rotação dos braços da misturadora, onde a temperatura final deve ser inferior a 7°C com tempo de mistura de todos os componentes de cerca de 10 minutos. A água é adicionada ao longo da preparação, estando a quantidade de gelo adicionada dependente da temperatura da carne, de forma que a mistura de carnes e o gelo se situem entre - 2°C e 1°C. Este processo termina quando a mistura estiver perfeitamente homogénea e a água absorvida. Assim, após a preparação da massa, esta segue para o moinho coloidal (homogeneizador), e no final não deve ter uma temperatura superior a 14°C.

Após obter a emulsão, na zona de enchimento, procede-se ao enchimento da emulsão na tripa respetiva, para o produto poder seguir para o túnel de estufagem/cozedura, com aplicação prévia de uma duchagem de limpeza e de fumo líquido. De seguida, na zona de enlatamento, após remoção da tripa, o produto é

colocado em tapetes, selecionado manualmente e colocado em latas impressas, de forma a garantir a qualidade esperada.

Assim, já com o produto inserido nas latas, estas são cheias com uma solução de aroma de fumo e água, bem como hermeticamente fechadas através de um processo de cravação. Na Tabela 7, é possível verificar as diferentes temperaturas, tempos e pressões, para o processo de aquecimento, esterilização e arrefecimento.

Tabela 7. Temperatura, tempo e pressão dos processos de aquecimento, esterilização e arrefecimento.

Aquecimento			Esterilização			Arrefecimento I			Arrefecimento II			Arrefecimento III		
Tempo (min)	Temp (°C)	Pressão (bar)	Tempo (min)	Temp (°C)	Pressão (bar)	Tempo (min)	Temp (°C)	Pressão (bar)	Tempo (min)	Temp (°C)	Pressão (bar)	Tempo (min)	Temp (°C)	Pressão (bar)
6	120	2	10	120	2	8	80	2	10	40	0	5	35	0

Por fim, na zona de esterilização, encontram-se várias autoclaves utilizadas para o processamento térmico destes produtos. Esta operação ocorre por ação do vapor num determinado binómio tempo/temperatura, obtendo-se um gráfico do processo, confirmando se o mesmo foi bem conseguido, tal como apresentado na Figura 3.

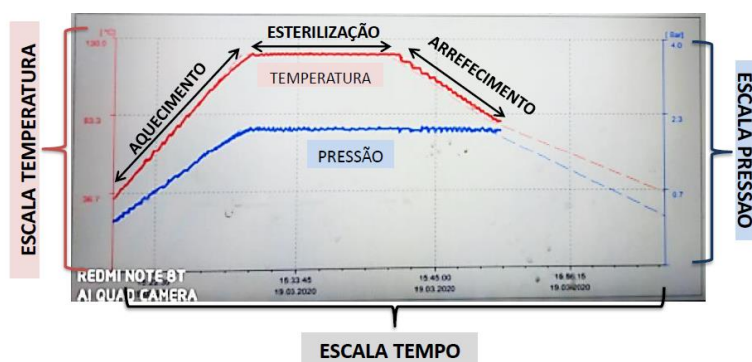


Figura 3. Gráfico do binómio tempo/temperatura resultante do processo de esterilização numa autoclave.

Finalmente, após a esterilização e secagem das latas, as mesmas seguem para cartonagem e paletização e, conseqüentemente, encaminhadas para o armazém de produto acabado.

2.2.3. Chouriço corrente

Na Figura 4 é possível verificar o processamento tecnológico do Chouriço Corrente. Aquando da receção da matéria-prima cárnea, esta é colocada na câmara de refrigeração.

No momento da produção, a carne é retirada da câmara e pesada. Procede-se ao corte, em pedaços, com o auxílio de uma faca bem afiada de forma a evitar o esmagamento do tecido muscular ou adiposo. No final do corte, adicionam-se os temperos na máquina misturadora (emulsionantes, sal refinado e sal nitritado, açúcar, oleorresina de pimentão, especiarias, proteína de soja, massa de pimentão, antioxidantes e água).

De seguida, é retirada para os recipientes e colocada na câmara de refrigeração onde permanece 1 a 2 dias. Após este processo, procede-se ao enchimento com tripa artificial de colagénio, retirando a mistura da carne com os ingredientes e colocando-a na máquina de enchimento. O chouriço corrente passa para a estufa, onde fica 1 dia a repousar. No dia seguinte coloca-se na câmara de secagem durante mais 2 dias, a temperatura vai descendo de 19,5°C para 12,5°C e a humidade vai aumentando de 60% até 80%.

O produto é produzido numa unidade do Grupo distinta da unidade onde é embalado. Desta forma, após a sua produção e devido repouso, segue devidamente armazenado para a unidade do Montijo, onde se processa o embalamento. As embalagens deste chouriço corrente podem ter várias apresentações, de 400g ou 1kg.

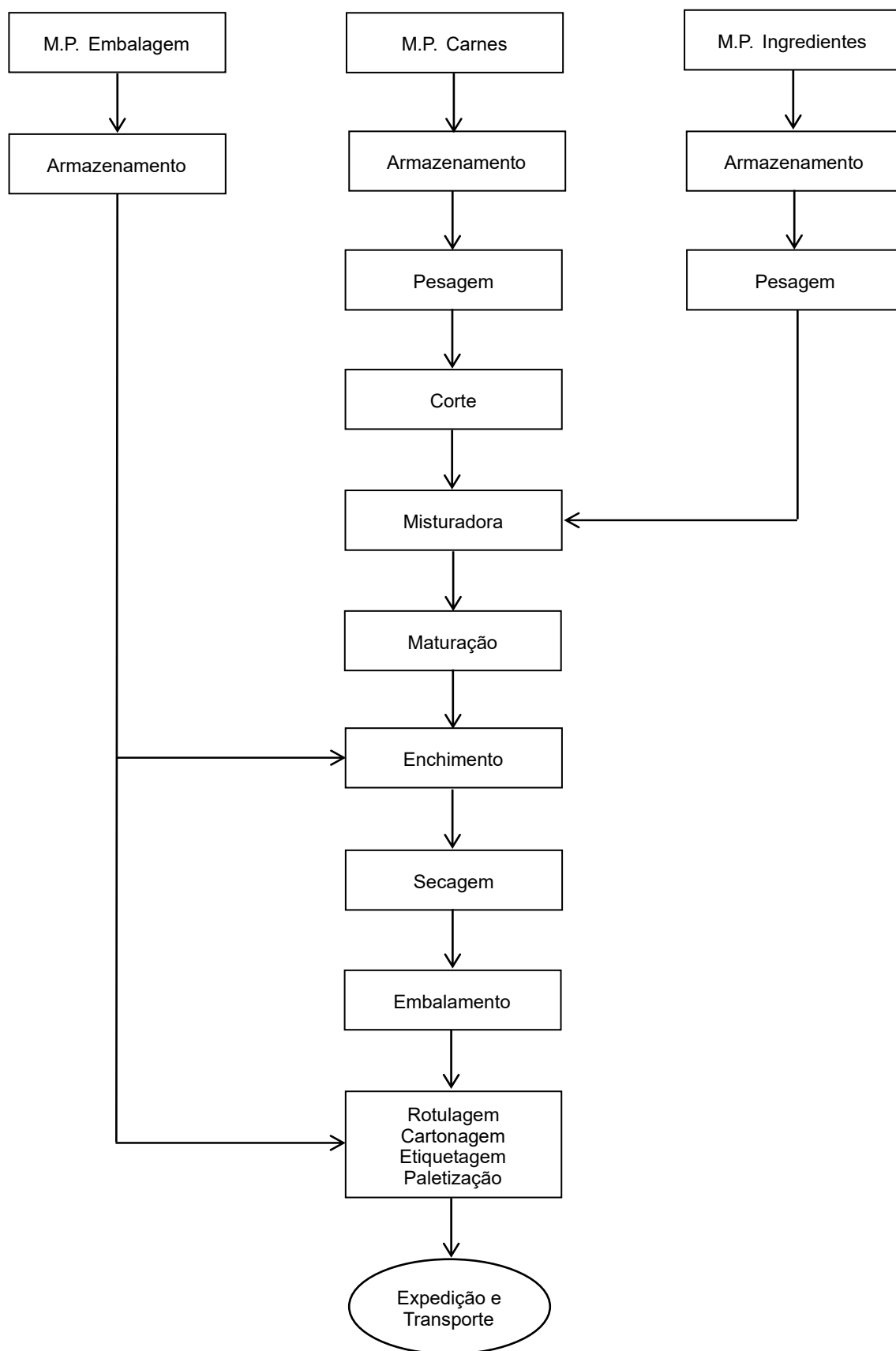


Figura 4. Fluxograma do processo tecnológico do produto chouriço corrente.

