

ESCOLA POLITÉCNICA  
BACHARELADO EM QUÍMICA – L.F. QUÍMICA INDUSTRIAL

ANA PAULA RAMOS CARDOSO  
VIRGÍNIA DO NASCIMENTO MARQUES MACHADO

**USO DE BETERRABA (*Beta vulgaris L.*) COMO ALTERNATIVA NATURAL  
AOS NITRATOS E NITRITOS CONVENCIONAIS EM EMBUTIDOS**

Porto Alegre  
2021

GRADUAÇÃO



Pontifícia Universidade Católica  
do Rio Grande do Sul

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
ESCOLA POLITÉCNICA

ANA PAULA RAMOS CARDOSO  
VIRGÍNIA DO NASCIMENTO MARQUES MACHADO

**USO DE BETERRABA (*Beta vulgaris L.*) COMO ALTERNATIVA NATURAL  
AOS NITRATOS E NITRITOS CONVENCIONAIS EM EMBUTIDOS**

Trabalho de Conclusão de Curso desenvolvido e apresentado junto à disciplina de Química Tecnológica II do Curso de Bacharelado em Química – Linha de Formação Química Industrial – da Escola Politécnica da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Orientadoras: Prof. Dr. Jeane Estela Ayres de Lima  
Prof. Dr. Rosane Angélica Ligabue

Porto Alegre

2021

*“O nitrogênio em nosso DNA, o cálcio em nossos dentes, o ferro em nosso sangue, o carbono em nossas tortas de maçã, foram produzidos no interior de estrelas em colapso. Nós somos feitos de poeira estelar.”*

*(Carl Sagan)*

## RESUMO

Atualmente, a indústria de alimentos busca alternativas aos aditivos sintéticos convencionais em produtos alimentícios processados. Alguns tipos de vegetais apresentam em sua composição compostos bioativos, podendo servir como fontes naturais na obtenção de pigmentos, antioxidantes, conservantes, entre outros. Nesse contexto e devido à composição especial da beterraba vermelha, que se destaca pelos altos teores de pigmentos vermelhos (betalaínas) e de conservantes (nitratos), o uso desse vegetal pode ser de interesse principalmente para a indústria de carnes. Considerando a questão dos riscos à saúde pelo consumo de um tipo de produto cárneo em especial, os embutidos, o presente estudo tem como principal objetivo apresentar uma alternativa natural aos nitratos e nitritos, conservantes já consolidados para esse tipo de alimento. Um tipo de embutido em especial, a linguiça Toscana, pode ser considerada uma boa candidata para substituição dos sais de cura convencionais devido à sua popularidade no Brasil, baixo custo e, ainda, pela escassez de estudos específicos. A obtenção de extratos concentrados de beterraba e quantificação de nitratos e nitritos, etapa essencial para verificação da possível aplicação da beterraba foram realizadas, compondo assim a parte prática deste estudo. Extratos de beterrabas provenientes de cultivo orgânico e de cultivo convencional foram preparados, para fins de comparação. Na análise por cromatografia iônica, a beterraba de origem orgânica apresentou 2135,6 ppm de nitratos, enquanto nitritos não foram detectados. A beterraba de cultivo convencional apresentou 732,2 ppm de nitratos, um teor significativamente inferior ao da beterraba orgânica, e os nitritos ficaram abaixo do limite de quantificação. Entretanto, como diversos fatores costumam influenciar no teor de nitratos em beterrabas, entende-se que a escolha dependerá sempre de um controle de qualidade contínuo da matéria-prima por parte do fabricante. Apesar de seus benefícios, a aplicação da beterraba ou derivados (extratos, sucos, pó etc.) na indústria brasileira de carne ainda é limitada. Diante das informações encontradas na literatura e de alguns estudos de caso, conclui-se que a reformulação de produtos cárneos utilizando beterraba não somente como fonte de pigmentos, mas também por sua atividade conservante pode ser viável e bastante válida no que se refere à produção de alimentos mais saudáveis.

**Palavras-chave:** Embutidos. Beterraba. Conservantes alimentares. Nitrato. Linguiça.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Disponibilidade domiciliar por grupo de alimentos (% em calorias).....	9
Figura 2: Diferentes tipos de tripas utilizadas na confecção de embutidos .....	13
Figura 3: Salames em câmara de maturação.....	14
Figura 4: Esquema do complexo mioglobina.....	18
Figura 5: Reações de conversão do nitrato e nitrito .....	19
Figura 6: Reações químicas de formação de nitrosaminas.....	20
Figura 7: Fluxograma geral das principais etapas envolvidas para um estudo de viabilidade do uso de extrato vegetal no embutido.....	22
Figura 8: Linguiça do tipo Toscana .....	23
Figura 9: Representação esquemática da produção de linguiças .....	25
Figura 10: Fluxograma da produção de linguiça Toscana.....	27
Figura 11: Beterrabas inteiras (a) e suas partes: talos (b), bulbos (c) e folhas (d) ....	34
Figura 12: Estrutura química da betanina .....	35
Figura 13: Esquema de um cromatógrafo iônico equipado com gerador de eluente	38
Figura 14: Beterrabas orgânicas inteiras após coleta (a) e seus bulbos cortados em cubos (b) .....	39
Figura 15: Extrato de beterraba orgânica em processo de concentração no evaporador rotativo .....	40
Figura 16: Beterrabas convencionais inteiras (a) e seus bulbos cortados em cubos (b).....	41
Figura 17: Extrato concentrado de beterraba orgânica .....	43
Figura 18: Cromatograma típico obtido da análise em CI do extrato de beterraba orgânica .....	44
Figura 19: Extrato concentrado de beterraba convencional .....	45
Figura 20: Cromatograma típico obtido da análise em CI do extrato de beterraba convencional .....	46
Figura 21: Linguiça do tipo <i>sucuk</i> .....	48

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Formulação para linguiça Toscana.....	24
Tabela 2: Padrões microbiológicos para linguiças frescas de carne suína .....	28
Tabela 3: Classificação de vegetais quanto ao teor de nitrato .....	31
Tabela 4: Valores nutricionais e composição por 100 g da parte comestível da beterraba crua .....	34
Tabela 5: Vantagens e desvantagens das técnicas analíticas utilizadas para nitrato e nitrito .....	36

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	<i>Association of Analytical Communities</i>
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FCC	<i>Food Chemicals Codex</i>
IARC	Agência Internacional de Pesquisa em Câncer
IDA	Ingestão Diária Aceitável
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ISO	Organização Internacional para Padronização (do inglês, <i>International Standardization Organization</i> )
JECFA	<i>Comitê Conjunto FAO/OMS de Especialistas em Aditivos Alimentares (do inglês, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives)</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
POF	Pesquisas de Orçamentos Familiares
PCR	Reação em Cadeia pela Polimerase (do inglês, <i>Polymerase Chain Reaction</i> )

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>11</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>11</b>
3.1	EMBUTIDOS CÁRNEOS	12
3.1.1	Formulação	14
3.1.2	Riscos à saúde	15
3.1.3	Nitratos e nitritos	16
3.1.3.1	<i>Clostridium botulinum</i> e o botulismo alimentar	17
3.1.4	Reações químicas em embutidos	17
3.1.4.1	Formação de nitrosaminas	19
3.1.5	Legislação	20
3.1.6	Substituição dos conservantes convencionais	21
3.1.7	Linguiça Toscana	22
3.1.7.1	Formulação	23
3.1.7.2	Preparação	24
3.1.7.3	Análise microbiológica	27
3.1.7.4	Análise sensorial	29
3.2	NITRATOS EM HORTALIÇAS	30
3.2.1	Cultura orgânica e convencional	32
3.2.2	Beterraba	33
3.2.3	Determinação dos teores de nitratos e nitritos	36
3.2.3.1	Cromatografia iônica	37
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b>	<b>38</b>
4.1	PREPARO DOS EXTRATOS DE BETERRABA	38
4.2	PREPARO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISE EM CI	41
4.3	ANÁLISE DAS AMOSTRAS	42

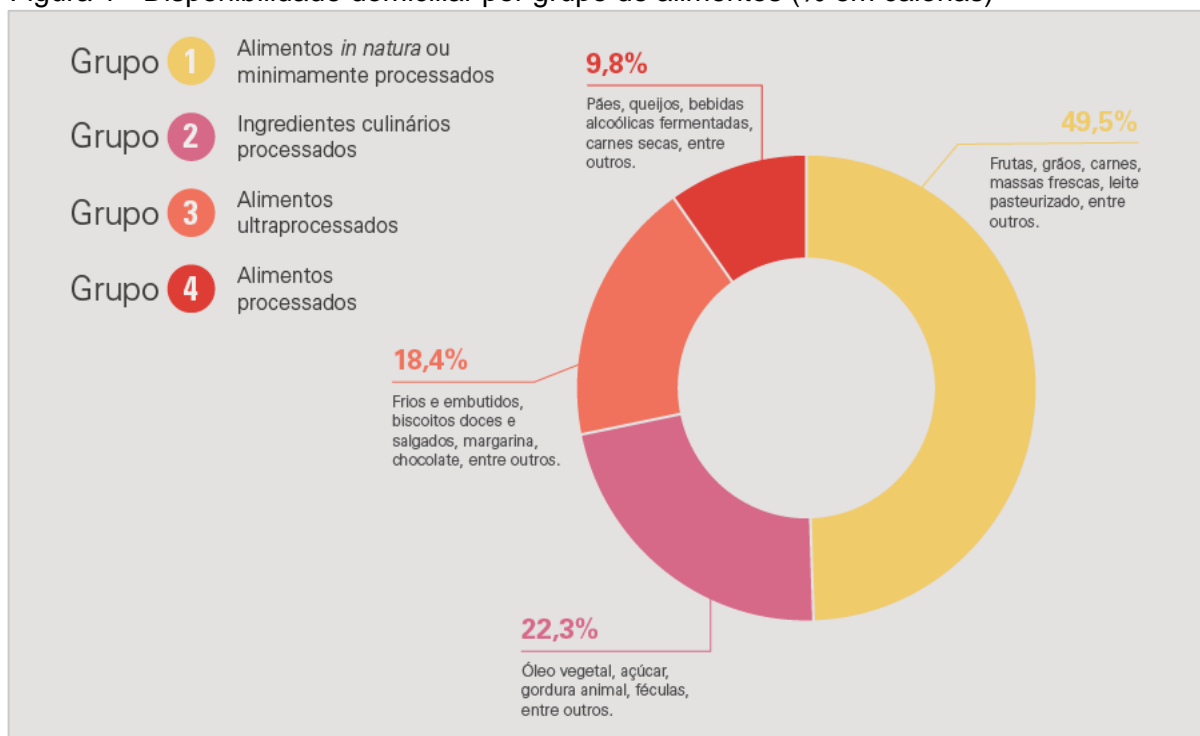


<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>42</b>
5.1 EXTRATOS DE BETERRABA.....	42
<b>5.1.2 Comparação beterraba orgânica e convencional.....</b>	<b>46</b>
5.2 ESTUDOS DE CASO.....	47
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>52</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Nos últimos quinze anos, de acordo com o IBGE (2020), o consumo de alimentos *in natura*, assim como os minimamente processados diminuiu, perdendo espaço no mercado para os alimentos processados e, principalmente, para os chamados ultraprocessados. Conforme pesquisas realizadas pelo próprio instituto, chamadas Pesquisas de Orçamentos Familiares (POFs), foi observado um aumento no consumo de calorias provenientes desse tipo de alimento. Em 2002/2003, o índice era de 12,6% em relação às calorias totais, chegando a 18,4% na última pesquisa referente aos anos 2017/2018. Em contrapartida, a aquisição dos alimentos *in natura* ou minimamente processados caiu de 53,3% das calorias totais para 49,5% considerando o mesmo período. Na Figura 1 pode ser vista a distribuição observada na última pesquisa, considerando as calorias totais, de cada grupo de alimento nos domicílios brasileiros. Dentre os alimentos ultraprocessados, destacaram-se os frios e embutidos, contribuindo com 2,5% em relação à totalidade dos grupos, seguido dos biscoitos e doces (2,1%), biscoitos salgados (1,8%), margarina (1,8%), bolos e tortas doces (1,5%), pães (1,3%), doces em geral (1,3%), bebidas adoçadas carbonatadas (1,2%), chocolate (1%), entre outros (IBGE, 2020).

Figura 1 - Disponibilidade domiciliar por grupo de alimentos (% em calorias)



Fonte: IBGE (2020)

Portanto, enquanto uma parte da sociedade se preocupa com a qualidade de vida, introduzindo em suas dietas hábitos alimentares mais saudáveis, ao mesmo tempo ainda se observa um crescimento do consumo dos chamados ultraprocessados, que englobam os embutidos. Produtos industrializados processados e ultraprocessados costumam ser mais ricos em calorias, sódio, açúcar, gorduras, tendo um menor teor de proteínas e fibras. Os ultraprocessados, em particular, apresentam características específicas como altíssima palatabilidade, maior vida de prateleira e facilidade de transporte, características que incentivam a ingestão excessiva (MARTINS *et al.*, 2013).

No Brasil, ainda são muitos os pequenos fabricantes de embutidos que produzem o alimento por meio de métodos artesanais, sendo bastante recorrente o fato de não existir controle técnico algum em relação às especificações do produto. Embutidos há tempos são objeto de diversas pesquisas mundiais, por utilizarem em seu processo de fabricação conservantes que apresentam efeitos tóxicos à saúde humana. Seu consumo está diretamente associado a alguns tipos de doenças (IAMARINO *et al.*, 2015).

Considerando o cenário atual apresentado e a importância dos embutidos no mercado nacional, torna-se necessária a realização de cada vez mais estudos que abordem esse tipo de alimento ultraprocessado, com ênfase no melhoramento de formulações. Observando trabalhos realizados nos últimos anos, pode-se afirmar que há um grande interesse mundial no uso de vegetais para a melhoria de formulações dos ultraprocessados, pois muitos desses estudos visam à diminuição parcial ou total dos aditivos prejudiciais à saúde e que normalmente estão presentes na sua composição.