2.3. Formulações dos produtos antes e após redução do teor de nitrito de sódio

De forma a proceder às alterações necessárias para reduzir o teor de nitrito nas fórmulas dos produtos em estudo, foram necessários outros dados relevantes, para além da fórmula em uso. Esses dados, como a percentagem de injeção e o rendimento do processo, foram considerados para assegurar que o produto final não fosse afetado. Para isso, foi necessário proceder à reformulação das fórmulas originais de cada produto. Essa reformulação permitiu a redução de nitrito de sódio, através do aditivo sal nitritado e, conseqüentemente, o acerto da fórmula através do aumento na quantidade de sal refinado e água.

2.3.1. Fiambre da perna

Na Tabela 8 está discriminada a fórmula original do fiambre da perna, utilizada neste estudo, com um rendimento considerado de 100%.

Tabela 8. Fórmula original do fiambre da perna.

Fiambre da perna	
Matéria-prima Carnea	76,541%
Emulsionantes	0,501%
Água	16,820%
Proteína Colagénio Porco	0,428%
Sal nitritado	0,149%
Sal refinado	1,443%
Dextrose	1,493%
Dextrose (adição a seco)	0,398%
Carragenato	0,397%
Carragenato (adição a seco)	0,202%
Aroma 1	0,010%
Aroma 2	0,010%
Aroma 3	0,010%
Lactato de potássio	1,400%
Diacetado de sódio	0,150%
Antioxidante	0,050%
TOTAL	100,000%

Na Tabela 9, encontra-se a fórmula utilizada para produzir o fiambre da perna com a quantidade de nitrito de sódio que respeita o novo Regulamento (UE) nº 2108 (2023).

Tabela 9. Nova fórmula do fiambre da perna, com a quantidade de nitrito de sódio que respeita o novo Regulamento (UE) nº 2108, 2023.

Fiambre da perna	
Matéria-prima Carnea	76,541%
Emulsionantes	0,501%
Água	16,826%
Proteína Colagénio Porco	0,428%
Sal nitritado	0,076%
Sal refinado	1,508%
Dextrose	1,493%
Dextrose (adição a seco)	0,398%
Carragenato	0,397%
Carragenato (adição a seco)	0,202%
Aroma 1	0,010%
Aroma 2	0,010%
Aroma 3	0,010%
Lactato de potássio	1,400%
Diacetado de sódio	0,150%
Antioxidante	0,050%
TOTAL	100,000%

De modo a alcançar estes valores, foi necessário respeitar alguns passos imprescindíveis inerentes às alterações em qualquer fórmula. Apesar da quantidade de nitrito ser o principal objetivo desta alteração de fórmula, outros ingredientes, consequentemente, sofreram também alterações.

Primeiramente, uma vez que o aditivo utilizado é sal nitritado, ou seja, uma mistura de sal (NaCl) e nitrito de sódio, foi necessário recorrer à ficha técnica do produto, de modo a perceber que quantidade de nitrito de sódio está, efetivamente, incorporada. Assim, o sal nitritado em causa, apresenta na sua constituição 10,5% de nitrito de sódio e, os restantes 89,5% são sal. De seguida, foi necessário compreender a quantidade máxima de sal nitritado que pode ser incorporada na fórmula, de acordo com o Regulamento (UE) nº 2108 (2023). Este novo limite máximo é de 80 mg/kg de produto

acabado. Quando dividido por 10,5%, a percentagem de nitrito de sódio existente no ingrediente sal nitritado, foi possível obter a nova quantidade máxima de sal nitritado, 0,762 g de sal nitritado por kg de produto acabado.

Encontrada a nova quantidade de sal nitritado, foi necessário corrigir o sal refinado fornecido pelo sal nitritado. Isto porque, em comparação com a fórmula original, houve uma redução de 1,49 g para 0,762 g de sal nitritado que, para além de nitrito de sódio, também contém sal (NaCl). Deste modo, segundo a fórmula original, o sal nitritado fornecia 89,5% de 1,49 g, ou seja, 1,33 g de sal. Por outro lado, após a reformulação, o sal nitritado apenas fornece 89,5% de 0,762 g, ou seja, 0,682 g de sal. Assim, a diferença entre 1,33 g e 0,682 g de sal, cerca de 0,65 g, resultou na quantidade a aumentar no ingrediente sal refinado, daí o aumento na percentagem de sal refinado na nova fórmula, que passou de 1,443% para 1,508%.

Finalmente, após incorporação na fórmula das novas percentagens de sal nitritado e sal refinado, não se obteve 100%, ficando a faltar, na fórmula, a quantidade de 0,056g. Assim, e uma vez que a água é um ingrediente que não impacta as características do produto final nesta quantidade, procedeu-se a um aumento da quantidade da água em 0,056 g, ou seja, aumentou-se de 16,820% para 16,826% na fórmula. O mesmo raciocínio aplicou-se para os restantes produtos.

2.3.2. Salsicha tipo frankfurt

Na Tabela 10, está discriminada a fórmula original da salsicha tipo frankfurt, utilizada neste estudo, com um rendimento de 90% após o primeiro tratamento térmico.

Tabela 10. Fórmula original da salsicha tipo frankfurt.

Salsicha tipo frankfurt	
Matéria-prima Cárneas	48,764%
Água	26,433%
Abastol (E 450)	0,500%
Sal nitritado	0,100%
Sal refinado	3,629%
Enzima transglutaminase	0,100%
Especiarias	0,355%
Açúcar	0,100%
Fibra	0,207%
Eritorbato de sódio (E 316)	0,053%
Proteína de soja	3,108%
Amido	7,102%
Reciclados	9,547%
TOTAL	100,000%

Por outro lado, na Tabela 11, encontra-se a fórmula utilizada para produzir salsicha tipo frankfurt com a quantidade de nitrito de sódio que respeita o novo Regulamento (UE) nº 2108 (2023).

Tabela 11. Nova fórmula da salsicha tipo frankfurt, com a quantidade de nitrito de sódio que respeita novo Regulamento (UE) nº 2108, 2023.

Salsicha tipo Frankfurt	
Matéria-prima Carnea	48,764%
Água	26,438%
Abastol (E 450)	0,500%
Sal nitritado	0,069%
Sal refinado	3,657%
Enzima transglutaminase	0,100%
Especiarias	0,355%
Açúcar	0,100%
Fibra	0,207%
Eritorbato de sódio (E 316)	0,053%
Proteína de soja	3,108%
Amido	7,102%
Reciclados	9,547%
TOTAL	100,000%

2.3.3. Chouriço corrente

Na Tabela 12, está discriminada a fórmula original de chouriço C«corrente, utilizada neste estudo, com um rendimento de 80%.

Tabela 12. Fórmula original de chouriço corrente.

Chouriço corrente	
Carne de suíno	59,300%
Couratos	11,050%
Emulsionantes	0,349%
Sal nitritado	0,133%
Sal refinado	1,414%
Açúcar	0,177%
Oleoresina de pimentão	0,056%
Especiarias	1,145%
Proteína de soja	3,168%
Massa de pimentão	2,578%
Antioxidante	0,052%
Água	16,169%
Água (utilizada para hidratação da proteína texturizada)	4,409%
TOTAL	100,000%

Inicialmente procedeu-se a um acerto na quantidade de nitrito de sódio da fórmula original, apresentado na Tabela 13, uma vez que se encontrava ligeiramente acima do limite estabelecido pelo Regulamento (UE) nº 1333 (2008).

Tabela 13. Nova fórmula de chouriço corrente com acerto na quantidade nitrito de sódio da fórmula original no que concerne o Regulamento (UE) nº1333, 2008.

Chouriço corrente	
Carne de suíno	59,300%
Couratos	11,050%
Emulsionantes	0,349%
Sal nitritado	0,119%
Sal refinado	1,414%
Açúcar	0,177%
Oleoresina de pimentão	0,056%
Especiarias	1,145%
Proteína de soja	3,168%
Massa de pimentão	2,578%
Antioxidante	0,052%
Água	16,183%
Água (utilizada para hidratação da proteína texturizada)	4,409%
TOTAL	100,000%

A alteração na percentagem da água, deve-se à necessidade de acertar o total da fórmula novamente para 100%, após uma redução na percentagem de sal nitritado. Se apenas se procedesse à redução dessa percentagem, a soma dos restantes componente não seria 100%. Assim, e uma vez que a água é um ingrediente que não impacta as características do produto final nesta quantidade, compensou-se a redução da quantidade de sal nitritado com um ligeiro aumento de água.

Finalmente, após o acerto do ingrediente sal nitritado, foi possível obter a fórmula onde a quantidade de nitrito de sódio incorporada cumpre os novos limites impostos pelo Regulamento (UE) nº 2108 (2023), apresentado na Tabela 14.

Tabela 14. Nova fórmula de chouriço corrente, com a quantidade de nitrito de sódio que respeita o novo Regulamento (UE) nº 2108, 2023.

Chouriço corrente	
Carne de suíno	59,300%
Couratos	11,050%
Emulsionantes	0,349%
Sal nitrinado	0,061%
Sal refinado	1,479%
Açúcar	0,177%
Oleoresina de pimentão	0,056%
Especiarias	1,145%
Proteína de soja	3,168%
Massa de pimentão	2,578%
Antioxidante	0,052%
Água	16,177%
Água (utilizada para hidratação da proteína texturizada)	4,409%
TOTAL	100,000%

2.4. Amostragem

Procedeu-se à produção com as novas fórmulas, obtendo-se três novos produtos de fiambre da perna, salsicha tipo frankfurt e chouriço corrente. Após a produção, efetuou-se a recolha destes produtos, bem como dos produtos com fórmula original, de modo a enviar para o laboratório externo onde se efetuaram as análises microbiológicas. Estas amostras foram armazenadas em câmaras de refrigeração, de modo a manter os produtos na temperatura ideal, para seguirem em conformidade para o laboratório.

Relativamente às amostras de fiambre da perna, foram analisadas um total de 27 amostras Controlo e 27 amostras Teste, com 150 gramas, ao longo de 8 semanas (45 dias). As restantes amostras permaneceram armazenadas, não só para avaliar e controlar na fábrica a evolução das mesmas, mas também para salvaguardar a possibilidade de ser necessário reenviar alguma amostra para o laboratório.

Todas as semanas, incluindo no momento em que as amostras chegaram ao laboratório externo, foram analisadas 3 amostras Teste e Controlo. A estabilidade do produto foi avaliada ao longo de 45 dias, mediante essas análises microbiológicas para

garantir que no prazo de validade estabelecido pela indústria (30 dias), o produto esteja seguro para consumo. Como é possível verificar na Tabela 15, T0 identifica o momento em que as amostras chegaram ao laboratório, e foram imediatamente analisadas. Os restantes tempos identificam a semana em que as amostras foram novamente analisadas (T1 representa a primeira semana, e assim sucessivamente até ao T8, a oitava e última semana de análises).

Tabela 15. Prazo estabelecido e número de amostras “Controlo” e “Teste” para as análises microbiológicas de fiambre da perna (T0- Tempo 0; T1- 1 semana; T2- 2 semanas; T3- 3 semanas; T4- 4 semanas; T5- 5 semanas; T6- 6 semanas; T7- 7 semanas; T8- 8 semanas).

Controlo									
T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	Total
3	3	3	3	3	3	3	3	3	27
Teste									
T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	Total
3	3	3	3	3	3	3	3	3	27

O estudo realizado às amostras de salsicha tipo frankfurt foi distinto dos restantes estudos efetuados às amostras de fiambre da perna, bem como de chouriço corrente, isto porque este produto apresenta um prazo de validade relativamente extenso, cerca de 2 anos. Após produção de salsichas, com a redução de nitrito de sódio, foram recolhidas 15 amostras (latas), devidamente identificadas como Teste, com 8 unidades cada. Relativamente às amostras Controlo, com a fórmula original e produzidas no mesmo dia da produção das amostras Teste, foram igualmente recolhidas 15 amostras (latas), com 8 unidades cada. Deste modo, apenas foi testada uma amostra Controlo e Teste, para cada ensaio realizado. Assim, as amostras foram incubadas à temperatura de 37°C, 55°C e temperatura ambiente, durante 7 dias. Após este período, as amostras foram analisadas relativamente à sua estabilidade mediante análises microbiológicas.

Quanto à recolha das amostras identificadas como Teste e Controlo de chouriço corrente, esta foi efetuada em alturas distintas. Inicialmente, após a reformulação da fórmula inicial de chouriço corrente, produziu-se uma pequena quantidade, de modo a obter as amostras Controlo, uma vez que esta fórmula apresentava valores de nitrito de sódio sensivelmente mais elevados que o limite imposto no momento (Regulamento (UE) nº 1333, 2008). Assim, foram recolhidas 20 amostras deste produto, em embalagens de 400 gramas.

Por outro lado, após a produção da fórmula correspondente às amostras Teste (formulação corrigida de acordo com o Regulamento (UE) nº 2108 (2023), estas foram embaladas em embalagens de 1 kg, e foram recolhidas 20 amostras. É de notar, novamente, que apenas 15 embalagens destes produtos foram analisadas e enviadas para o laboratório externo, uma vez que as restantes foram devidamente armazenadas para eventuais repetições e avaliação visual do produto na indústria durante o prazo de validade.

As 30 amostras (15 amostras Teste e 15 amostras Controlo) foram agrupadas em conjuntos de três. No entanto, uma vez que o prazo de validade estabelecido pela indústria é de 90 dias, cerca de 3 meses, as amostras foram analisadas todos os meses. Isto implicou quatro tempos distintos, incluindo o T0, efetuado assim que as amostras chegaram ao laboratório. Contudo, como é possível verificar na Tabela 16, as amostras foram analisadas para além do prazo de validade, sendo neste caso mais um mês, resultando num T4.

Tabela 16. Prazo estabelecido e número de amostras “Controlo” e “Teste” para as análises microbiológicas de chouriço corrente (T0- Tempo 0; T1- 1 mês; T2- 2 meses; T3- 3 meses; T4- 4 meses).

Controlo					
T0	T1	T2	T3	T4	Total
3	3	3	3	3	15
Teste					
T0	T1	T2	T3	T4	Total
3	3	3	3	3	15

2.5. Análises microbiológicas

De modo a verificar a segurança dos produtos cárneos em estudo, procedeu-se à realização de análises microbiológicas ao longo dos prazos mencionados nas Tabela 15 e Tabela 16. As análises microbiológicas efetuadas nas diferentes amostras recolhidas, apresentadas na Tabela 17, foram realizadas num laboratório externo denominado DIN, SA., (Desenvolvimento e Inovação Nutricional, SA.), pertencente ao grupo francês *CCPA Conseils et Compétences en Productions Animales*, especializado em nutrição e saúde animal e com unidades de produção, laboratórios e centros de investigação distribuídos por todo o mundo. O reconhecimento da competência técnica e de gestão do laboratório foi conferido pela acreditação em conformidade com a NP EN ISO/IEC 17025(2018), atribuído pelo Instituto Português de Acreditação, no âmbito alimentar e agroalimentar.

Tabela 17. Análises microbiológicas efetuadas nas amostras “Controlo” e “Teste” de fiambre da perna, salsicha tipo frankfurt e chouriço corrente.

Ensaio	Método
Contagem esporos de <i>Clostridium</i> spp. sulfito-redutores	ISO 15213-1:2023
Contagem de Bactérias Ácido-Láticas a 30°C	ISO 15214:1998
Contagem de E. coli β-glucuronidase positiva	ISO 16649-2:2001
Contagem de Microrganismos a 30°C	ISO 4833-1:2013/Amd.1:2022
Contagem de Enterobacteriaceae	Rapid'Enterobacteriaceae-AFNOR BRD 07/24-11/13
Contagem de Estafilococos coagulase positiva	ISO 6888-1:2021/Amd.1:2023
Contagem de Bolores	Symphony Agar AFNOR BKR 23/11 - 12/18
Contagem de Leveduras	Symphony Agar AFNOR BKR 23/11 - 12/18
Contagem de Bolores e Leveduras	Symphony Agar AFNOR BKR 23/11 - 12/18
Contagem de <i>Listeria monocytogenes</i>	Compass Listeria Agar - AFNOR BKR 23/05 -12/07
Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.	Rapid Salmonella - AFNOR BRD 07/11-12/05
Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	Compass Listeria Agar AFNOR BKR 23/02-11/02

2.6. Ensaio de estabilidade

A estabilidade é um atributo de um produto que mantém as suas características após o processamento, nas condições normais de armazenamento, durante o período de validade. Neste estudo, a estabilidade das amostras foi testada de forma distinta, consoante o tipo de produto em causa.

2.6.1. Fiambre da perna

A estabilidade do produto foi avaliada ao longo de 45 dias, mediante análises microbiológicas (Tabela 15 e Tabela 17) para garantir que no prazo de validade estabelecido pela indústria (30 dias), o produto esteja seguro para consumo.

2.6.2. Salsicha tipo frankfurt

A estabilidade das amostras de salsicha tipo frankfurt foi avaliada de forma distinta dos restantes produtos mencionados neste estudo. Foram considerados 7 dias como período durante o qual não deverão existir quaisquer alterações nas amostras do produto. As amostras foram incubadas em estufa a 37°C e a 55°C, bem como a temperatura ambiente durante 7 dias (três amostras Teste e três amostra Controlo para cada temperatura) e foi efetuada uma apreciação das características definidoras de estabilidade, como é possível observar na Tabela 18. Após os períodos de incubação, as amostras foram colocadas a arrefecer à temperatura ambiente. Para cada Teste e Controlo, uma amostra foi analisada microbiologicamente, e as restantes amostras seguiram para prova de estabilidade e esterilidade. Todas as amostras foram cuidadosamente observadas para detetar alterações da forma, sinais de fuga e outras anomalias visíveis. No ato da abertura das amostras, registaram-se eventuais saídas de gás e anotaram-se as suas características. Este exame foi efetuado em todas as unidades incubadas. As amostras foram consideradas estáveis quando, quer no exame externo quer nas provas de estufa, não se verificaram quaisquer alterações microbiológicas ou físicas.