O aumento da demanda de alimentos orgânicos (sem aditivos químicos e menos nocivos) por parte dos consumidores é o motivo desse maior interesse em pesquisa e produção de alimentos à base de carne com aditivos naturais a fim de reduzir ou, até mesmo, abolir o uso de alguns conservantes convencionais. No caso dos embutidos, o uso de alternativas naturais como fontes de nitrato e nitrito, como os extratos vegetais, já constituem uma prática comum em alguns países nos últimos anos (FLORES e TOLDRÁ, 2021). De acordo com Lugo (2008), dentre as alternativas para a fabricação de produtos cárneos processados, tem sido considerado o uso de diversos ingredientes de origem natural tais como: licopeno, páprica, betaínas, antocianinas e extratos vegetais.

## 2 OBJETIVOS

O estudo aqui apresentado tem como principal objetivo a busca de novas alternativas na fabricação dos alimentos embutidos, precisamente no que diz respeito à substituição, seja total ou parcial, dos nitratos e nitritos convencionais por conservantes de fontes naturais. Dessa forma, os objetivos específicos a serem atingidos são:

- Apresentar algumas alternativas de origem natural (vegetais com alto poder conservante) descritas na literatura para substituição dos nitratos e nitritos convencionais nesse tipo de alimento, tendo em vista a associação desses conservantes a malefícios à saúde;
- Avaliar o potencial conservante de um vegetal específico, a beterraba vermelha, para preparação de embutidos. Para tal, será analisado o teor de nitratos e nitritos em beterrabas de cultivo orgânico e convencional;
- Apresentar um estudo teórico sobre o uso do extrato de beterraba em um embutido específico, a linguiça Toscana, incluindo controle microbiológico e análise sensorial;
- Apresentar um planejamento para o possível uso do vegetal;
- Oferecer uma alternativa ao público que procura por alimentos mais saudáveis, por meio de uma inovação no que se refere à produção de embutidos cárneos.

## 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As carnes são alimentos perecíveis e apresentam vida de prateleira variável em função das condições de armazenamento. Desde a Antiguidade, o homem sempre buscou preservar suas características de qualidade para manter a provisão de alimentos, o desenvolvimento e a conservação da espécie originando-se, assim, processos e tecnologias de transformação, inicialmente rudimentares e, atualmente, controláveis por padrões tecnológicos, para manter a qualidade dos produtos (OLIVEIRA; ARAÚJO; BORGIO, 2005). Os primeiros dados obtidos a respeito do emprego de sal na conservação de carnes datam de 3.000 a.C. (LAGO, 1997). Os produtos derivados da carne são preferencialmente obtidos a partir de carne fresca e

sofrem um ou mais tipos de processo, entre eles o cozimento, a defumação, a salga, ou qualquer adição de condimento, aditivos e/ou temperos (EMBRAPA-AGEITEC, 2021).

Devido à formulação variada dos nutrientes, a carne torna-se um produto com condições ideais para o desenvolvimento de microrganismos deteriorantes e patogênicos. A proliferação de microrganismos pode ser favorecida por vários fatores, tais como espécie e saúde do animal vivo, manejo antes e durante o abate, resfriamento da carcaça, condições sanitárias de manipulação, tipo de embalagem e condições de distribuição e estocagem (NUNES, 2011).

### 3.1 EMBUTIDOS CÁRNEOS

Linguças, mortadelas, salsichas, presuntos, hambúrgueres, charques e salames estão entre os diversos produtos obtidos pela industrialização da carne (CARTAXO, 2015). São considerados embutidos os produtos obtidos a partir de matérias-primas cárneas submetidas à fragmentação seguida de mistura com diferentes ingredientes e acondicionamento em tripas naturais ou artificiais, com ou sem cozimento (LEMOS; YAMADA; HAGUIWARA, 2008). A industrialização e o processamento de embutidos surgiram como forma de transformação da carne *in natura* em produtos cárneos, possuindo origens diversas como de bovinos, suínos e aves, preferencialmente utilizadas como matérias primas pelos produtores. Os gregos foram os responsáveis pela elaboração dos primeiros documentos que se tem conhecimento sobre fabricação de embutidos. Desde o princípio até os dias atuais, a produção desse tipo de alimento tem como objetivo principal conseguir aumentar a vida útil da carne. Esse aumento do tempo de conservação está diretamente ligado aos fenômenos de desidratação, por meio dos quais se consegue reduzir a atividade da água ( $a_w$ ) (LAGO, 1997).

A utilização de aditivos na produção de carnes industrializadas tem como objetivo conservar, melhorar o sabor e contribuir para a aparência geral do produto final, além de garantir vida de prateleira mais extensa. Os principais agentes de cura utilizados em produtos embutidos são os sais de nitrito e nitrato. O processo de cura envolve a adição de sal, açúcar, nitrito e nitrato à carne para conservar, melhorar o sabor e desenvolver a cor do produto (OLIVEIRA, 2014). Segundo normas brasileiras, a definição de aditivo consiste em uma substância intencionalmente

adicionada ao alimento, com a finalidade de conservar, intensificar ou modificar suas propriedades, desde que não prejudique seu valor nutricional (BALDIN, 2016).

O acondicionamento de produtos cárneos embutidos deve ser feito pelo emprego de envoltórios (tripas), que servem como suporte para a massa cárnea, além de possuírem um papel importante na maturação por permitirem a troca gasosa entre a massa embutida e o ambiente (LAGO, 1997). Existem diferentes tipos de tripas (Figura 2), que se dividem em tripas *in natura* (tripas de animais como porco, gado e carneiro), de origem natural (preparadas com colágeno ou celulose) ou mesmo sintéticas (plásticas). As tripas *in natura* são utilizadas há séculos, sendo totalmente comestíveis e muito bem digeridas pelo corpo humano (CHARCUTARIA.ORG, 2015).

Figura 2 – Diferentes tipos de tripas utilizadas na confecção de embutidos



Fonte: Charcutaria.org (2015)

Para alguns tipos de embutidos, o processo de fabricação envolve o uso de câmaras de secagem e maturação, no interior das quais o alimento fica disposto por um tempo que varia conforme o processo e o tipo de alimento. Este equipamento possui umidade e temperatura programadas e controladas para se obter as características finais desejadas (MAPA, 2002). A Figura 3 mostra uma câmara contendo embutidos do tipo salame de carne de caprinos durante o processo de maturação.

Figura 3 – Salames em câmara de maturação



Fonte: MAPA (2002)

Os embutidos podem ser produzidos com diversos tipos de carnes, obtidas de carcaças inteiras, peças ou retalhos congelados. Porém, o destaque é para a carne suína, que pode ser encontrada facilmente no comércio em pequenas ou grandes quantidades, sendo processada de diferentes formas, conforme o tipo de produto (EMBRAPA, 1996). Das carnes vermelhas, a suína é a mais consumida no mundo. No ano de 2019, o consumo desse tipo de carne no Brasil atingiu 15,3 kg *per capita* (EMBRAPA, 2019).

Dentre os embutidos mais consumidos, desde os tempos antigos, estão as linguiças. Há registros históricos do consumo de linguiça entre os povos babilônico e chinês já por volta de 1500 a.C. Na Idade Média já havia uma grande diversidade de linguiças, que eram nomeadas de acordo com a região de origem (ALVES, 2009).

### 3.1.1 Formulação

A formulação de um embutido varia consideravelmente de acordo com o tipo, a localidade e o fabricante. Porém, de acordo com Lago (1997), há ingredientes básicos com funções específicas que fazem parte do processo de fabricação em quase 100% dos casos:

- Sal comum: além de melhorar o sabor, atua diminuindo a atividade da água e influenciando nos processos bioquímicos que ocorrem durante a maturação.
- Nitratos e nitritos: são os sais responsáveis pela coloração vermelha da carne. Ocorrem sucessivas reduções do nitrato a óxido nitroso. Este reage então com a mioglobina, formando a nitrosilmioglobina, um pigmento vermelho.
- Ácido ascórbico: estabilizador de cor, por ser redutor auxilia na transformação de nitrito em ácido nitroso contribuindo de certa forma para o aparecimento da coloração vermelha na carne.
- Açúcares: fonte de energia para microrganismos, contribuem para a diminuição do pH por meio da formação do ácido lático gerado a partir do desdobramento da glicose.
- Fosfatos: fazem a retenção equilibrada da água, para que parte desta seja retida e o produto não se torne demasiadamente seco. Também atuam como tampões de pH, evitando acidificações elevadas.

### 3.1.2 Riscos à saúde

De acordo com um relatório publicado, em 2015, pela Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC), pertencente Organização Mundial da Saúde (OMS), o consumo de embutidos aumenta o risco de câncer colorretal e de estômago em humanos. Conforme o documento, este tipo de carne processada é um fator de risco para a doença. A partir desta publicação, os embutidos passaram a ser classificadas no chamado “grupo 1” de carcinogênicos, ou seja, substâncias ou produtos para os quais já existem evidências científicas suficientes de ligação com o câncer. A associação de embutidos com o risco de desenvolvimento de câncer já era conhecida, mas sua inclusão na “lista negra” da OMS serviu de alerta para a população mundial, já que na mesma classificação está o tabaco, o amianto e a fumaça de óleo diesel (INCA, 2015).

Ainda, conforme a revisão realizada pela *Harvard School of Public Health*, onde foram examinados 20 estudos publicados em todo o mundo envolvendo mais de um milhão de pessoas, foi apontado um risco 42% maior de incidência de



doenças cardíacas e um risco 19% maior de diabetes tipo 2 para cada porção diária de 50 g, em média, de carne processada consumida (OLHAR CONCEITO, 2020).

### 3.1.3 Nitratos e nitritos

O processo tradicional para fabricação de embutidos requer adição dos chamados “sais de cura”. Os sais de cura utilizados são o nitrato e nitrito de potássio ( $\text{KNO}_3$  e  $\text{KNO}_2$ , respectivamente) ou de sódio ( $\text{NaNO}_3$  e  $\text{NaNO}_2$ ), sendo os de sódio os mais comuns. Nitratos e nitritos estão entre os aditivos alimentares mais antigos, multifuncionais e importantes. Parte da composição do sal natural, esses componentes ajudam a promover a cor, a textura, o sabor e o aroma característico em maturados, além de promoverem ação antimicrobiana (OLIVO e RIBEIRO, 2018). No que se refere aos microrganismos, nitratos e nitritos são compostos usados como aditivos em produtos cárneos principalmente para inibir o crescimento do *Clostridium botulinum*, microrganismo produtor de toxinas letais (SANTOS *et al.*, 2007). O nitrato em si não apresenta nenhuma atividade inibidora contra o *Clostridium botulinum*, mas a sua ação é manifestada após sua redução a nitrito (IAMARINO *et al.*, 2015).

Entretanto, apesar das vantagens, os nitratos e nitritos são responsáveis pela formação das chamadas nitrosaminas, agentes que levam aos riscos do consumo de embutidos. Por isso, sua dosagem depende de legislações específicas (LAGO, 1997).

Quanto à toxicidade, o nitrito é bem mais tóxico que o nitrato. A dose letal para adultos é cerca de 1 g. Quando ingerido produz, principalmente, vasodilatação e relaxamento da musculatura lisa em geral, além da formação de metahemoglobina. Os sintomas para doses mais baixas são mais leves, e consistem no enrubescimento da face e extremidades, dor de cabeça e desconforto gastrointestinal. Doses mais elevadas levam à sintomas mais graves como náusea, vômitos, cianose, dores abdominais e colapso, podendo levar à morte (OLIVEIRA; ARAÚJO; BORGIO, 2005).

O uso de nitritos e nitratos em alimentos costuma demandar certa atenção, tanto pelos efeitos tóxicos decorrentes do excesso na dieta, quanto pela formação endógena das chamadas nitrosaminas, como a N-nitrosodimetilamina e a

monometilnitrosamina, compostos que apresentam efeito carcinogênico (IAMARINO *et al.*, 2015).

#### 3.1.3.1 *Clostridium botulinum* e o botulismo alimentar

O *Clostridium botulinum* é uma bactéria anaeróbica bastante resistente, causadora da doença conhecida como botulismo. O botulismo alimentar ocorre pela ingestão de toxinas pré-formadas pela bactéria, consideradas uma das mais potentes dentre as toxinas conhecidas. Trata-se de uma doença extremamente grave, de evolução aguda, que provoca distúrbios neurológicos e digestivos. A taxa de mortalidade é elevada, ficando entre 30 e 65% (CERESER *et al.*, 2008).

Existem sete tipos de *Clostridium botulinum*, classificados de acordo com a neurotoxina que produzem: A, B, C, D, E, F, e G. Os seres humanos são afetados somente pelas neurotoxinas A, B, E e F (PEREIRA; CAMARGO; LOPES, 2007). A forma mais comum de adquirir o botulismo, em nosso meio, é por meio da ingestão de certos tipos de alimentos contaminados, tais como embutidos e conservas caseiras que não foram submetidos a tratamento térmico adequado, ou que não foram armazenados corretamente, dando condições favoráveis à germinação dos esporos do *Clostridium botulinum*, já presentes no alimento, e à multiplicação desse microrganismo que, conseqüentemente produz a toxina botulínica (CERESER *et al.*, 2008).