Tabela 18. Provas de estabilidade efetuadas nas amostras “Controlo” e “Teste” de salsicha tipo frankfurt.

Ensaio	Método
Prova de estufa com Incubação a 37°C	NP 4401-1:2002
Prova de estufa com Incubação a 55°C	NP 2309-1:1988
Prova de Esterilidade a 37°C	NP 2309-2:1988
Prova de Esterilidade a 55°C	NP 2309-2:1988

2.6.3. Chouriço corrente

A estabilidade do produto foi avaliada ao longo de 120 dias (4 meses), mediante análises microbiológicas (Tabela 16 e Tabela 17) para garantir que no prazo de validade estabelecido pela indústria (90 dias), o produto esteja seguro para consumo.

3. Resultados

3.1. Ensaio de estabilidade

Os ensaios de estabilidade efetuados para avaliar os efeitos da redução da quantidade de nitrato de sódio na segurança dos produtos estudados, realizara-se mediante a comparação dos resultados das análises microbiológicas obtidos nas amostras “Controlo” e nas amostras com a alteração (“Teste”), ao longo do prazo de validade previamente estabelecido pela indústria (30 dias para o Fiambre e 90 dias para o chouriço).

Fiambre da perna e chouriço corrente

Os resultados das análises microbiológicas efetuadas às amostras de fiambre da perna (amostras “Controlo” e amostras “Teste” - após redução do teor em nitrato de sódio), ao longo 8 semanas, estão apresentados na Figura 5. Da mesma forma, os resultados das análises microbiológicas efetuadas às amostras de chouriço corrente

(amostras “Controlo” e amostras “Teste” - após redução do teor em nitrito de sódio), ao longo 4 meses, estão apresentados na Figura 6. Os resultados apresentados nas Figura 5 e Figura 6, correspondem à média±desvio-padrão dos valores obtidos após análise de três amostras para cada tempo apresentado. Estes resultados são apresentados em Logaritmo de Unidade Formadora de Colónias por grama de amostra (log UFC/g de amostra). No que concerne às análises de pesquisa de *salmonella spp.* e de *listeria monocytogenes*, estes microrganismos não foram detetados em nenhuma das amostras.

Analisando os valores obtidos na Figura 5, é possível verificar que os valores de esporos *clostridium* (Figura 5 - A), *e. coli* β -glucuronidase positiva (Figura 5 - C), bolores (Figura 5 - G) e *listeria monocytogenes* (Figura 5 - J) são idênticos em ambos os tipos de amostras de fiambre da perna, ao longo do tempo estudado (1 ± 0 Log UFC/g de amostra). De igual forma, os valores de esporos *clostridium* (Figura 5 - A), *E. coli* β -glucuronidase positiva (Figura 5 - C), Bolores (Figura 5 - G), *listeria monocytogenes* (Figura 5 - J) e *enterobacteriaceae* (Figura 5 - E) apresentam valores idênticos em ambos os tipos de amostras de chouriço corrente, ao longo do tempo estudado (1 ± 0 Log UFC/g).

Nas restantes análises microbiológicas efetuadas às amostras de fiambre da perna, ou seja, na contagem de Bactérias Acido-Láticas a 30°C (Figura 5 - B), microrganismos a 30°C (Figura 5- D), *enterobacteriaceae* (Figura 5 - E), *estafilococos coagulase* positiva (Figura 5 - F), leveduras (Figura 5 - H), leveduras e bolores (Figura 5 - I), os resultados foram distintos. Quanto à contagem de *enterobacteriaceae*, os valores médios foram muito semelhantes (1 ± 0 Log UFC/g) à exceção da semana 7, em que o valor foi superior a $2\pm 2,4$ log UFC/g. Da mesma forma, os resultados da contagem de *estafilococos coagulase* positiva também apresentaram valores elevados no Tempo 0, quer para as amostras Controlo (2 ± 0 Log UFC/g) quer para as amostras Teste ($1,7\pm 0,6$ Log UFC/g). Estes resultados não coincidem com os restantes valores obtidos ao longo do tempo, pelo que estas amostras podem ter sido alvo contaminação prévia.

No que concerne aos resultados obtidos para as amostras de chouriço corrente, a contagem de *estafilococos coagulase* positiva (Figura 6 - F), apresentou valores elevados (2 ± 0 Log UFC/g) assim que as amostras chegaram ao laboratório e foram analisadas (Tempo 0), o que não coincide com os restantes valores obtidos ao longo do período estudado, provavelmente devido a alguma contaminação prévia ou, por outro lado, terem sofrido alguma contaminação no momento da análise, uma vez que os valores são iguais tanto no Teste como no Controlo, e nos meses seguintes, os resultados mantiveram os valores de 1 ± 0 Log UFC/g.

Os valores associados à contagem de bactérias ácido-láticas a 30°C (Figura 5 e Figura 6 - B), microrganismos a 30°C (Figura 5 e Figura 6 - D), leveduras (Figura 5 e Figura 6 - H) e leveduras e bolores (Figura 5 e Figura 6 - I), são os que apresentam maiores variações. Na Figura 5 - B, no que respeita à contagem de bactérias ácido-láticas a 30°C, é possível verificar que os valores das amostras “Controlo” variaram entre 2 e 9 log UFC/g, enquanto os valores das amostras “Teste” variaram entre 4 e 8 log UFC/g e, relativamente à contagem de microrganismos a 30°C, os valores das amostras “Controlo” variaram entre 3 e 9 Log UFC/g, enquanto os valores das amostras “Teste” variaram entre 5 e 8,5 Log UFC/g. Apesar dos valores associados às amostras “Controlo” (8 e 8,20 Log UFC/g), nas últimas semanas de análise, serem mais elevados que os valores “Teste” (8,8 e 9,20 Log UFC/g), ao longo do prazo de validade, os valores mantiveram-se semelhantes. É de notar que os valores obtidos em cada tempo são semelhantes, resultando em desvios-padrão reduzidos, entre 0,05 e 1,5, para a contagem de bactérias ácido-láticas a 30°C, à exceção do Tempo 0, em que o desvio-padrão corresponde a um valor próximo de 3, tal como na contagem de microrganismos a 30°C, em que os valores estão entre 0,02 e 1,5, à exceção do tempo 0, em que o desvio-padrão atinge o valor de 3.

Por outro lado, os valores obtidos nas amostras “Teste” de chouriço corrente foram mais elevados que os obtidos com as amostras “Controlo”, no que respeita a contagem de bactérias ácido-láticas a 30°C (Figura 6 - B), em que os valores das amostras “Controlo” variaram entre 5 e 7 Log UFC/g, enquanto os valores das amostras “Teste” entre 7 e 8 Log UFC/g. Quanto à contagem de microrganismos a 30°C (Figura 6 - D), os valores das amostras “Controlo” variaram entre 6 e 7 Log UFC/g e os valores das amostras “Teste” entre 7 e 8,5 Log UFC/g. Neste caso, os valores obtidos em cada tempo também foram semelhantes, resultando em desvios-padrão reduzidos, entre 0,1 e 0,7, para a contagem de bactérias ácido-láticas a 30°C, bem como para a contagem de microrganismos a 30°C, em que os desvios-padrão variaram entre 0,1 e 0,6.

Segundo Huang (2023), os microrganismos com maior incidência em fiambres e chouriços são as bactérias ácido-láticas, como é possível comprovar mediante os resultados obtidos, uma vez que constituíram o grupo de microrganismos com os valores mais elevados, atingindo valores de 9 Log UFC/g.

Quanto à contagem de leveduras (Figura 6 - H), as amostras “Teste” apresentaram, a partir do primeiro mês (T1), valores médios elevados ($1,8 \pm 0,7$ Log UFC/g) enquanto as amostras “Controlo” apenas apresentaram valores médios elevados ($3 \pm 1,1$ Log UFC/g e $4 \pm 0,7$ Log UFC/g) no terceiro (T3) e quarto mês (T4) de estudo. Sendo que o prazo de validade do chouriço são 90 dias, cerca 3 meses, a estabilidade e segurança das amostras Teste foi evidentemente afetada, uma vez que apresentaram

contaminação por leveduras a partir do primeiro mês. Da mesma forma, na Figura 5 - H, as amostras “Controlo” apenas revelaram leveduras na sexta semana (T6) e na oitava semana (T8), enquanto as amostras “Teste” apresentaram leveduras na terceira semana (T3), na quarta semana (T4) e na sexta semana (T6). É de notar que no Tempo 0, uma das amostras “Teste” continha leveduras, ao contrário das restantes, o que resultou num elevado desvio-padrão, 1,45. Uma vez que, apenas uma das amostras apresentou este resultado, é provável que tenha sofrido alguma contaminação prévia. Quanto às amostras “Controlo”, tanto na sexta semana (T6) como na oitava (T8), apenas uma amostra apresentou leveduras no seu conteúdo, o que resultou num desvio-padrão elevado (2,4 e 1,52, respetivamente). E, sendo que o prazo de validade do fiambre da perna fatiado são 30 dias, as amostras “Controlo” permaneceram estáveis ao longo do prazo de validade, contrariamente às amostras “Teste”, que revelaram leveduras na terceira (T3) e quarta (T4) semana, previamente ao término do prazo de validade do produto. Pelo que, para este produto, houve alteração da estabilidade e segurança após redução de nitrito de sódio.

Após interpretação dos resultados, pode concluir-se que a redução de nitrito de sódio tornou o produto mais sensível à deterioração por parte de leveduras, um resultado esperado uma vez que, como afirma Srour *et al.* (2023), o nitrito de sódio confere proteção contra leveduras.

Em suma, após interpretação dos resultados das análises microbiológicas efetuadas às amostras de fiambre da perna e chouriço corrente, é possível concluir que a estabilidade e segurança destes produtos foi afetada após a redução do teor de nitrito de sódio, de acordo com o Regulamento (UE) nº 2108 (2023), ao longo do prazo de validade.



Figura 5. Resultados das análises microbiológicas de fiambre da perna com redução de nitrito de sódio, ao longo do prazo de validade ($\bar{X} \pm$ desvio-padrão; n=3) (T0- Tempo 0; T1- 1 semana; T2- 2 semanas; T3- 3 semanas; T4- 4 semanas; T5- 5 semanas; T6- 6 semanas; T7- 7 semanas; T8- 8 semanas). Controlo: amostras de produto sem redução do teor de nitrito de sódio (Regulamento (UE) n.º 1333, 2008); Teste: amostras de produto com a redução do teor de nitrito de sódio (Regulamento (UE) nº 2108, 2023) (A - *Clostridium* spp. sulfito-redutores; B - Bactérias Ácido-Láticas a 30°C; C - *E. coli* β -glucuronidase positiva; D - Microrganismos a 30°C; E - *Enterobacteriaceae*; F - *Estafilococcus coagulase* positiva; G - Bolores; H - Leveduras; I - Bolores e Leveduras; J - *Listeria monocytogenes*).



Figura 6. Resultados das análises microbiológicas do chouriço corrente com redução de nitrito de sódio, ao longo do prazo de validade ($\bar{X} \pm$ desvio-padrão; n=3) (T0- Tempo 0; T1- 1 mês; T2- 2 meses; T3- 3 meses; T4- 4 meses). Controlo: amostras de produto sem redução do teor de nitrito de sódio (Regulamento (UE) n.º 1333, 2008); Teste: amostras de produto com a redução do teor de nitrito de sódio (Regulamento (UE) n.º 2108, 2023) (A - *Clostridium* spp. sulfito-redutores; B - Bactérias Ácido-Láticas a 30°C; C - *E. coli* β-glucuronidase positiva; D - Microrganismos a 30°C; E - *Enterobacteriaceae*; F - Estafilococos coagulase positiva; G - Bolores; H - Leveduras; I - Bolores e Leveduras; J - *Listeria monocytogenes*).

Salsicha tipo frankfurt

O estudo realizado às amostras de salsicha tipo frankfurt foi distinto dos efetuados às amostras de fiambre da perna, bem como de chouriço corrente. Neste caso, apenas foram analisadas uma amostra “Controlo” e uma amostra “Teste”, para cada ensaio realizado.

No que diz respeito aos ensaios de estabilidade do produto salsicha tipo frankfurt, foram efetuados mediante análises microbiológicas às amostras de produto, com (“Teste”) e sem alteração (“Controlo”), após incubação à temperatura ambiente, a 37°C e a 55°C, durante 7 dias, os resultados estão apresentados nas Figura 7, Figura 8 e Figura 9, respetivamente. Os valores obtidos são iguais, quer para as amostras Controlo, quer para as amostras Teste.

Quanto aos ensaios de estabilidade, os resultados obtidos encontram-se na Tabela 19. Segundo a NP 4401-1:2002 e NP 2309-2:1988, as amostras Controlo e Teste, após incubação a 37°C e 55°C durante 7 dias, respetivamente, apresentaram-se estáveis.

Tabela 19. Resultados das provas de estabilidade ao fim de 7 dias a 37°C e 55°C das amostras Controlo (sem redução do teor de nitrito de sódio e de acordo com o Regulamento (UE) n.º 1333, 2008) e Teste (com redução do teor de nitrito de sódio e de acordo com o Regulamento (UE) nº 2108, 2023) das salsichas tipo frankfurt.

Provas de Estabilidade		
	37°C	55°C
Controlo	Conserva Estável	Conserva Estável
Teste	Conserva Estável	Conserva Estável



Figura 7. Resultado das análises microbiológicas, após incubadas durante 7 dias à temperatura ambiente, Controlo (sem redução do teor de nitrito de sódio e de acordo com o Regulamento (UE) n.º 1333, 2008) e Teste (com redução do teor de nitrito de sódio e de acordo com o Regulamento (UE) nº 2108, 2023) das salsichas tipo frankfurt.



Figura 8. Resultado das análises microbiológicas, após incubadas durante 7 dias a 37°C, Controlo (sem redução do teor de nitrito de sódio e de acordo com o Regulamento (UE) n.º 1333, 2008) e Teste (com redução do teor de nitrito de sódio e de acordo com o Regulamento (UE) n.º 2108, 2023) das salsichas tipo frankfurt.



Figura 9. Resultado das análises microbiológicas, após incubadas durante 7 dias a 55°C, Controlo (sem redução do teor de nitrito de sódio e de acordo com o Regulamento (UE) n.º 1333, 2008) e Teste (com redução do teor de nitrito de sódio e de acordo com o Regulamento (UE) n.º 2108, 2023) das salsichas tipo frankfurt.

Quanto aos ensaios de esterilidade, os resultados obtidos encontram-se na Tabela 20. Segundo a NP 2309-2:1988, as amostras Controlo e Teste, tanto a 37°C como a 55°C, apresentaram-se estéreis.

Tabela 20. Resultados das provas de esterilidade ao fim de 7 dias a 37°C e 55°C das amostras Controlo (sem redução do teor de nitrito de sódio e de acordo com o Regulamento (UE) n.º 1333, 2008) e Teste (com redução do teor de nitrito de sódio e de acordo com o Regulamento (UE) n.º 2108, 2023) das salsichas tipo frankfurt.

Provas de Esterilidade		
	37°C	55°C
Controlo	Conserva Estéril	Conserva Estéril
Teste	Conserva Estéril	Conserva Estéril

Relativamente aos resultados das análises microbiológicas, apresentadas nas Figura 7, Figura 8 e Figura 9, estes foram equivalentes quer para as amostras “Controlo”, quer para as amostras “Teste”. Da mesma forma, as provas de estabilidade e esterilidade efetuadas às diferentes temperaturas de incubação (37°C e 55°C), comprovaram a estabilidade e “esterilidade” das amostras Controlo e Teste. Neste tipo de produto, mesmo após a redução do teor de nitrito de sódio, este manteve as suas características estáveis, uma vez que foi sujeito a tratamentos térmicos que eliminou as formas vegetativas e esporuladas dos microrganismos potencialmente presentes, tal como afirma Pal (2018), mantendo-se assim “estéril” à temperatura ambiente, no prazo mínimo de 2 anos, se devidamente estanque.

Neste contexto, é possível afirmar que a redução de nitrito de sódio, de acordo com o Regulamento (UE) n.º 2108 (2023), na fórmula de salsicha tipo frankfurt, não afetou a segurança nem a estabilidade do produto.

Segundo Zhang (2023) alternativas ao nitrito de sódio parecem ser a melhor solução para a substituição deste aditivo nos produtos cárneos. Isto porque, como foi possível comprovar com este trabalho, a redução de nitrito de sódio influencia a estabilidade e segurança de produtos cárneos processados, como fiambre da perna e chouriço corrente. Alternativas ao nitrito de sódio podem passar por extratos de folhas e plantas como aipo, alface, agrião, espinafre, entre outros, que contém nitrato (Shakil et al., 2022), extrato de polifenóis (Ferysiuk & Wójciak, 2020), concentrado natural com ingredientes ativos obtidos por hidro-destilação de alho fresco e seco (*Allium sativum* L.) e cebola (*Allium cepa* L.) (de Niederhäusern et al., 2021), como também altas pressões hidrostáticas e ácidos orgânicos como Lactacto e Sorbato (Shakil et al., 2022).