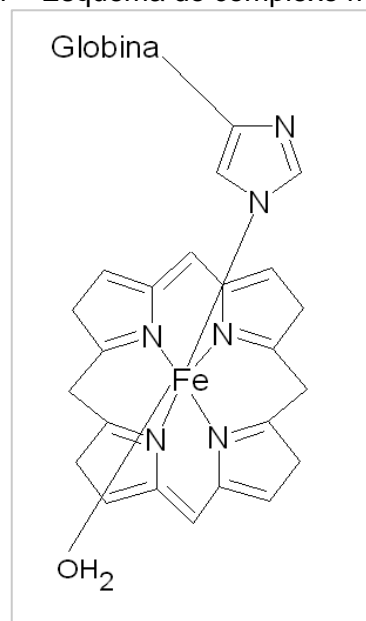
#### 3.1.4 Reações químicas em embutidos

No trato gastrointestinal humano o nitrato pode ser convertido em nitrito pela ação de bactérias redutoras, sendo que no estômago este pode ser transformado em nitrosaminas. A reação de redução de nitratos a nitritos pode ocorrer no alimento ainda mesmo antes do consumo, como é o caso dos embutidos (SANTOS *et al.*, 2007).

De acordo com Lugo (2008), a mioglobina é a principal proteína responsável pela cor natural das carnes em geral e, além dela, existem outras hemoproteínas como a hemoglobina e o citocromo C, que também desempenham um papel importante na cor de carnes como a bovina, de cordeiro e de aves. A mioglobina é uma proteína globular heme, localizada nas fibras dos músculos e sua

concentração, geralmente, depende da espécie, raça, sexo, idade do animal, atividade muscular e tipo de músculo (SOUZA; ARTHUR; CANNIATTI-BRAZACA, 2007). A mioglobina, dependendo do seu estado de oxidação e concentração, pode apresentar variações de tons avermelhados. Entretanto, o vermelho vivo que alguns produtos cárneos comerciais apresentam não se deve à mioglobina em si, mas sim à nitrosilmioglobina ( $MbFe^{II}NO$  ou  $MbNO$ ), resultante da reação da mioglobina com o óxido nítrico (NO), sendo este proveniente da adição de nitratos e/ou nitritos. A reação ocorre porque a mioglobina é formada pela globina, característica de cada espécie animal, e o grupo prostético heme ( $Fe^{+2}$ ). Sendo a mioglobina um complexo de globina e heme (Figura 4), o ferro localizado centralmente tem seis pontos de coordenação, quatro deles ocupados por átomos de nitrogênio do anel tetrapirólico e o quinto ligado a um resíduo de histidina da globina. O sexto ponto permanece disponível para formar complexos com átomos eletronegativos doados por diversos ligantes (LUGO, 2008).

Figura 4 – Esquema do complexo mioglobina

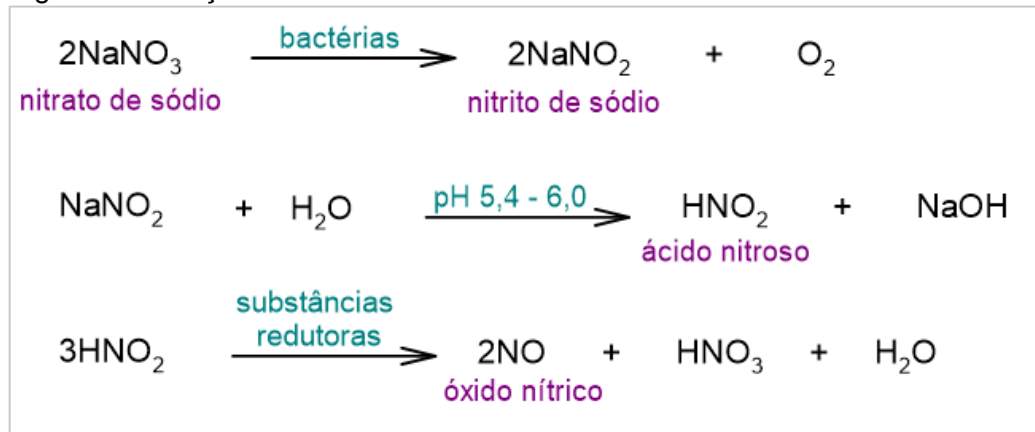


Fonte: Lugo (2008)

Os nitratos e nitritos adicionados ao alimento produzem o óxido nítrico (NO), cujo processo de formação se encontra esquematizado na Figura 5 (AMIN, 2005). Observando as reações se pode verificar que, mesmo sendo adicionado nitrato, este tende a se transformar em nitrito por ação de bactérias, resultando de qualquer forma em óxido nítrico. Portanto, a formação do principal pigmento responsável pela

coloração vermelha dos alimentos cárneos curados depende da redução química dos nitritos em meio ácido, produzindo o óxido nítrico que, posteriormente reage com a mioglobina.

Figura 5 – Reações de conversão do nitrato e nitrito



Fonte: Adaptado de Amin (2005)

O ácido ascórbico e o ácido eritórbico podem ser usados como aceleradores de cura, pois aumentam a velocidade da conversão de nitrito e/ou nitrato em óxido nítrico durante o desenvolvimento da cor no processo de cura de carnes (LUGO, 2008).

#### 3.1.4.1 Formação de nitrosaminas

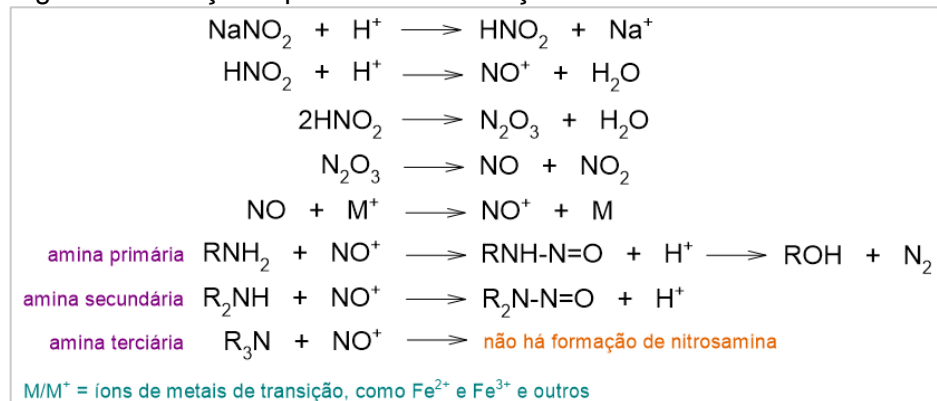
De acordo com Honikel (2008), as nitrosaminas são formadas pela presença de aminas e nitrito, conforme as reações apresentadas na Figura 6. Essas reações são favorecidas em temperaturas mais altas e existem alguns pré-requisitos para que ocorram:

- As aminas devem estar presentes no meio. Na carne fresca, as quantidades de aminas são mínimas. Entretanto, durante o envelhecimento e a fermentação, mais aminas serão formadas.
- Apenas as aminas secundárias formam nitrosaminas estáveis. As aminas primárias são imediatamente degradadas em álcool e nitrogênio, enquanto as aminas terciárias não reagem. A maioria das aminas da carne são aminas primárias, derivadas de  $\alpha$ -aminoácidos.

- Para produzir  $\text{NO}^+$ , o pH deve ser ácido ou íons metálicos devem ser adicionados.

Conforme Dutra, Rath e Reyes (2007), a formação de nitrosaminas por nitrosação das aminas secundárias é favorecida em pH ácido, geralmente com o pH ótimo entre 2 e 4, dependendo do substrato. Isso significa que no estômago há condições de acidez que favorecem a reação.

Figura 6 – Reações químicas de formação de nitrosaminas



Fonte: Adaptado de Honikel (2008)

### 3.1.5 Legislação

De acordo com a agência reguladora estadunidense *Food and Drug Administration – FDA*, quando utilizados como conservantes e fixadores de cor em carnes processadas, os limites no produto acabado de nitrito e nitrato de sódio devem ser, respectivamente, 200 mg/kg e 500 mg/kg (FDA, 2020).

No Brasil, o órgão responsável pela fiscalização é a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, por meio da Resolução da Diretoria Colegiada - RDC 272/2019 que estabelece os aditivos alimentares autorizados para uso em carnes e produtos cárneos, assim como seus limites máximos. Para os industrializados frescos (produtos industrializados crus não submetidos a processos de cozimento ou secagem), por exemplo, a resolução determina que o limite máximo de nitrato de sódio ou potássio adicionado deve ser de 300 mg/kg. Para o nitrito de sódio ou potássio o limite é de 150 mg/kg. A soma dos nitritos e nitratos, determinados como resíduo máximo no alimento, não deve superar 150 mg/kg (expressa como nitrito de sódio). Segundo a RDC 272/2019, os aditivos alimentares devem atender às especificações mais atuais estabelecidas pelo Comitê de Especialistas em Aditivos

Alimentares da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação e da Organização Mundial da Saúde (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives – JECFA*), pelo Código dos Produtos Químicos Alimentícios (*Food Chemicals Codex – FCC*) ou pela União Europeia. (BRASIL, 2019a).

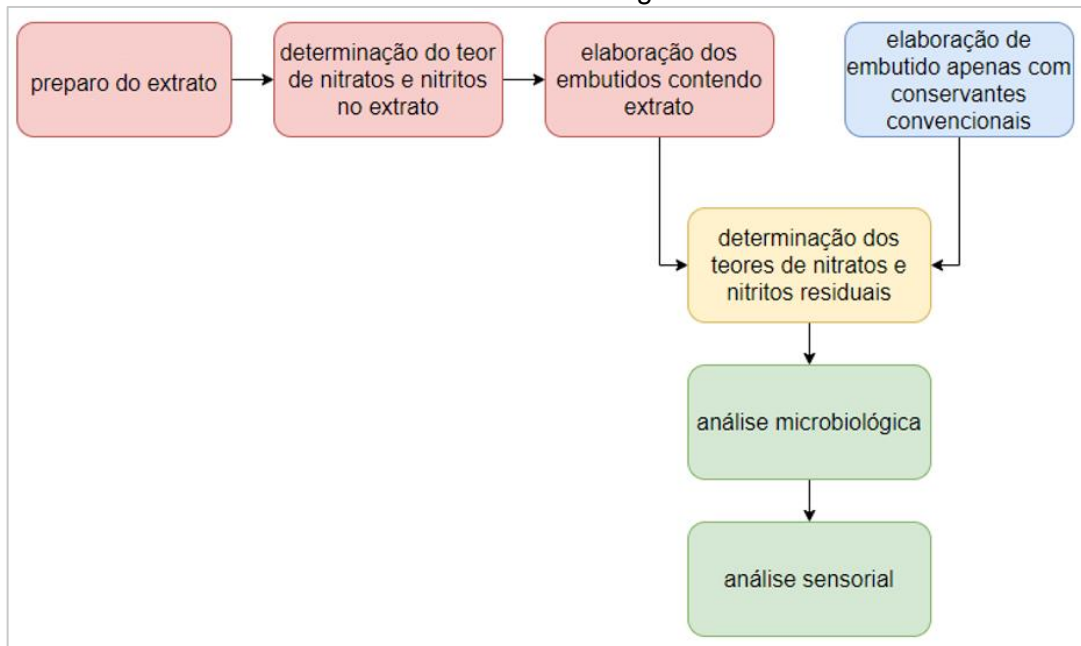
### **3.1.6 Substituição dos conservantes convencionais**

Para fins de elaboração e organização de um processo geral para testes de substituição dos sais de cura convencionais por extratos vegetais em embutidos, alguns pontos devem ser considerados:

- Ao mesmo tempo em que um embutido é preparado com os conservantes convencionais, outros de mesma formulação são preparados apenas com um diferencial: a substituição desses conservantes (totalmente ou em parte) pelo conservante de fonte natural (extrato) em diferentes proporções;
- O restante do processo e ingredientes utilizados devem ser exatamente os mesmos, para que se possa ter uma comparação sem interferência de outros fatores que não sejam os decorrentes da troca efetuada;
- É importante que seja seguida uma ordem, englobando desde o preparo de um extrato vegetal de forma a conter os teores de nitrato e nitrito necessários, passando pela elaboração dos embutidos com a verificação de nitrito e nitrato residuais nos produtos finais e, por fim, a realização de análise microbiológica e sensorial;
- A quantidade adicionada de extrato deve ser capaz de produzir efeito conservante e, ao mesmo tempo estar dentro dos limites estabelecidos pela legislação.

Um processo geral possível se encontra esquematizado no fluxograma da Figura 7.

Figura 7 – Fluxograma geral das principais etapas envolvidas para um estudo de viabilidade do uso de extrato vegetal no embutido



Fonte: As autoras (2021)

### 3.1.7 Linguiça Toscana

A linguiça Toscana, como diz o nome, tem origem na região de Toscana, na Itália, onde é bastante apreciada e chamada de *Salsiccia Toscana*. A receita foi trazida para o Brasil pelos imigrantes (ALVES, 2009).

De acordo com a Instrução Normativa nº 4/2000 do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 2000):

Entende-se por linguiça o produto cárneo industrializado, obtido de carnes de animais de açougue, adicionados ou não de tecidos adiposos, ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial, e submetido ao processo tecnológico adequado. [...] Linguiça Toscana é o produto cru e curado obtido exclusivamente de carnes suína, adicionada de gordura suína e ingredientes.

A linguiça Toscana (Figura 8) faz parte da categoria chamada *linguiças frescas*. Uma linguiça fresca é aquela que não sofre o processo de cozimento,

defumação ou cura longa e sua estocagem é feita sob refrigeração ou congelamento (MARTINS, 2005).

Figura 8 – Linguiça do tipo Toscana



Disponível em: <https://www.shutterstock.com/pt/image-photo/raw-brazilian-sausages-on-wooden-board-1808897461>. Acesso em: 29 maio 2021.