Estas alternativas possibilitam replicar algumas das funções importantes do nitrito de sódio, nomeadamente, a extensão do tempo de vida útil dos produtos. Desta forma, é possível que seja necessário encontrar uma alternativa ao nitrito de sódio para os produtos fiambre da perna e chouriço corrente, uma vez que a redução do mesmo não garante a segurança e estabilidade dos produtos.

4. Conclusões e Perspetivas futuras

No presente trabalho, estudou-se o efeito da redução de nitrito de sódio em consonância com o Regulamento (UE) nº 2108 (2023) na estabilidade e segurança de produtos cárneos processados, nomeadamente, fiambre da perna, salsicha tipo frankfurt e chouriço corrente, durante o prazo de validade estabelecido pela indústria (30 dias, 2 anos e 90 dias, respetivamente).

Com este estudo, foi possível verificar que apenas o produto salsichas tipo frankfurt não foi afetado pela redução de nitrito de sódio, pelo que, esta redução apresenta boas perspetivas de ser adotada pela indústria. De facto, os resultados dos ensaios de estabilidade e esterilidade indicaram que, para as amostras “Teste” e “Controlo”, após incubação durante 7 dias à temperatura ambiente, a 37°C e a 55°C, apresentaram-se como estáveis e estéreis, assim como os resultados das análises microbiológicas que também comprovam a estabilidade de ambas as amostras “Teste” e “Controlo”. Tais resultados vão ao encontro do esperado para este tipo de produto, uma vez que se trata de um produto sujeito a processamento térmico que elimina as formas vegetativas e esporuladas dos microrganismos potencialmente presentes.

Pelo contrário, os produtos fiambre da perna e chouriço corrente sofreram alterações ao longo do prazo de validade, nomeadamente no que respeita às contagens de bactérias ácido-láticas a 30°C, microrganismos a 30°C e leveduras. Assim, é de salientar que a redução de nitrito de sódio, sem a adição de outro ingrediente com funções semelhantes, não parece ser suficiente para garantir a segurança e estabilidade destes produtos cárneos durante o seu prazo de validade.

Desta forma, seria relevante aprofundar o estudo quanto aos ingredientes com funções semelhantes às do nitrito de sódio, que possam ser incorporados em produtos alimentares e que funcionem com produtos cárneos processados, como é o caso de extratos de folhas e plantas (aiço, alface, agrião, espinafre), bem como tecnologias que promovam o aumento da vida útil dos produtos, como altas pressões hidrostáticas, que eliminam potenciais microrganismos presentes.

5. Referências Bibliográficas

Afkhami, A., Masahi, S., & Bahram, M. (2004). Spectrophotometric Determination of Nitrite Based on Its Reaction with p-Nitroaniline in the Presence of Diphenylamine in Micellar Media. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 25. <https://doi.org/10.5012/bkcs.2004.25.7.1009>

Alahakoon, A. U., Jayasena, D. D., Ramachandra, S., & Jo, C. (2015). Alternatives to nitrite in processed meat: Up to date. *Trends in Food Science & Technology*, 45(1), 37–49. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.05.008>

Allaker, R. P., Silva Mendez, L. S., Hardie, J. M., & Benjamin, N. (2001). Antimicrobial effect of acidified nitrite on periodontal bacteria. *Oral Microbiology and Immunology*, 16(4), 253–256. <https://doi.org/10.1034/j.1399-302X.2001.160410.x>

Al-Shuibi, A. M., & Al-Abdullah, B. M. (2002). Substitution of nitrite by sorbate and the effect on properties of mortadella. *Meat Science*, 62(4), 473–478. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00041-4](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00041-4)

Álvarez, D., Castillo, M., Payne, F. A., Garrido, M. D., Bañón, S., & Xiong, Y. L. (2007). Prediction of meat emulsion stability using reflection photometry. *Journal of Food Engineering*, 82(3), 310–315. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.02.031>

Ambrosoli, R., Gay, P., Minati, J., Piccarolo, P., Ricauda Aimonino, D., & Tortia, C. (2007). *Optimisation of ham post-process pasteurization: Computational models and methods*.

Arokiyaraj, S., Dinakarkumar, Y., & Shin, H. (2024). A comprehensive overview on the preservation techniques and packaging of processed meat products: Emphasis on natural derivatives. *Journal of King Saud University - Science*, 36(1), 103032. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2023.103032>

Asioli, D., Aschemann-Witzel, J., Caputo, V., Vecchio, R., Annunziata, A., Næs, T., & Varela, P. (2017). Making sense of the “clean label” trends: A review of consumer food choice behavior and discussion of industry implications. *Food Research International*, 99, 58–71. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.022>

Azizi-Lalabadi, M., Moghaddam, N. R., & Jafari, S. M. (2023). 9—Pasteurization in the food industry. Em S. M. Jafari (Ed.), *Thermal Processing of Food Products by Steam and Hot Water*, 247–273. Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818616-9.00009-2>

Bedale, W., Sindelar, J. J., & Milkowski, A. L. (2016). Dietary nitrate and nitrite: Benefits, risks, and evolving perceptions. *Meat Science*, *120*, 85–92. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.03.009>

Berardi, G., Albenzio, M., Marino, R., D'Amore, T., Di Taranto, A., Vita, V., & Iammarino, M. (2021). Different use of nitrite and nitrate in meats: A survey on typical and commercial Italian products as a contribution to risk assessment. *LWT*, *150*, 112004. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112004>

Bernardo, P., Patarata, L., Lorenzo, J. M., & Fraqueza, M. J. (2021). Nitrate Is Nitrate: The Status Quo of Using Nitrate through Vegetable Extracts in Meat Products. *Foods*, *10*(12), 3019. <https://doi.org/10.3390/foods10123019>

Chazelas, E., Pierre, F., Druésne-Pecollo, N., Esseddik, Y., Szabo de Edelenyi, F., Agaesse, C., De Sa, A., Lutchia, R., Gigandet, S., Srouf, B., Debras, C., Huybrechts, I., Julia, C., Kesse-Guyot, E., Allès, B., Galan, P., Hercberg, S., Deschasaux-Tanguy, M., & Touvier, M. (2022). Nitrites and nitrates from food additives and natural sources and cancer risk: Results from the NutriNet-Santé cohort. *International Journal of Epidemiology*, *51*(4), 1106–1119. <https://doi.org/10.1093/ije/dyad046>

Cheng, C., Jiang, L., Li, X., Song, H., & Fang, W. (2024). Can natural preservatives serve as a new line of protective technology against bacterial pathogens in meat and meat products? *Food Quality and Safety*, *8*, 1-17. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyad049>

Comité Científico da Alimentação Humana, 1990, Parecer sobre nitratos e nitritos. *Jornal da Comissão Europeia*, 26º Série, p.21.

Comité Científico da Alimentação Humana, 1995, Parecer sobre nitratos e nitritos. *Jornal da Comissão Europeia*, 38º Série, p.1.

Coombs, C. E. O., Holman, B. W. B., Friend, M. A., & Hopkins, D. L. (2017). Long-term red meat preservation using chilled and frozen storage combinations: A review. *Meat Science*, *125*, 84–94. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.11.025>

Crowe, W., Elliott, C. T., & Green, B. D. (2019). A Review of the In Vivo Evidence Investigating the Role of Nitrite Exposure from Processed Meat Consumption in the Development of Colorectal Cancer. *Nutrients*, *11*(11), 2673. <https://doi.org/10.3390/nu11112673>

Dave, D., & Ghaly, A. E. (2011). Meat spoilage mechanisms and preservation techniques: A critical review. *American Journal of Agricultural and Biological Science*, *6*(4), 486–510. <https://doi.org/10.3844/ajabssp.2011.486.510>

de Niederhäusern, S., Bondi, M., Camellini, S., Sabia, C., Messi, P., & Iseppi, R. (2021). Plant Extracts for the Control of *Listeria monocytogenes* in Meat Products. *Applied Sciences*, *11*(22), 10820. <https://doi.org/10.3390/app112210820>

Dellavalle, C. T., Xiao, Q., Yang, G., Shu, X.-O., Aschebrook-Kilfoy, B., Zheng, W., Lan Li, H., Ji, B.-T., Rothman, N., Chow, W.-H., Gao, Y.-T., & Ward, M. H. (2014). Dietary nitrate and nitrite intake and risk of colorectal cancer in the Shanghai Women's Health Study. *International Journal of Cancer*, *134*(12), 2917–2926. <https://doi.org/10.1002/ijc.28612>

Demeyer, D., Mertens, B., De Smet, S., & Ulens, M. (2016). Mechanisms Linking Colorectal Cancer to the Consumption of (Processed) Red Meat: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *56*(16), 2747–2766. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.873886>

Di Nunzio, M., Loffi, C., Montalbano, S., Chiarello, E., Dellafiora, L., Picone, G., Antonelli, G., Tedeschi, T., Buschini, A., Capozzi, F., Galaverna, G., & Bordoni, A. (2022). Cleaning the Label of Cured Meat; Effect of the Replacement of Nitrates/Nitrites on Nutrients Bioaccessibility, Peptides Formation, and Cellular Toxicity of In Vitro Digested Salami. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(20), 12555. <https://doi.org/10.3390/ijms232012555>