Em virtude da importância dos derivados de carne suína no mercado do país, aliado ao fato de as linguiças estarem entre os produtos processados mais antigos e tradicionais, ainda hoje com ampla aceitação e consumo (ALMEIDA, 2005), a linguiça Toscana pode ser uma boa escolha como embutido objeto de estudo, pois trata-se de um produto elaborado a partir de carne suína, com baixo custo de produção e grande aceitação pelo mercado consumidor no Brasil (BEZERRA *et al.* 2012). É importante citar que, durante a pesquisa bibliográfica para desenvolvimento deste projeto, não foram encontrados trabalhos que utilizassem o extrato de beterraba como único conservante natural aplicado especificamente à linguiça Toscana, mas somente a outros tipos de embutido.

#### 3.1.7.1 Formulação

Para o preparo de linguiça Toscana um exemplo de formulação simples, retirada da publicação *Embutidos, Frios e Defumados* (EMBRAPA, 1996), pode ser visualizada na Tabela 1.



Tabela 1 - Formulação para linguiça Toscana

<b>Ingrediente</b>	<b>Quantidade</b>
Carne suína	4,25 kg
Toucinho	750 g
Açúcar	5 g
Sal	125 g
Alho em pó	10 g
Pimenta-do-reino preta fina	12,5 g
Nitrato de sódio	0,5 g
Nitrito de sódio	0,75 g
Emulsificante	12,5 g

Fonte: Adaptado de EMBRAPA (1996)

Para utilização do extrato de beterraba em substituição ao nitrato e nitrito na formulação, é necessário primeiramente que se procedam as quantificações de nitritos e nitratos nos extratos obtidos, para que se possa dosar quantidades a serem adicionadas no alimento que sejam equivalentes aos conservantes convencionais e que respeitem a legislação vigente.

### 3.1.7.2 Preparação

De acordo com Almeida (2005), as principais etapas envolvidas no processamento de fabricação de uma linguiça frescal são:

- recebimento da matéria-prima;
- preparo e formulação;
- moagem;
- mistura das carnes com condimentos e aditivos;
- cura fria (descanso em ambiente refrigerado por cerca de 12 horas);
- embutimento;
- embalagem;
- expedição ou estocagem (sob refrigeração).

Um esquema básico do processo de obtenção de linguiças em geral é apresentado na Figura 9.

Figura 9 - Representação esquemática da produção de linguiças



Fonte: Adaptado de EMBRAPA (1996)

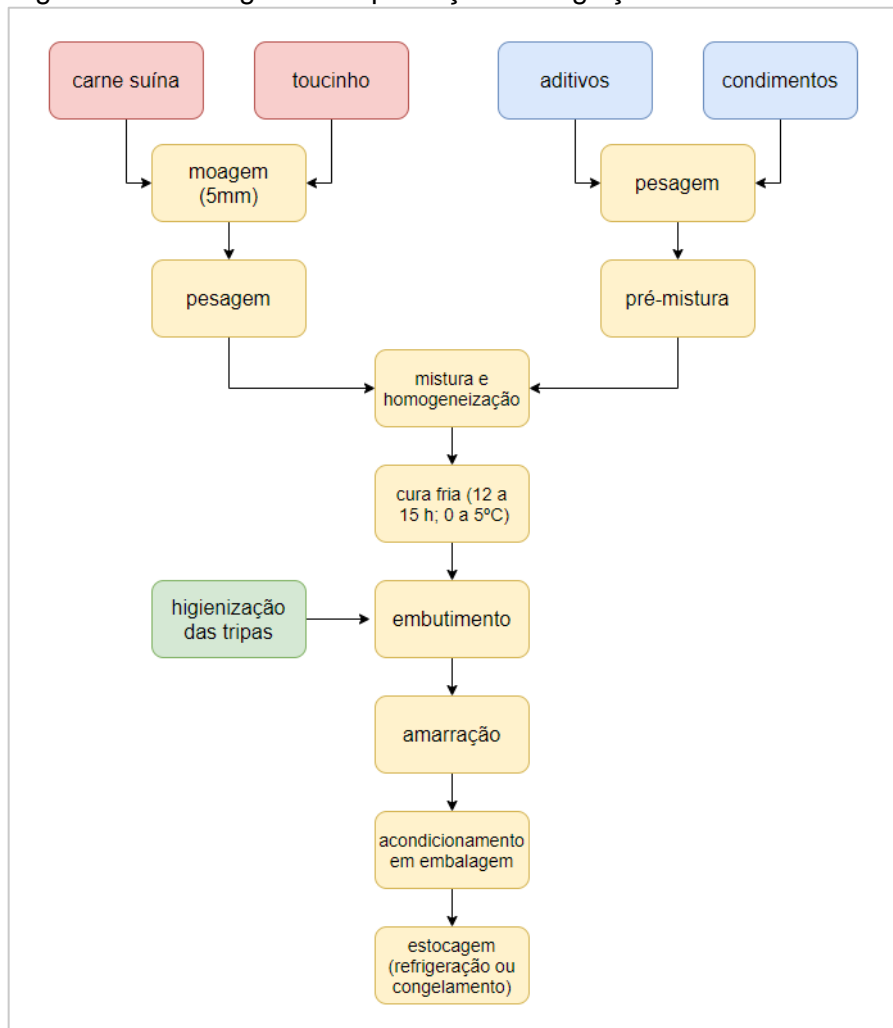
Para a produção das linguiças do tipo Toscana, a técnica utilizada normalmente envolve as seguintes etapas (EMBRAPA, 1996; ALMEIDA, 2005):

- A carne e o toucinho a serem moídos devem estar bem refrigerados, em temperatura próxima à de congelamento, para que as operações de corte sejam facilitadas e, além disso, se reduza o desgaste do equipamento, perdas excessivas de suco da carne e contaminações.
- Cortar a carne suína e o toucinho em pedaços de tamanho suficiente para que passem facilmente através do bocal da máquina de moer.
- Para o moedor, utilizar o disco de tamanho apropriado para linguiça Toscana, que consiste em um disco fino de 5 mm.
- Pesar e acondicionar a carne e o toucinho moídos em recipiente adequado, reservando sob refrigeração.

- Pesar os aditivos e condimentos cuidadosamente, misturando-os muito bem em outro recipiente, formando a chamada “pré-mistura”.
- Acrescentar a pré-mistura à carne e toucinho reservados anteriormente, amassando e misturando muito bem com as mãos até que seja observada a formação de uma massa homogênea, compacta e bem ligada, que impeça a formação de bolhas de ar durante o embutimento.
- O recipiente com essa mistura final é coberto e guardado sob refrigeração por algumas horas ou até o dia seguinte (12 a 15 horas). É a chamada “cura fria”, para desenvolvimento do sabor.
- Lavar bem as tripas em água corrente, desembaraçar e encaixar no embutidor. Usar tripas suínas médias.
- Proceder o ensacamento com cuidado, conduzindo a tripa com uma das mãos de modo que não ocorra formação de bolhas de ar na massa embutida e que não fique disforme ou a tripa estoure.
- Amarrar com fio de algodão, em gomos de 10 a 15 cm.
- Acondicionar o produto em embalagem atóxica, conservando sob refrigeração (0°C a 5°C) por até cinco dias ou, no freezer, por até três meses em embalagem a vácuo.

A Figura 10 apresenta, por meio de um fluxograma, o processo de produção da linguiça Toscana de forma simplificada. Deve ser novamente ressaltado aqui que se a intenção é substituir os aditivos nitrato e nitrito de sódio, em sua totalidade ou em parte, pelos extratos de beterraba obtidos, a questão da quantidade de extrato adicionado é totalmente dependente do seu teor de nitratos e nitritos.

Figura 10 – Fluxograma da produção de linguiça Toscana



Fonte: As autoras (2021)

### 3.1.7.3 Análise microbiológica

De acordo com Bezerra *et al.* (2012), as linguiças do tipo frescal como a linguiça Toscana devem ser acondicionadas em ambientes higiênicos e mantidas sob refrigeração, por possuírem alto risco de contaminação por agentes microbianos que podem ter origem desde a própria carne e envoltórios, até a manipulação e a própria água utilizada na limpeza. Além de acelerar o processo de deterioração, diminuindo a vida de prateleira do alimento, a presença de bactérias e sua proliferação oferecem sérios riscos à saúde do consumidor. Portanto, a higiene correta em todos os estágios da produção é necessária para garantir a segurança (CORTEZ, 2003).

Na legislação brasileira, a Resolução RDC nº 331/2019 dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação, sendo complementada pela Instrução Normativa nº 60/2019, que estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos prontos para oferta ao consumidor (BRASIL, 2019b; BRASIL, 2019c). Para embutidos crus (linguiças frescas) de carne suína, os parâmetros de controle e limites são os indicados na Tabela 2.

Tabela 2 - Padrões microbiológicos para linguiças frescas de carne suína

Microrganismo	Valores*			
	n	c	m	M
<i>Salmonella</i> / 25g	5	1	ausente	-
<i>Escherichia coli</i> / g	5	3	10 <sup>2</sup> UFC**	10 <sup>3</sup> UFC
Aeróbios mesófilos / g	5	3	10 <sup>5</sup> UFC	10 <sup>6</sup> UFC

\* n = número de unidades amostrais a serem coletadas aleatoriamente de um mesmo lote e analisadas individualmente.

c = indicação do número de unidades amostrais toleradas com qualidade intermediária.

m = limite microbiológico que, em um plano de três classes, separa unidades amostrais de "Qualidade Aceitável" daquelas de "Qualidade Intermediária" e que, em um plano de duas classes, separa unidades amostrais de "Qualidade Aceitável" daquelas de "Qualidade Inaceitável".

M = limite microbiológico que, em um plano de três classes, separa unidades amostrais de "Qualidade Intermediária" daquelas de "Qualidade Inaceitável".

\*\* UFC = Unidades Formadoras de Colônias (método por contagem em placa)

Fonte: Adaptado de BRASIL (2019c)

Utilizando o extrato de beterraba em linguiça fresca, por se tratar de uma produção não industrial para fins de teste e que substitui conservantes de eficácia comprovada, julga-se relevante que, antes de qualquer das análises microbiológicas que constam na legislação, seja realizada primeiramente a análise da presença do microrganismo *Clostridium botulinum* dado seu grau de fatalidade caso se prolifere no alimento e este seja consumido. Caso não haja detecção de *Clostridium botulinum* considera-se importante realizar também as análises microbiológicas pertinentes (*Salmonella*, *Escherichia coli* e aeróbios mesófilos).

De acordo com o *Manual Integrado de Vigilância Epidemiológica do Botulismo*, publicado pela ANVISA, para verificar a presença do microrganismo *Clostridium botulinum* pode ser aplicada a técnica da reação em cadeia pela polimerase (PCR), pois é um método rápido, sensível e específico. O PCR pode detectar a presença do microrganismo na amostra analisada tais como: alimentos, amostras clínicas e meio ambiente. Para demonstrar a presença do microrganismo viável por esse método, é necessário o enriquecimento prévio da amostra (BRASIL,

2006). Portanto, a aplicação de PCR deve ser útil no rastreamento do microrganismo *Clostridium botulinum* em amostras de linguiça Toscana.

#### 3.1.7.4 Análise sensorial

De acordo com o documento de procedimentos de análises físico-químicas do *Instituto Adolfo Lutz*, para os produtos cárneos, as características sensoriais de aparência devem ser próprias, ou seja, devem se apresentar tipicamente para cada produto. Modificações como superfície úmida, limosa, sebosa, pegajosa ou viscosa indicam um produto alterado. O invólucro não deve estar danificado. A coloração deve ser uniforme e característica: rósea no produto curado cozido e avermelhada no curado cru. Não deve haver presença de manchas de cores suspeitas, como esverdeadas ou pardas, por exemplo. A consistência deve ser própria, com maior ou menor firmeza conforme o tipo de produto. O odor e o sabor também devem ser característicos. É importante que a parte gordurosa seja isenta de odor ou sabor rançoso (IAL, 2008).

Com resultados satisfatórios para teores de nitritos e nitratos tanto no extrato como no alimento pronto e após análise de microrganismos, seria importante realizar a análise sensorial de fato das linguiças Toscanas produzidas, a fim de avaliar a aceitabilidade perante o mercado consumidor. Para tanto, diferentes testes sensoriais reconhecidos podem ser aplicados a um determinado grupo de participantes (juízes) como, por exemplo, alguns dos descritos por Bernardi e Roman (2011): escala hedônica (para os atributos cor, aroma, tempero, sabor e consistência), aceitabilidade, preferência e intenção de compra. No presente estudo, será utilizada a escala hedônica estruturada em 9 pontos, onde 9 representa “gostei muitíssimo” e 1 “desgostei muitíssimo”.

A escala hedônica de nove pontos foi desenvolvida em meados dos anos 50 para medir as preferências alimentares dos soldados americanos. Desde então, foi rapidamente adotada pelas indústrias de alimentos, sendo atualmente empregada não apenas para avaliar a aceitabilidade de alimentos e bebidas, mas também de cosméticos, produtos de higiene pessoal, materiais de limpeza, entre outros (JESUS *et al.*, 2010).

O Índice de Aceitabilidade (IA) pode ser calculado com base na média das notas atribuídas na escala hedônica (BERNARDI e ROMAN, 2011), conforme a Equação 1. Um IA com boa repercussão tem sido considerado o de valor  $\geq 70\%$  (BISPO *et al.*, 2004).

$$IA = \frac{C \times 100}{B} \quad \text{(Equação 1)}$$

onde:

$C$  = nota média obtida para o produto

$B$  = nota máxima dada ao produto

Para avaliação da preferência, é solicitado aos julgadores que indiquem a amostra preferida. Quanto à intenção de compra do produto, cada participante deve ser convidado a avaliar sua atitude na condição de consumidor. Pode ser usada uma escala de categoria bipolar de 5 pontos, cujos extremos correspondam a 1 “certamente compraria” e 5 “certamente não compraria” (BERNARDI e ROMAN, 2011).

### 3.2 NITRATOS EM HORTALIÇAS

O consumo mundial de hortaliças tem crescido nas últimas décadas, principalmente em função da sensibilização da população que busca hábitos mais saudáveis. As hortaliças são alimentos ricos em fibras e possuem baixa densidade energética e antioxidantes (SILVA, 2018).

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA divulgou uma lista das 50 hortaliças mais consumidas no Brasil (EMBRAPA, 2020), separadas por categorias:

- Folhosas: acelga, agrião, alface, almeirão, bertalha, cheiro verde, chicória, couve, couve-de-Bruxelas, couve chinesa, endívia, espinafre, mostarda, repolho, rúcula, taioba.
- Frutos verdes: abobrinha, berinjela, chuchu, ervilha, feijão-vagem, jiló, maxixe, milho, pepino, pimentão, quiabo.

- Frutos maduros: abóbora, melancia, melão, moranga, morango, tomate.
- Subterrâneos: alho, batata, batata-doce, beterraba, cebola, cenoura, inhame, mandioquinha-salsa, nabo, rabanete, taro (ou inhame).
- Talos e inflorescências: aipo, alcachofra, alho-poró, aspargo, brócolis, couve-flor.

Cada tipo de hortaliça possui componentes distintos tais como vitaminas, carboidratos, sais minerais, lipídios, entre outros. Alguns vegetais possuem naturalmente altos teores de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), sendo capazes de substituir o nitrito mediante redução (CALDERÓN SÁNCHEZ e GILER PIN, 2019). Em termos de anatomia, de acordo com Hord, Tang e Bryan (2009), o teor de nitrato dos órgãos vegetais pode ser listado em ordem decrescente como: pecíolo, folha, tronco, raiz, inflorescência, tubérculo, bulbo, fruta e semente. Fatores como genótipo, condições do solo, condições de crescimento, condições de armazenamento e transporte possuem certa influência sobre o acúmulo de nitrato no vegetal. Na Tabela 3 se encontra uma lista de alguns vegetais em ordem crescente de teor de nitrato.

Tabela 3 – Classificação de vegetais quanto ao teor de nitrato

<b>Nitrato (mg/100g de vegetal fresco)</b>	<b>Variedades de vegetais</b>
< 20 (muito baixo)	Alcachofra, aspargo, fava, berinjela, alho, cebola, ervilha, pimenta, batata, abóbora, batata doce, tomate, melancia
20 a < 50 (baixo)	Brócolis, cenoura, couve-flor, pepino, abóbora, chicória
50 a < 100 (médio)	Repolho, nabo
100 a < 250 (alto)	Couve chinesa, alho-poró, salsa
> 250 (muito alto)	Aipo, agrião, alface, beterraba vermelha, espinafre, rúcula

Fonte: Adaptado de Hord, Tang e Bryan (2009)

No que se refere à alimentação humana, a ingestão hortaliças é uma das principais fontes de nitrato. Por possuírem altas concentrações, uma única porção de certas folhas verdes ou tubérculos como alface, espinafre, beterraba e aipo, além de algumas frutas, é suficiente para se obter mais nitrato do que o endogenamente produzido pelas formas enzimáticas, no período de 24 horas, no organismo humano



(OLIVO e RIBEIRO, 2018). Du, Zhang e Lin (2007) afirmam que nitratos não são prejudiciais à saúde humana quando em doses aceitáveis, mas em doses acima do recomendável (IDA de 0,37 mg/kg) passam a ser nocivos, por serem precursores dos nitritos. Vale ressaltar que o Brasil não possui legislação sobre a presença de nitrato em hortaliças.

De qualquer forma, a pergunta que se torna pertinente é por que os vegetais ricos em nitratos não representam a mesma ameaça à saúde humana que os aditivos convencionais? Afinal, independente da origem, se trata do mesmo composto. No entanto, os vegetais contêm vários tipos de compostos antioxidantes, que suprimem a formação dos produtos químicos nocivos, ou seja, as nitrosaminas (FERYSIUK e WÓJCIAK, 2020). Compostos fenólicos, ácidos orgânicos e flavonoides são os principais compostos antioxidantes presentes na maioria dos extratos de plantas. Esses compostos ainda possuem atividade antimicrobiana, sendo capazes de inativar ou destruir microrganismos por meio da danificação da membrana celular (ALAHAKOON *et al.*, 2015).

### **3.2.1 Cultura orgânica e convencional**

Nas culturas convencionais, o cultivo dos vegetais é realizado com um suprimento controlado de água e de nutrientes para o solo. Para obter bons resultados de produção, substâncias químicas são normalmente usadas, como fertilizantes minerais e pesticidas para controle de insetos e fungos. Por outro lado, no sistema agrícola de produção orgânica a intenção é manter a vida microbiana no solo, a fim de fornecer nutrição e saúde às plantas. O método evita o uso de compostos químicos e costuma adotar a prática de rotação de culturas, reciclagem dos resíduos orgânicos e manuseio e controle biológicos. A maior vantagem da produção orgânica em relação à agricultura convencional é seu impacto benéfico no meio ambiente (GUADAGNIN, RATH e REYES, 2005). A principal desvantagem das hortaliças orgânicas ainda hoje é o custo, que costuma ser maior quando comparado ao das hortaliças convencionais. Muitas vezes, os custos são mais elevados principalmente em razão das despesas do produtor para cumprimento de normas e requisitos exigidos pela legislação, já que a produtividade de algumas espécies de hortaliças em cultivos orgânicos equipara-se à alcançada pelos sistemas convencionais (EMBRAPA, 2007). Entretanto, ainda que hortaliças convencionais

custem mais barato na maior parte dos casos, as orgânicas podem apresentar preços competitivos e inclusive menores, como foi constatado no estudo realizado por Arantes (2016), que concluiu que os preços das hortaliças orgânicas variam de maneira significativa de acordo com o canal de comercialização ou tipo de certificação, e que pode haver competitividade mesmo quando comparadas com as convencionais.

Quanto à quantidade de nitrato, a cultura orgânica costuma apresentar um menor teor quando comparada à agricultura convencional. Isso se deve ao fato de a agricultura orgânica utilizar biofertilizantes (derivados de animais, vegetais e rochas minerais) que fornecem uma liberação gradual do conteúdo de nitrogênio. Por outro lado, a agricultura convencional faz uso de adubo químico nitrogenado que proporciona um fornecimento direto de nitrato às plantas (KREUTZ *et al.*, 2012). No estudo realizado por Konrdörfer *et al.* (2014), todas as hortaliças de sistema de cultivo convencional analisadas apresentaram teores significativamente superiores de nitratos em relação às amostras de sistema de cultivo orgânico. No entanto, alguns estudos não indicaram diferença significativa (PÉRES-LLAMAS *et al.* 1996; MALMAURET *et al.* 2002) e alguns outros relataram o oposto, ou seja, maiores teores de nitratos em hortaliças orgânicas (GENT, 2002; MARTIN e RESTANI, 2003). Segundo Turazi *et al.* (2006), o teor de nitratos em hortaliças varia em função da adubação, da época da colheita e do tempo de armazenamento do vegetal. Porém, a influência na quantidade de nitratos vai muito além desses fatores. Há também uma importante participação de interferentes como o tipo específico de fertilizante, precipitação, tempo de exposição à luz solar, temperatura, umidade, clima, solo, época de plantio, maturidade do produto, transporte, entre outros (KONRDÖRFER *et al.*, 2014). Como ocorre uma interação dessas variáveis entre si, existe dificuldade na interpretação dos resultados gerando divergências entre os estudos.

### **3.2.2 Beterraba**

Entre os maiores produtores mundiais de beterraba no mundo estão a Rússia, França e Estados Unidos. No entanto, nesses países grande parte do que é produzido se destina à indústria de açúcar e, mais recentemente, para o mercado de biocombustíveis. No Brasil, a beterraba vermelha (*Beta vulgaris L.*) é uma das

principais hortaliças cultivadas. Em 2019, foram comercializadas mais de 103 mil toneladas e os principais produtores foram os estados de Minas Gerais e São Paulo (HORTIFRUTI, 2020). A Figura 11 apresenta uma imagem de beterrabas inteiras e suas partes constituintes (folhas, talos e bulbos) separadas.

Figura 11 – Beterrabas inteiras (a) e suas partes: talos (b), bulbos (c) e folhas (d)



Fonte: Santos (2017)

Na Tabela 4 se encontram o valor energético e os teores dos principais constituintes desta hortaliça crua, segundo a Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos – TACO (UNICAMP, 2011).

Tabela 4 – Valores nutricionais e composição por 100 g da parte comestível da beterraba crua

Componente	Quantidade
Água (g)	86
Energia (kcal)	49
Proteína (g)	1,9
Lipídeos (g)	0,1
Carboidratos (g)	11,1
Fibra alimentar (g)	3,4
Cinzas (g)	0,9
Cálcio (mg)	18
Magnésio (mg)	24

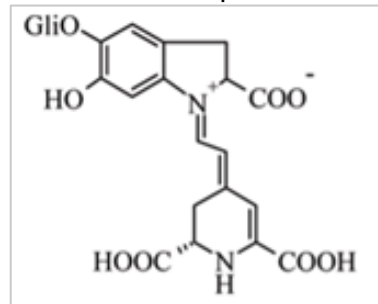
Fonte: Adaptado de UNICAMP (2011)

A beterraba vermelha tem coloração vermelho-violeta devido à presença de pigmentos denominados betalaínas. As betalaínas são compostos semelhantes às

antocianinas e flavonóides, sendo hidrossolúveis e divididas em duas classes: betacianina (responsável pela coloração avermelhada) e betaxantina (responsável pela coloração amarelada), desenvolvendo a coloração típica das raízes de beterraba (CUCHINSKI; CAETANO; DRAGUNSKI, 2010). A betalaína majoritária nesse vegetal é a betanina, um tipo de betacianina, cuja estrutura se encontra apresentada na Figura 12.

A utilização de betalaínas possui outras vantagens além da coloração vermelha, pois esse tipo de estrutura possui atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas, hepatoprotetoras e, ainda, propriedades antitumorais (SANTOS, 2017).

Figura 12 – Estrutura química da betanina



Fonte: Adaptado de Santos (2017)

Lugo (2008) cita a raiz da beterraba vermelha como um bom recurso para obtenção de pigmento vermelho. Sua cor é mais estável em pH ácido, em uma faixa favorável para produtos cárneos (entre 4,0 e 6,0). Em relação aos nitratos, Yun-Sang *et al.* (2017), afirmam que muitos vegetais contêm naturalmente altos níveis de nitrato, sendo que a beterraba vermelha se destaca por possuir níveis de nitrato de até 3288 ppm.

Pelos indicativos da beterraba vermelha como uma boa fonte natural tanto de pigmentos vermelhos quanto de nitratos, aliados à possibilidade de obter produtos cárneos com propriedades sensoriais semelhantes às dos fabricados com aditivos convencionais, esta hortaliça foi escolhida para o presente trabalho. É importante ressaltar que o desenvolvimento de microrganismos também deve ser monitorado, assim como a aceitabilidade por parte do consumidor deve ser avaliada.

De acordo com Domínguez *et al.* (2020), existem diversas vantagens quando se usa extratos em vez da aplicação direta de beterraba na forma desidratada ou suco, tendo destaque a maior concentração de compostos bioativos. Além disso, a

maior limitação da aplicação direta da beterraba em produtos cárneos é a presença do composto geosmina, que dá ao alimento um sabor terroso desagradável. Portanto, quando a beterraba é usada na forma de extrato, é esperado um maior poder oxidante e de coloração, assim como a ausência do “sabor de terra”.

### 3.2.3 Determinação dos teores de nitratos e nitritos

Diversas técnicas podem ser utilizadas para a detecção e quantificação de nitrato e nitrito, entre elas a espectrofotometria, quimioluminescência, eletroquímica, cromatografia, eletroforese capilar, espectrofluorimetria e eletroquimioluminescência (WANG *et al.*, 2017). Na tabela 5 são apresentadas as principais vantagens e desvantagens de cada técnica.

Tabela 5 – Vantagens e desvantagens das técnicas analíticas utilizadas para nitrato e nitrito

<b>Técnica</b>	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
Espectrofotométrica (Ensaio de Griess)	Baixo custo de materiais e equipamentos	Longo tempo de análise, baixa sensibilidade, íons interferentes.
Quimioluminescência	Baixo custo, ensaio simples, sensibilidade e precisão altas	Estabilidade e reprodutibilidade baixas
Eletroquímica	Baixo custo, portabilidade do equipamento	Baixa sensibilidade
Cromatografia	Alta sensibilidade	Alto custo
Eletroforese	Alta sensibilidade	Alto custo
Eletroquimioluminescência	Instrumentação mínima, boa sensibilidade	Baixa consolidação
Espectrofluorimétricos	Baixo custo, sensibilidade e seletividade altas, baixos limites de detecção	As aril diaminas vicinais comumente utilizadas na técnica possuem baixa estabilidade.

Fonte: Adaptado de Wang *et al.* (2017).

A determinação de nitrato e nitrito em produtos cárneos faz parte da análise de rotina das indústrias que produzem esse tipo de alimento, para fins controle de qualidade. Os procedimentos mais frequentemente realizados são os métodos oficiais AOAC (*Association of Analytical Communities*) e ISO (*International Standardization Organization*), ambos espectrofotométricos e baseados na reação de Griess. Entretanto, estes possuem diversos pontos negativos, principalmente quando se considera o grande número de amostras normalmente associado à

análise de rotina e, especialmente, no que se refere à etapa de preparação da amostra. Esta etapa é trabalhosa e demanda tempo. Uma grande quantidade de reagentes e materiais de laboratório são necessários, gerando uma quantidade considerável de resíduos, muitos desses considerados corrosivos ou tóxicos como o cádmio e o ferrocianeto de potássio (DELLA BETTA *et al.*, 2016). Diante desse contexto e por ter disponível o equipamento para análise por cromatografia iônica (CI), com o qual se tem a vantagem da alta sensibilidade, este foi o método de análise escolhido para a quantificação de nitrato e nitrito no extrato obtido.