Parthasarathy DK, Bryan NS (2012). Sodium nitrite: The «cure» for nitric oxide insufficiency. *Meat Science*, 92(3), 274-279. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.03.001>

Domínguez, R., Gómez, M., Fonseca, S., & Lorenzo, J. M. (2014). Effect of different cooking methods on lipid oxidation and formation of volatile compounds in foal meat. *Meat Science*, 97(2), 223–230. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.01.023>

EFSA. (2017). Re-evaluation of potassium nitrite (E 249) and sodium nitrite (E 250) as food additives. *EFSA Journal. European Food Safety Authority*, 15(6), e04786. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4786>

EFSA. (2023). Risk assessment of N-nitrosamines in food. *EFSA Journal. European Food Safety Authority*, 21(3), e07884. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.7884>

El-Saber Batiha, G., Hussein, D. E., Algammal, A. M., George, T. T., Jeandet, P., Al-Snafi, A. E., Tiwari, A., Pagnossa, J. P., Lima, C. M., Thorat, N. D., Zahoor, M., El-Esawi, M., Dey, A., Alghamdi, S., Hetta, H. F., & Cruz-Martins, N. (2021). Application of natural antimicrobials in food preservation: Recent views. *Food Control*, 126, 108066. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108066>

Ferysiuk, K., & Wójciak, K. M. (2020). Reduction of Nitrite in Meat Products through the Application of Various Plant-Based Ingredients. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(8), 711. <https://doi.org/10.3390/antiox9080711>

Flores, M., & Toldrá, F. (2021). Chemistry, safety, and regulatory considerations in the use of nitrite and nitrate from natural origin in meat products—Invited review. *Meat Science*, 171, 108272. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108272>

Fратиanni, F., De Martino, L., Melone, A., De Feo, V., Coppola, R., & Nazzaro, F. (2010). Preservation of Chicken Breast Meat Treated with Thyme and Balm Essential Oils. *Journal of Food Science*, 75(8), 528–535. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01791.x>

Gassara, F., Kouassi, A. P., Brar, S. K., & Belkacemi, K. (2016). Green Alternatives to Nitrates and Nitrites in Meat-based Products-A Review. *CRITICAL REVIEWS IN FOOD*

SCIENCE AND NUTRITION, 56(13), 2133–2148.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2013.812610>

Gava, A.J., Silva, C.A.B. & Frias, J.R.G. (2008) *Tecnologia de alimentos. Princípios e ações*. São Paulo: Nobel. 342-352.

Giromini, C., & Givens, D. I. (2022). Benefits and Risks Associated with Meat Consumption during Key Life Processes and in Relation to the Risk of Chronic Diseases. *Foods*, 11(14), 2063. <https://doi.org/10.3390/foods11142063>

Girouard, J., Frenette, G., & Sullivan, R. (2011). Comparative proteome and lipid profiles of bovine epididymosomes collected in the intraluminal compartment of the caput and cauda epididymidis. *International Journal of Andrology*, 34, 475–486. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2011.01203.x>

Gray, J. I., Macdonald, B., Pearson, A. M., & Morton, I. D. (1981). Role of Nitrite in Cured Meat Flavor: A Review. *Journal of Food Protection*, 44(4), 302–312. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-44.4.302>

Guéraud, F., Buisson, C., Promeprat, A., Naud, N., Fouché, E., Bézirard, V., Dupuy, J., Plaisancié, P., Héliès-Toussaint, C., Trouilh, L., Martin, J.-L., Jeuge, S., Keuleyan, E., Petit, N., Aubry, L., Théodorou, V., Frémaux, B., Olier, M., Caderni, G., ... Pierre, F. (2023). Effects of sodium nitrite reduction, removal or replacement on cured and cooked meat for microbiological growth, food safety, colon ecosystem, and colorectal carcinogenesis in Fischer 344 rats. *Npj Science of Food*, 7(1), 53. <https://doi.org/10.1038/s41538-023-00228-9>

Guerra, A. F. (2024). Update on the use and abuse of preservatives in meat products. *Food Control*, 166, 110775. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2024.110775>

Halagarda, M., & Wójciak, K. M. (2022). Health and safety aspects of traditional European meat products. A review. *Meat Science*, 184, 108623. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108623>

Herrmann, S. S., Granby, K., & Duedahl-Olesen, L. (2015). Formation and mitigation of N-nitrosamines in nitrite preserved cooked sausages. *Food Chemistry*, 174, 516–526. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.101>

- Honikel, K.-O. (2008). The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Science*, 78(1), 68–76. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.05.030>
- Hord, N. G., Tang, Y., & Bryan, N. S. (2009). Food sources of nitrates and nitrites: The physiologic context for potential health benefits. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 90(1), 1–10. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.27131>
- Hospital, X. F., Hierro, E., Stringer, S., & Fernández, M. (2016). A study on the toxigenesis by *Clostridium botulinum* in nitrate and nitrite-reduced dry fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 218, 66–70. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.11.009>
- Huang, L., Zeng, X., Sun, Z., Wu, A., He, J., Dang, Y., & Pan, D. (2020). Production of a safe cured meat with low residual nitrite using nitrite substitutes. *Meat Science*, 162, 108027. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.108027>
- Huang, Q., Zhang, H., Zhang, L., & Xu, B. (2023). Bacterial microbiota in different types of processed meat products: Diversity, adaptation, and co-occurrence. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–16. <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2272770>
- Hung, Y., Verbeke, W., & de Kok, T. M. (2016). Stakeholder and consumer reactions towards innovative processed meat products: Insights from a qualitative study about nitrite reduction and phytochemical addition. *Food Control*, 60, 690–698. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.09.002>
- Ishangulyyev, R., Kim, S., & Lee, S. H. (2019). Understanding Food Loss and Waste—Why Are We Losing and Wasting Food? *Foods*, 8(8), 297. <https://doi.org/10.3390/foods8080297>
- Jakobsen, J., & Hansen, A. (2020). Geographies of meatification: An emerging Asian meat complex. *Globalizations*, 17(1), 93–109. <https://doi.org/10.1080/14747731.2019.1614723>
- Jayasena, D. D., & Jo, C. (2013). Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 34(2), 96–108. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.09.002>

Kalaycıoğlu, Z., & Erim, F. B. (2019). Nitrate and Nitrites in Foods: Worldwide Regional Distribution in View of Their Risks and Benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(26), 7205–7222. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b01194>

Lee, D. Y., Lee, S. Y., Jo, C., Yoon, Y., Jeong, J. Y., & Hur, S. J. (2021). Effect on health from consumption of meat and meat products. *Journal of Animal Science and Technology*, 63(5), 955–976. <https://doi.org/10.5187/jast.2021.e101>

Lim, S.-C., Foster, N. F., & Riley, T. V. (2016). Susceptibility of *Clostridium difficile* to the food preservatives sodium nitrite, sodium nitrate and sodium metabisulphite. *Anaerobe*, 37, 67–71. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2015.12.004>

Lidon, F., Silvestre, M. M. (2007). *Indústrias Alimentares. Aditivos e Tecnologia (1ª edição)*, 360. Escolar Editora.

Lofgren, P. A. (2013). Meat, Poultry, and Meat Products: Nutritional Value. Em B. Caballero (Ed.), *Encyclopedia of Human Nutrition (Third Edition)*, 160–167. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375083-9.00184-7>

Lopez, C. M., Dallolio, G., Bonilauri, P., & Rebecchi, A. (2021). Strategies for Nitrite Replacement in Fermented Sausages and Effect of High Pressure Processing against *Salmonella* spp. And *Listeria innocua*. *Foods*, 10(11), Artigo 11. <https://doi.org/10.3390/foods10112617>

Lund, M. N., Heinonen, M., Baron, C. P., & Estévez, M. (2011). Protein oxidation in muscle foods: A review. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55(1), 83–95. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201000453>

Lundberg, J. O., Carlström, M., & Weitzberg, E. (2018). Metabolic Effects of Dietary Nitrate in Health and Disease. *Cell Metabolism*, 28(1), 9–22. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.06.007>

Lyng, J. G., Clemente, I., & McKenna, B. M. (2019). Chapter 23—Ohmic Pasteurization of Meat and Meat Products. Em M. Kutz (Ed.), *Handbook of Farm, Dairy and Food Machinery Engineering (Third Edition)* (593–622). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814803-7.00023-3>

Majou, D., & Christieans, S. (2018). Mechanisms of the bactericidal effects of nitrate and nitrite in cured meats. *Meat Science*, *145*, 273–284. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.06.013>

Maruyama, S., Streletskaia, N. A., & Lim, J. (2021). Clean label: Why this ingredient but not that one? *Food Quality and Preference*, *87*, 104062. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2020.104062>

Marwaha, K. (2010). *Control and analysis for Food and Agricultural Products*. New Delhi: Gene-Tech Books. 233-236.