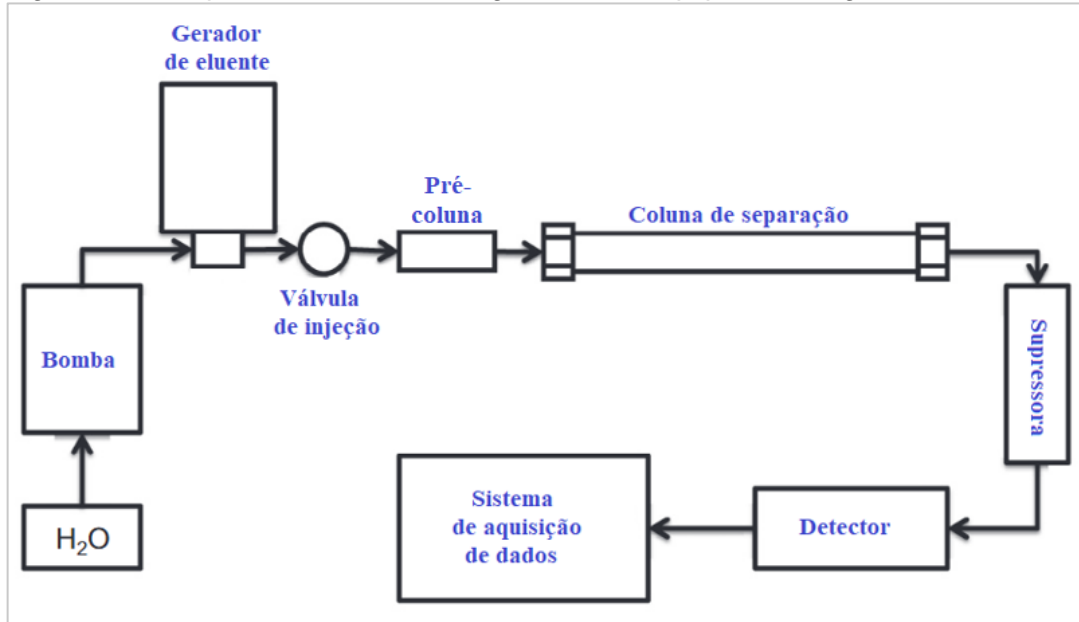
### 3.2.3.1 Cromatografia iônica

A análise por cromatografia iônica (CI) permite quantificar uma grande diversidade de íons (entre eles ânions como nitrato e nitrito em solução), podendo ser definida como a cromatografia na qual a separação se baseia principalmente nas diferenças de afinidade de troca iônica dos componentes da amostra. A CI é classificada como um método cromatográfico sólido-líquido, no qual ocorre a passagem do líquido (eluente) através da fase sólida (estacionária) que consiste em uma coluna cilíndrica constituída por partículas de pequeno diâmetro e uniformes (MORAES, 2019).

Quando uma amostra contendo uma mistura de analitos é injetada em um sistema de CI, ocorre uma interação em diferentes graus entre estes e a fase estacionária. A intensidade da interação será dependente das propriedades físico-químicas do analito (tamanho, polarização, hidrofobicidade e carga), da concentração do eluente, da natureza da fase estacionária e, também, das condições de operação como temperatura, e vazão do sistema (NG *et al.*, 2016).

Os cromatógrafos iônicos são compostos basicamente pelo recipiente para eluente (ou módulo de geração de eluente), bomba, pré-coluna, coluna analítica (ou de separação), supressora e detector. Entretanto, a configuração pode variar dependendo do modelo do equipamento, dos acessórios utilizados e da aplicação a que ele se destina. Na Figura 13 é apresentado um sistema cromatográfico típico, com módulo de geração de eluentes.

Figura 13 – Esquema de um cromatógrafo iônico equipado com gerador de eluente



Fonte: Adaptado de NG *et al.* (2016)

## 4 METODOLOGIA

Nesta seção são descritos os procedimentos utilizados na obtenção de extratos de beterraba orgânica e convencional concentrados e a quantificação dos teores de nitratos e nitritos nesses extratos. A partir dos resultados para as duas formas de cultivo, avaliou-se a viabilidade da incorporação de cada extrato em embutidos pelo potencial conservante, medido teoricamente a partir da quantificação dos íons  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NO}_2^-$ . Além dessa parte prática, a metodologia engloba também a investigação em literatura de resultados já obtidos quando a beterraba foi testada para fins substituição aos conservantes convencionais em produtos cárneos.

### 4.1 PREPARO DOS EXTRATOS DE BETERRABA

Por se tratar de uma hortaliça de cultivo relativamente fácil e devido à pouca quantidade necessária para o estudo, as amostras de beterraba orgânica foram cultivadas pelas próprias autoras, em horta doméstica. Seguindo o procedimento



descrito por Kreutz *et al.* (2012), a coleta foi realizada como plantas inteiras (Figura 14-a), com posterior separação das partes utilizadas na extração, ou seja, os bulbos. Estes foram imediatamente higienizados em água potável e acondicionados em sacos plásticos fechados, sendo que o armazenamento em refrigerador não foi necessário visto que seguiram para processamento do extrato logo após a coleta.

Figura 14 – Beterrabas orgânicas inteiras após coleta (a) e seus bulbos cortados em cubos (b)



Fonte: As autoras (2021)

As amostras de beterraba convencional foram adquiridas em mercado local e tiveram o mesmo tratamento das orgânicas sendo higienizadas, acondicionadas em sacos plásticos e seguindo diretamente para a extração.

Para a obtenção de ambos os extratos foi utilizado como base o método descrito por Aykın-Dinçer *et al.* (2020). Para as beterrabas orgânicas, o total de cinco beterrabas lavadas foram descascadas e, para que ocorresse uma otimização da transferência de massa para o solvente no processo de extração, seu tamanho foi reduzido por corte, gerando cubos de aproximadamente  $0,5 \text{ cm}^3$  (Figura 14-b). Os pedaços de beterraba foram então pesados e adicionados a uma solução aquosa de ácido cítrico 0,5% (m/v) na proporção de 1:3 (massa beterraba:volume solução ácida). O ácido cítrico é o acidulante mais comumente utilizado pela indústria de alimentos por evitar a proliferação microbiana, além de atuar como antioxidante na forma de sequestrante (GOMES, 2014). Para a extração foram utilizados 500 g de beterraba para 1500 mL de solução de ácido cítrico, sendo o processo realizado em banho-maria, com agitação de aproximadamente 150 rpm na temperatura controlada



de 80 °C durante 1 hora. O extrato de beterraba obtido foi resfriado à temperatura ambiente e, em seguida, filtrado com papel filtro de gramatura 80 g/m<sup>2</sup>. Após a filtração, o extrato foi colocado em um evaporador rotativo (Figura 15) aplicando-se vácuo com o banho mantido na temperatura de 70°C durante o processo. Esta etapa teve como finalidade concentrar o extrato, até que se obtivesse um volume menor que o inicial ajustado de modo a conter 25% de sólidos solúveis (25°Brix), valor considerado adequado para incorporação no alimento. Para a determinação do °Brix foram colocadas cerca de duas gotas da amostra homogeneizada entre os prismas de um refratômetro, aguardando-se um minuto para a leitura diretamente na escala de grau Brix (MAPA, 2018). O extrato final concentrado obtido após evaporação foi imediatamente armazenado em frasco de vidro protegido da luz e sob refrigeração (cerca de 4°C) até a realização das análises conforme indicado por Santos (2017).

Figura 15 – Extrato de beterraba orgânica em processo de concentração no evaporador rotativo



Fonte: As autoras (2021).

Para a obtenção do extrato das beterrabas convencionais o processo foi exatamente o mesmo das orgânicas, modificando-se apenas a quantidade de beterrabas e solução ácida a fim de acelerar o processo. Foi utilizado o total de duas

beterrabas (Figura 16-a) e a relação de 1:3 foi mantida, sendo 150 g de beterrabas cortadas em cubos (Figura 16-b) para 450 mL da solução de ácido cítrico.

Figura 16 – Beterrabas convencionais inteiras (a) e seus bulbos cortados em cubos (b)



Fonte: As autoras (2021).

#### 4.2 PREPARO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISE EM CI

Para os extratos de beterraba orgânica e convencional concentrados, o preparo das amostras consistiu primeiramente em diluir 100 vezes cada extrato, em balões volumétricos de 100 mL, com água ultrapura obtida em sistema de purificação Milli-Q. A diluição foi feita para a que concentração se ajustasse dentro do intervalo curva de calibração utilizada, construída na faixa de 1,0 a 100 ppm para os dois analitos ( $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NO}_2^-$ ) e composta por 7 pontos, com as seguintes concentrações: 1; 2,5; 5; 10; 25; 50 e 100 ppm.

Imediatamente após a diluição, foi realizada filtração em filtro de seringa com membrana PVDF (fluoreto de polivinilideno) e tamanho de poros de 0,22  $\mu\text{m}$ , com objetivo de retirar partículas em suspensão. As duas amostras diluídas e filtradas foram então armazenadas sob refrigeração (0 a 6 °C) e protegidas da luz até a realização das análises.

### 4.3 ANÁLISE DAS AMOSTRAS

A determinação dos íons  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NO}_2^-$  pela técnica de cromatografia iônica foi realizada através do equipamento Dionex ICS-5000 (*Thermo Fischer Scientific, EUA*) equipado com detector de condutividade elétrica, utilizando os seguintes componentes e parâmetros: pré-coluna IonPac AG19 (2 x 50 mm) e coluna analítica IonPac AS19 (2 x 250 mm), mantidas a 30 °C; supressora ADRS-600 (2 mm); eluente KOH em gradiente de concentração de 5 e 35 mM; fluxo de eluente 0,250 mL/min; cartucho de geração de eluentes EluGen EGC III KOH Ânions; volume de injeção de amostra 25 µL. Os ensaios foram realizados em triplicata.

### 4.4 ESTUDOS DE CASO

Para fins de pesquisa teórica da viabilidade da aplicação da beterraba como alternativa aos conservantes convencionais embutidos, foi realizado um levantamento bibliográfico buscando por alguns estudos dentro desse tema e que envolvessem principalmente nitratos e nitritos e análises microbiológica e sensorial, de extrema importância e indispensáveis quando se trata de alimentos. Para tanto foram utilizadas bases de dados reconhecidas para pesquisas acadêmicas como o Portal de Periódicos da CAPES.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nesta seção, além dos resultados e considerações referentes aos extratos de beterraba obtidos e analisados, são também apresentados alguns estudos envolvendo a aplicação da beterraba em produtos cárneos.

### 5.1 EXTRATOS DE BETERRABA

O extrato de beterraba orgânica obtido apresentou um volume final de 135 mL (Figura 17) após concentração no evaporador rotativo.

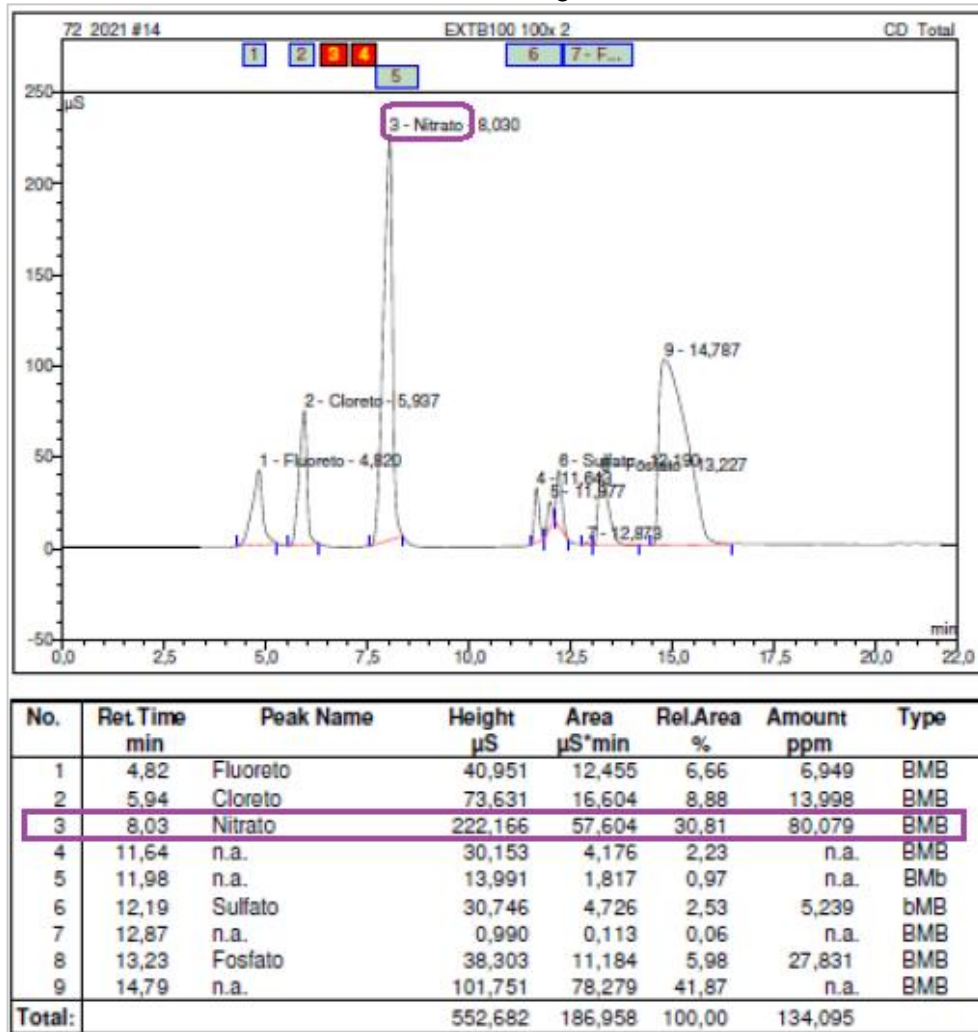
Figura 17 – Extrato concentrado de beterraba orgânica



Fonte: As autoras (2021).

O resultado para íons nitrato nesse extrato concentrado foi de  $7909,5 \pm 75,6$  ppm aplicando-se o fator 100 da diluição. Os íons nitrito não foram detectados. Entretanto, isso não é considerado um ponto negativo pois os componentes de maior interesse no vegetal para esse estudo são os nitratos, e estes devem ser convertidos em nitritos no embutido, ao menos em parte. Um cromatograma típico obtido da análise em triplicata pode ser visualizado na Figura 18, na qual o resultado para  $\text{NO}_3^-$  encontra-se destacado.

Figura 18 – Cromatograma típico obtido da análise em CI do extrato de beterraba orgânica



Fonte: As autoras (2021)

Dispondo dos valores do teor de  $\text{NO}_3^-$  para o extrato de beterraba orgânica concentrado, do volume final desse extrato e da massa de vegetal utilizada na extração, por meio dos devidos cálculos tem-se que:

- O teor de íons nitrato nas beterrabas do tipo orgânica utilizadas foi de  $2135,6 \pm 20,4$  ppm, ou seja, cada quilograma da beterraba orgânica tinha em sua composição 2135,6 mg de íons  $\text{NO}_3^-$ , com um desvio da média de 20,4 ppm;
- O extrato original de beterraba orgânica (concentrado) contém 7,9 mg/mL de íons nitrato, ou 10,8 mg/mL se expressos na forma de  $\text{NaNO}_3$ ;

- Se o limite de adição constante na legislação é 300 mg/kg de  $\text{NaNO}_3$ , poderão ser adicionados cerca de 28 mL do extrato para cada 1 kg do alimento preparado.

O volume de extrato final concentrado obtido para a beterraba convencional (Figura 19) foi de 44 mL, valor dentro do esperado já que foi utilizada uma menor quantidade do vegetal.

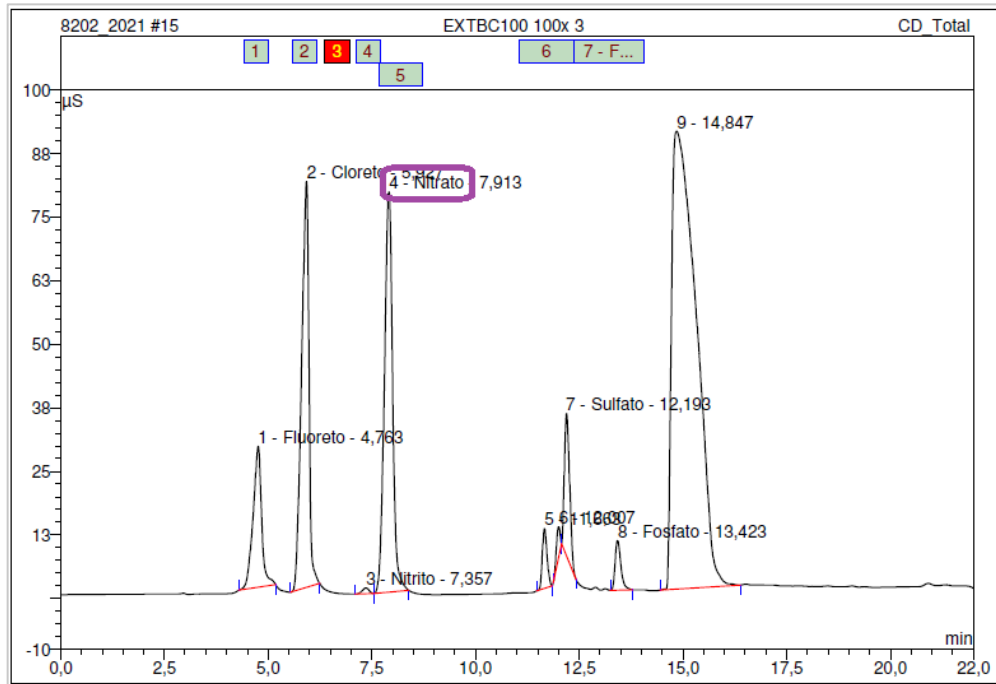
Figura 19 – Extrato concentrado de beterraba convencional



Fonte: As autoras (2021)

Para os íons nitrato neste extrato concentrado, o resultado foi de  $2496 \pm 21$  ppm aplicando-se o fator 100 da diluição. Os íons nitrito foram detectados, porém se encontravam abaixo do limite de quantificação (LQ) para a análise por CI ( $< \text{LQ} = 1$  ppm). Na Figura 20 é apresentado um cromatograma típico obtido na análise em triplicata, com destaque para os íons nitrato.

Figura 20 – Cromatograma típico obtido da análise em CI do extrato de beterraba convencional



Fonte: As autoras (2021)

Da mesma forma que para a beterraba orgânica, sendo conhecidos para o extrato de beterraba orgânica convencional o teor de  $\text{NO}_3^-$ , o volume final desse extrato e a massa de vegetal utilizada na extração, após os devidos cálculos tem-se que:

- O teor de íons nitrato nas beterrabas do tipo convencional utilizadas foi de  $732,2 \pm 6,2$  ppm, ou seja, cada quilograma da beterraba convencional tinha em sua composição 732,2 mg de íons  $\text{NO}_3^-$ , com um desvio da média de 6,2 ppm;
- O extrato concentrado contém 2,5 mg/mL de íons  $\text{NO}_3^-$  (ou 3,4 mg/mL expressos na forma de  $\text{NaNO}_3$ );
- Poderão ser adicionados cerca de 88 mL do extrato para cada 1 kg do alimento preparado, conforme a legislação.

### 5.1.2 Comparação beterraba orgânica e convencional

Para a cultura orgânica, o resultado para  $\text{NO}_3^-$  surpreendeu positivamente, pois foi superior ao esperado se considerarmos os valores encontrados por Kreutz *et*

al. (2012) para beterrabas orgânicas cultivadas no Vale do Taquari – RS, que alcançaram um máximo de 1576,2 ppm com um total de 9 amostras analisadas.

A beterraba convencional apresentou um teor de nitratos bastante inferior quando comparado ao da beterraba orgânica. Entretanto, como apresentado na revisão bibliográfica, nem sempre a cultura convencional irá apresentar teores mais elevados, pois são muitos os fatores que influenciam além da adubação. No presente estudo, por exemplo, não se tem informação sobre o tempo decorrido desde a colheita da beterraba convencional até a compra no mercado, ou mesmo das condições de armazenamento e exposição, o que pode ter tido uma influência considerável na alteração do vegetal já que as beterrabas orgânicas seguiram da colheita para o laboratório em questão de poucas horas. Outro detalhe importante para fins de comparação dos teores das duas culturas, é a questão da amostragem. Afinal, foram utilizadas somente uma amostra de cada tipo de cultura. O ideal seria um maior número de amostras, tanto orgânicas como convencionais, provenientes de diferentes locais de cultivo.

Seguindo o propósito desse trabalho, no qual a ênfase é exatamente a busca por alternativas de origem natural, a utilização de beterrabas provenientes de cultivo orgânico seria o ideal. Porém, existe a questão de custos por parte da indústria, que teriam de ser avaliados. Uma beterraba de custo menor pode ter baixos teores de conservantes, o que poderia não compensar economicamente ou, até mesmo, inviabilizar a incorporação no alimento pela necessidade de uma grande quantidade de extrato, causando problemas de textura, coloração, entre outros.

Também devido à variabilidade dos teores de nitrato, independente da cultura, o monitoramento da matéria-prima deve ser constante. A escolha de fornecedor deve ser um dos principais fatores para obtenção de uma beterraba de qualidade, que possa satisfazer os requisitos necessários para incorporação no embutido.

## 5.2 ESTUDOS DE CASO

Sucu e Turp (2018) realizaram um trabalho para reformulação de linguiças do tipo *sucuk* (Figura 21), embutidos curados de carne bovina típicos da Turquia. O objetivo era a reformulação do produto, utilizando beterraba em pó como alternativa ao nitrito.



Figura 21 - Linguiça do tipo *sucuk*



Fonte: <https://pt.wikipedia.org/wiki/Sucuk#/media/Ficheiro:Sudjuk.jpg>

Quatro diferentes amostras de *sucuk* foram produzidas variando as porcentagens de nitrato de sódio e pó de beterraba. As quantidades de pó de beterraba a serem utilizadas foram determinadas de acordo com o resultado das análises de nitrato. As amostras foram denominadas como sendo: C - amostra de controle, com 150 mg/kg de nitrato de sódio; BS1 - 0,12% de pó de beterraba (50 mg/kg de nitrato) + 100 mg/kg de nitrato de sódio; BS2 - 0,24% de pó de beterraba (100 mg/kg de nitrato) + 50 mg/kg de nitrato de sódio; BS3 - 0,35% pó de beterraba (fornecimento de 150 mg/kg de nitrato). Após armazenamento a 4 °C por 84 dias, avaliou-se as amostras e concluiu-se que:

- A inclusão do pó de beterraba não resultou em diferença significativa nas composições das amostras no que se refere a teor de umidade, gordura, proteína e cinzas;
- Não houve diferença significativa entre o teor residual de nitrato das amostras ao final do período de armazenamento;
- A contagem de bactérias de ácido láctico foi maior nas amostras contendo apenas pó de beterraba durante o armazenamento. As bactérias do ácido láctico são importantes, pois limitam o crescimento de alguns microrganismos indesejáveis, melhoram as propriedades físico-químicas e contribuem para o aroma e sabor de produtos fermentados;

- A inclusão do pó de beterraba resultou no aumento da intensidade da coloração vermelha, que se manteve durante todo o período de armazenamento;
- As características sensoriais das linguiças contendo pó de beterraba foram equivalentes às das amostras de controle;
- A aplicabilidade do pó de beterraba para a indústria alimentícia é viável e, desta forma, os produtos tradicionais de carne, porém sem nitrito sintético podem ser uma nova oportunidade para os consumidores.

No estudo de Martínez *et al.*, (2006), foi avaliado o efeito da adição direta de beterraba, em forma de suco, na qualidade sensorial de produtos à base de carne, sem considerar o efeito conservante. As linguiças frescas de porco formuladas com suco de beterraba apresentaram valores de descoloração mais baixos (avaliação sensorial) durante o armazenamento a 2°C, em comparação com amostras sem ingredientes de beterraba. Esse resultado se traduziu em uma alta aceitabilidade do consumidor, inclusive gerando um aumento significativo na intenção de compra após 12 dias de armazenamento. O prazo de validade das linguiças reformuladas aumentou em 4 dias em relação às amostras de controle somente avaliando-se o aspecto da coloração.

Outra aplicação direta de beterraba, na forma de extrato em pó, foi explorada no estudo de Jin *et al.* (2014), desta vez como fonte de nitrato e de pigmentos. Diferentes proporções do extrato, associadas ou não ao nitrito de sódio, foram adicionadas em linguiças de porco cozidas. As amostras foram mantidas sob refrigeração por 20 dias a 4°C e então submetidas a análise. Os autores relataram um aumento significativo da intensidade da coloração vermelha e da aceitação sensorial por esse fator visual. Entretanto, outros atributos sensoriais como sabor, maciez, suculência e aceitabilidade geral não foram afetadas pela adição do pó de beterraba vermelha. Nenhum efeito relevante foi observado em termos de oxidação lipídica, ou seja, um efeito antioxidante não foi identificado para os níveis de 0,5% e 1,0% adicionados do extrato em pó. Portanto, foi concluído que a beterraba vermelha pode ser um bom corante natural para linguiças de porco, mas precisa de um processamento adicional, como a concentração de betalaínas ou a extração na forma de suco para ser usada como antioxidante em produtos cárneos.

Lugo (2008) descreve estudos nos quais o pigmento de beterraba conferiu uma coloração mais estável durante o armazenamento de embutidos do tipo salsicha em comparação aos nitratos e nitritos. Além disso, em avaliação sensorial a preferência dos avaliadores por uma ou outra formulação foi desprezível tendo sido, portanto, irrelevante a diferença entre os dois produtos no que se refere ao aspecto sensorial.

Yun-Sang *et al.* (2017) investigaram os efeitos do extrato de beterraba vermelha fermentada associado ao ácido ascórbico em emulsões de carne. Segundo o estudo, extratos de certos vegetais fermentados contêm nitrito pré-convertido que pode ser usado para substituir o nitrito sintético e manter o desenvolvimento de cor em carnes curadas. Como resultado, obtiveram um melhor desenvolvimento e estabilidade de coloração vermelha, enquanto as bactérias *Escherichia coli* e coliformes não foram encontradas em nenhuma das emulsões de carne testadas. Assim, a combinação de extrato de beterraba vermelha fermentada e ácido ascórbico foi considerada uma alternativa viável ao nitrito sintético com potencial significativo para uso na fabricação de produtos de carne.

### 5.3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com o levantamento bibliográfico realizado, os extratos vegetais de beterraba vermelha parecem ser uma alternativa adequada para os nitratos e nitritos convencionais. Em geral, os extratos naturais apresentam atividade antioxidante e antimicrobiana, podem prevenir a descoloração dos produtos cárneos e, em quantidades adequadas, não prejudicam o sabor do produto. A adição do extrato de beterraba em um embutido como a linguiça Toscana, em combinação com uma quantidade inferior (ou mesmo na ausência completa) de nitritos e nitratos tradicionais, pode ter efeito conservante similar e não causar efeitos negativos nas qualidades sensoriais dos produtos. A quantidade de microrganismos patogênicos presentes no produto preparado com o extrato vegetal pode ser aceitável ou, até mesmo, esses microrganismos podem não ser detectados. Porém, estudos mais detalhados e testes de laboratório ainda são necessários a esse respeito.