Merino, L., Darnierud, P. O., Toldrá, F., & Ilbäck, N.-G. (2016). Time-dependent depletion of nitrite in pork/beef and chicken meat products and its effect on nitrite intake estimation. *Food Additives & Contaminants: Part A*, *33*(2), 186–192. <https://doi.org/10.1080/19440049.2015.112553>

Myers, K., Cannon, J., Montoya, D., Dickson, J., Lonergan, S., & Sebranek, J. (2013). Effects of high hydrostatic pressure and varying concentrations of sodium nitrite from traditional and vegetable-based sources on the growth of *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat (RTE) sliced ham. *Meat Science*, *94*(1), 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.12.019>

Nethra, P. V., Sunooj, K. V., Aaliya, B., Navaf, M., Akhila, P. P., Sudheesh, C., Mir, S. A., Shijin, A., & George, J. (2023). Critical factors affecting the shelf life of packaged fresh red meat – A review. *Measurement: Food*, *10*, 100086. <https://doi.org/10.1016/j.meaf00.2023.100086>

NP 4393 (2023). Norma Portuguesa da Comissão Técnica C 035 – Carnes e produtos cárneos. Fiambre - Definição e características. Instituto Português da Qualidade, Lisboa, Portugal.

NP 724 (2006). Norma Portuguesa da Comissão Técnica C 035 – Carnes e produtos cárneos. Salsicha tipo “Frankfurt” - Definição e características. Instituto Português da Qualidade, Lisboa, Portugal.

Oliver, S., Pham, T. T. P., Li, Y., Xu, F.-J., & Boyer, C. (2021). More than skin deep: Using polymers to facilitate topical delivery of nitric oxide. *Biomaterials Science*, *9*(2), 391–405. <https://doi.org/10.1039/D0BM01197E>

Pal, M. (2018). Application of Various Techniques for Meat Preservation. *Journal of Experimental Food Chemistry*, *4*, 1–6. <https://doi.org/10.4172/2472-0542.1000134>

Pereira, C., Ferreira, N. R., Rocha, B. S., Barbosa, R. M., & Laranjinha, J. (2013). The redox interplay between nitrite and nitric oxide: From the gut to the brain. *Redox Biology*, *1*(1), 276–284. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2013.04.004>

Pérez, W. A. P., Arango, Z. D. C., Cadavid, E. L. A., Mogollón, M. L. V., López, R. R., Piedrahita, J. C. P., & Acosta, L. M. V. (2023). Efecto de dos sistemas de cocción sobre la transferencia de calor y la letalidad microbiana durante la cocción de jamones. *Ciencia Tecnología Agropecuaria*, *24*(1). https://doi.org/10.21930/RCTA.VOL24_NUM1_ART:2834

Pourazrang, H., Moazzami, A. A., & Bazzaz, B. S. F. (2002). Inhibition of mutagenic N-nitroso compound formation in sausage samples by using l-ascorbic acid and α -tocopherol. *Meat Science*, *62*(4), 479–483. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00042-6](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00042-6)

Regulamento de Execução (UE) n° 1165. (2021). Regulamento da Comissão que autoriza a utilização de determinados produtos e substâncias na produção biológica e que estabelece as listas respetivas, Jornal Oficial da União Europeia, L 253, p. 13-48.

Regulamento de Execução (UE) n° 1333. (2008). Regulamento do Parlamento Europeu e do Conselho relativo aos aditivos alimentares, Jornal Oficial da União Europeia, L 354, p. 16-33.

Regulamento (UE) n° 2108. (2023) Regulamento da Comissão que altera o anexo II do Regulamento (UE) n° 1333 (2008) do Parlamento Europeu e do Conselho e o anexo do Regulamento (UE) n° 231 (2012) da Comissão no que diz respeito aos aditivos alimentares nitritos (E 249-250) e nitratos (E 251-252), Jornal Oficial da União Europeia, L 2023/2108, p. 1-22.

Regulamento de Execução (UE) nº 853. (2004). Regulamento do Parlamento Europeu e do Conselho que estabelece regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal, *Jornal Oficial da União Europeia*, L 139, p. 55-205.

Samad, A., Alam, A. N., Kumari, S., Hossain, M. J., Lee, E.-Y., Hwang, Y.-H., & Joo, S.-T. (2024). Modern Concepts of Restructured Meat Production and Market Opportunities. *Food Science of Animal Resources*, 44(2), 284–298. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2024.e18>

Santarelli, R. L., Pierre, F., & Corpet, D. E. (2008). Processed meat and colorectal cancer: A review of epidemiologic and experimental evidence. *Nutrition and Cancer*, 60(2), 131–144. <https://doi.org/10.1080/01635580701684872>

Serdaroğlu, M., Öztürk, B., & Urgu, M. (2016). Emulsion characteristics, chemical and textural properties of meat systems produced with double emulsions as beef fat replacers. *Meat Science*, 117, 187–195. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.03.012>

Shakil, M. H., Trisha, A. T., Rahman, M., Talukdar, S., Kobun, R., Huda, N., & Zzaman, W. (2022). Nitrites in Cured Meats, Health Risk Issues, Alternatives to Nitrites: A Review. *Foods*, 11(21). <https://doi.org/10.3390/foods11213355>

Sindelar, J., & Milkowski, A. (2011). Sodium Nitrite in Processed Meat and Poultry Meats: A Review of Curin and Examining the Risk and Benefit of Its Use. *White Paper, Series No, 3*, 1–14.

Skibsted, L. H. (2011). Nitric oxide and quality and safety of muscle based foods. *Nitric Oxide*, 24(4), 176–183. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2011.03.307>

Srour, B., Chazelas, E., Druesne-Pecollo, N., Esseddik, Y., de Edelenyi, F. S., Agaësse, C., De Sa, A., Lutchia, R., Debras, C., Sellem, L., Huybrechts, I., Julia, C., Kesse-Guyot, E., Allès, B., Galan, P., Hercberg, S., Pierre, F., Deschasaux-Tanguy, M., & Touvier, M. (2023). Dietary exposure to nitrites and nitrates in association with type 2 diabetes risk: Results from the NutriNet-Santé population-based cohort study. *PLoS Medicine*, 20(1), e1004149. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1004149>

Stoica, M., Antohi, V. M., Alexe, P., Ivan, A. S., Stanciu, S., Stoica, D., Zlati, M. L., & Stuparu-Cretu, M. (2022). New Strategies for the Total/Partial Replacement of

Conventional Sodium Nitrite in Meat Products: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 15(3), 514–538. <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02744-6>

Tauxe, R. V., Doyle, M. P., Kuchenmüller, T., Schlundt, J., & Stein, C. E. (2010). Evolving public health approaches to the global challenge of foodborne infections. *International Journal of Food Microbiology*, 139, 16–28. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.10.014>

Ursachi, C. Ștefan, Perța-Crișan, S., & Munteanu, F.-D. (2020). Strategies to Improve Meat Products' Quality. *Foods*, 9(12), 1883. <https://doi.org/10.3390/foods9121883>

Varnam, A. & Sutherland, J. (1995). Meat and meat products. Technology, chemistry and microbiology. *Food Products Series. Volume 3*. 430. London: Chapman & Hall. ISBN 0412-49560-0.

Villaverde, A., Ventanas, J., & Estévez, M. (2014). Nitrite promotes protein carbonylation and Strecker aldehyde formation in experimental fermented sausages: Are both events connected? *Meat Science*, 98(4), 665–672. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.06.017>

Wang, T., Kaur, L., Beniwal, A. S., Furuhashi, Y., Aoyama, H., & Singh, J. (2023). Physico-chemical and Textural Properties of 3D Printed Plant-based and Hybrid Soft Meat Analogs. *Plant Foods for Human Nutrition*, 78(2), 375–382. Scopus. <https://doi.org/10.1007/s11130-023-01068-4>

Weitzberg, E., & Lundberg, J. O. (2013). Novel Aspects of Dietary Nitrate and Human Health. *Annual Review of Nutrition*, 33, 129–159. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071812-161159>

Zhang, Y., Zhang, Y., Jia, J., Peng, H., Qian, Q., Pan, Z., & Liu, D. (2023). Nitrite and nitrate in meat processing: Functions and alternatives. *Current Research in Food Science*, 6, 100470. <https://doi.org/10.1016/j.crf.2023.100470>

Zhou, X.; Qiao, K.; Wu, H.; Zhang, Y. (2023). The Impact of Food Additives on the Abundance and Composition of Gut Microbiota. *Molecules*, 28, 631. <https://doi.org/10.3390/molecules28020631>

ΓΚΟΒΑΡΗ, Μ., & ΠΕΞΑΡΑ, Α. (2018). Nitrates and Nitrites in meat products. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 66, 127. <https://doi.org/10.12681/jhvms.15856>