A obtenção de importantes resultados é um indicativo do potencial uso do extrato vegetal de beterraba no preparo de produtos cárneos embutidos em geral, resultando em um produto com qualidade semelhante à obtida somente com os

conservantes tradicionais. As maiores dificuldades encontradas na aplicação pela indústria seriam, provavelmente, os ajustes das quantidades de extrato vegetal a serem aplicadas no alimento conforme a matéria-prima, que deve ter a menor variabilidade possível em questão de coloração (nível de betalaínas) e potencial conservante para que o produto mantenha suas propriedades organolépticas.

## REFERÊNCIAS

ALAHAKOON, Amali U. *et al.* Alternatives to nitrite in processed meat: Up to date. **Trends in Food Science & Technology**, v. 45, p. 37 – 49. 2015.

ALMEIDA, Cleide Oliveira de. **Avaliação físico-química e microbiológica de lingüiça toscana porcionada e armazenada em diferentes embalagens, sob condições de estocagem similares às praticadas em supermercados.** 2005, 80 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, 2005.

ALVES, Elizângela. **Atividade Antioxidante de Extratos de Própolis Comercializados em Santa Maria - RS e Aplicação em Lingüiça Toscana Refrigerada.** 2009. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

AMIN, Melissa. **Efeito do uso de nitrato e nitrito na inibição de *C. perfringens* tipo A em lingüiça bovina curada.** 2005. Dissertação para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2005.

ARANTES, Rafael Rioja. **Hortalças orgânicas são de fato mais caras que as com agrotóxicos?** 2016. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

AYKIN-DINÇER, E. *et al.* The use of beetroot extract and extract powder in sausages as natural food colorant. **International Journal of Food Engineering.**, v. 17, 1, p. 75-82, 2020.

BALDIN, Juliana Cristina. **Avaliação do potencial antimicrobiano e antioxidante do extrato de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) microencapsulado adicionado em lingüiça frescal e mortadela.** 2016. Tese para a obtenção do Título de Doutor em Ciências. Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

BERNARDI, Daniela Miotto; ROMAN, Janesca Alban. **Caracterização Sensorial de Lingüiça Toscana com Baixo Teor de Sódio e Análise do Consumo de Carne Suína e Derivados na Região Oeste do Paraná.** B. CEPPA - Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, Curitiba, v. 29, n. 1, p. 33-42, 2011.

BISPO, Eliete da Silva *et al.* Processamento, estabilidade e aceitabilidade do marinado de vongole (*Anomalocardia brasiliiana*). **Ciência Tecnologia Alimentos**, Campinas, 24(3), p. 353-356, 2004.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 4, de 31/03/2000.** Anexo III: Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Lingüiça. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, 2000. Disponível em:

<https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=05/04/2000&jornal=1&pagina=54&totalArquivos=73>. Acesso em: 30 maio 2021.

BRASIL - Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual integrado de vigilância epidemiológica do botulismo**. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL. **Resolução RDC nº 272, de 14/03/2019**. Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Diretoria Colegiada. Diário Oficial da União, Brasília, 2019a. Disponível em: [https://www.in.gov.br/web/guest/materia/-/asset\\_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/67378977/do1-2019-03-18-resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-272-de-14-de-marco-de-2019-67378770](https://www.in.gov.br/web/guest/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/67378977/do1-2019-03-18-resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-272-de-14-de-marco-de-2019-67378770). Acesso em: 30 maio 2021.

BRASIL. **Resolução RDC nº 331, de 23/12/2019**. Ministério da Saúde / Agência Nacional de Vigilância Sanitária / Diretoria Colegiada. Diário Oficial da União, Brasília, 2019b. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-331-de-23-de-dezembro-de-2019-235332272>. Acesso em: 30 maio 2021.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 60, de 23/12/2019**. Ministério da Saúde / Agência Nacional de Vigilância Sanitária / Diretoria Colegiada. Diário Oficial da União, Brasília, 2019c. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-60-de-23-de-dezembro-de-2019-235332356>. Acesso em: 30 maio 2021.

CALDERÓN SÁNCHEZ, B. S.; GILER PIN, Y. E. **Uso de vegetales como sustitutos de conservantes en la elaboración de embutidos (chorizo)**. Trabalho de Conclusão de Curso para obtenção do grau de Licenciado em Gastronomia. Universidad de Guayaquil, Guayaquil, 2019.

CARTAXO, James Linneker da Silva. **Riscos associados aos níveis de nitritos em alimentos: uma revisão**. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso para obtenção do grau de Farmacêutico Generalista. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2015.

CERESER, Natacha Deboni *et al.* Botulismo de origem alimentar. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 1, p. 280-287, 2008.

CHARCUTARIA.ORG. **Tipos de tripas naturais e artificiais**. 2015. Disponível em: <https://charcutaria.org/embutidos/tipos-de-tripas-naturais-e-artificiais/>. Acesso em: 25 abr. 2021.

CORTEZ, A.L.L. **Indicadores de qualidade higiênico-sanitária em linguiça frescal comercializada no Município de Jaboticabal-SP**. 2003. 42f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

CUCHINSKI, A. S.; CAETANO, J.; DRAGUNSKI, D. C. Extração do Corante da Beterraba (*Beta vulgaris*) para Utilização como Indicador Ácido-base. **Eclética Química**, v. 35, n. 4, p. 17 - 23, 2010.

- DELLA BETTA, F. *et al.* A sub-minute CZE method to determine nitrate and nitrite in meat products: An alternative for routine analysis. **Meat Science**, Barking, v. 119, p. 62-68, jan. 2016.
- DOMÍNGUEZ, R. *et al.* Red Beetroot: A Potential Source of Natural Additives for the Meat Industry. **Applied Sciences**., v. 10, n. 23:8340, 2020.
- DU, S.; ZHANG, Y.; LIN, X. Accumulation of nitrate in vegetables and its possible implications to human health. **Agricultural Sciencesin**, v. 1, n. 10, p. 1246-1255, 2007.
- DUTRA, C. B.; RATH S.; REYES, F. G. R. Nitrosaminas Voláteis em Alimentos. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.18, n.1, p.111 - 120, 2007.
- EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Embutidos, Frios e Defumados**. Brasília: EMBRAPA, 1996.
- EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Produção Orgânica de Hortaliças**. Brasília: EMBRAPA, 2007.
- EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Mercado Brasileiro de Frango de Corte, Ovos e Suínos**. 2019. Disponível em: <https://www.embrapa.br/documents/1355242/0/CIAS+-+2019+-+Mercado+brasileiro+de+frango+de+corte%2C+su%C3%ADnos+e+ovos.jpg>. Acesso em: 30 maio 2021.
- EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **50 hortaliças mais consumidas no Brasil**. 2020. Disponível em: <https://www.embrapa.br/hortalicas/publicacoes/50-hortalicas>. Acesso em: 15 abr. 2021.
- EMBRAPA-AGEITEC. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-Agência Embrapa de Informação Tecnológica. **Produtos cárneos**. 2021. Disponível em: [https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/ovinos\\_de\\_corte/arvore/CONT000g3izohks02wx5ok0tf2hbweqanedo.html](https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/ovinos_de_corte/arvore/CONT000g3izohks02wx5ok0tf2hbweqanedo.html). Acesso em: 25 abr. 2021.
- FDA. Food and Drug Administration. **Food Additives Permitted For Direct Addition To Food For Human Consumption**. 2021. Disponível em: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=172.175>. Acesso em: 25 abr. 2021.
- FERYSIUK, K.; WÓJCIAK, K. M. Reduction of Nitrite in Meat Products through the Application of Various Plant-Based Ingredients. **Antioxidants**, 9, 711, p. 1 - 28, 2020.
- FLORES, Mónica; TOLDRÁ, Fidel. Chemistry, safety, and regulatory considerations in the use of nitrite and nitrate from natural origin in meat products - Invited review. **Meat Science**, v. 171, 2021.

GENT, M. P. N. Growth and composition of salad greens as affected by organic compared to nitrate fertilizer and by environment in high tunnels. **Journal of Plant Nutrition**, v.25, p. 981–998, 2002.

GOMES, Liana Santos do Nascimento. **Efeito do uso de acidulantes na qualidade da polpa de acerola congelada**. Trabalho de Conclusão de Curso para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014.

GUADAGNIN, S. G.; RATH, S.; REYES, F. G. R. Evaluation of the nitrate content in leaf vegetables produced through different agricultural systems. **Food Additives and Contaminants**, v. 22(12), p.1203-1208, 2005.

HONIKEL, Karl-Otto. **The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products**. **Meat Science**, v. 78, p. 68-76, 2008.

HORD, N. G.; TANG, Y.; BRYAN, N. S. Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 90, p. 1–10, 2009.

HORTIFRUTI. **Beterraba é considerada uma mina de ouro em antioxidantes**. 2020. Disponível em: <https://saberhortifruiti.com.br/beterraba/>. Acesso em: 25 abr. 2021.

IAL - Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

IAMARINO, Luciana Zancheta *et al.* Nitritos e nitratos em produtos cárneos enlatados e/ou embutidos. **Gestão em Foco**, Amparo, 7 ed., p. 246-251, 2015.

IBGE – Censo 2021. **Ultraprocessados ganham espaço e somam 18,4% das calorias adquiridas em casa**. Disponível em: <https://censo2021.ibge.gov.br/2012-agencia-de-noticias/noticias/27300-ultraprocessados-ganham-espaco-e-somam-18-4-das-calorias-adquiridas-em-casa.html>. Acesso em: 25 abr. 2021.

INCA. **OMS classifica carnes processadas como cancerígenas**. 2015. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/noticias/oms-classifica-carnes-processadas-como-cancerigenas>. Acesso em: 25 abr. 2021.

JESUS, D. C. *et al.* Investigando o desempenho da escala hedônica em testes consumidor. **Sensiber – VI Simpósio Ibero Americano em Análise Sensorial**. São Paulo. 2010.

JIN, S.K.; CHOI, J.S.; MOON, S.S.; JEONG, J.Y.; KIM, G.D. The assessment of red beet as a natural colorant, and evaluation of quality properties of emulsified pork sausage containing red beet powder during cold storage. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, v. 34, p.472–481, 2014.

KONRDÖRFER, K. *et al.* quantificação de minerais, nitratos e nitritos em hortaliças orgânicas e convencionais. **Revista CIATEC-UPF**, 6(2), p. 31-39, 2014.



KREUTZ, Daniel Henrique. *et al.* Avaliação das Concentrações de Nitrato e Nitrito em Hortaliças Produzidas em Cultivos Convencional e Orgânico na Região do Vale do Taquari – RS. **UNOPAR – Cient. Ciênc. Biol. Saúde**, 14(2), p. 105-110, 2012.

LAGO, Juan Luís Vidal. Tecnología de los embutidos curados. **CYTA - Journal of Food**, v. 1, n. 5, p. 129-133, 1997.

LE MOS, A. L. S. C.; YAMADA, E. A.; HAGUIWARA, M. M. H. **Processamento de Embutidos Carneos**. Campinas: ITAL, Centro de Tecnologia de Carnes, 2008.

LUGO, Eduardo Bazan. Nitritos y Nitratos: Su uso, control y alternativas em embutidos cárnicos. **Nacameh**, v. 2, n. 2, p. 160-187, 2008.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Processo agroindustrial: obtenção de embutido fermentado tipo salame de Carne de Caprinos**. 2002. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/664008/1/Ct074.pdf>. Acesso em: 25 abr. 2021.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de métodos e análises de bebidas e vinagres: Sólidos Solúveis (°Brix)**. 2018. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/laboratorios/credenciamento-e-laboratorios-credenciados/legislacao-metodos-credenciados/arquivos-metodos-da-area-bev-iqa/nao-alcoolicos-08-solidos-soluveis-o-brix.pdf>. Acesso em: 30 maio 2021.

MARTIN, S.; RESTANI, P. Determination of nitrates by a novel ion chromatographic method: Occurrence in leafy vegetables (organic and conventional) and exposure assessment for Italian consumers. **Food Additives and Contaminants**, v. 20, p. 787–792. 2003.

MARTÍNEZ, L. *et al.* Comparative effect of red yeast rice (*Monascus purpureus*), red beet root (*Beta vulgaris*) and betanin (E-162) on colour and consumer acceptability of fresh pork sausages packaged in a modified atmosphere. **J. Sci. Food Agric**, v. 86, 500–508, 2006.

MARTINS, Ana Paula Bortoletto *et al.* Increased contribution of ultra-processed food products in the Brazilian diet (1987-2009). **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v. 47, n. 4, p. 1-10, 2013.

MALMAURET, L. *et al.* Contaminants in organic and conventional foodstuffs in France. **Food Additives and Contaminants**, v. 19, p. 524–532, 2002.

MORAES, Rayanne Hungara Carneiro de. **Validação do método de determinação de nitrato e nitrito em produtos lácteos por cromatografia iônica**. 2019. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade do Porto, 2019.

NG, B. K. *et al.* Computer-assisted simulation and optimisation of retention in ion chromatography. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 80, p. 625–635, 2016.

NUNES, Tallita Karolline. **Desenvolvimento de salsicha isenta de nitrato e nitrito com atividade de água reduzida**. 2011. Dissertação para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Pontifícia Universidade Católica do Paraná, São José dos Pinhais, 2011.

OLHAR CONCEITO. **O consumo de alimentos embutidos aumenta o risco para doença do coração**. 03 nov. 2020. Disponível em: <https://www.olharconceito.com.br/noticias/exibir.asp?id=19739&noticia=o-consumo-de-alimentos-embutidos-aumenta-o-risco-para-doenca-do-coracao>. Acesso em: 25 abr. 2021.

OLIVEIRA, Estela Mesquita Diegues de. **Nitrato, nitrito e sorbato em produtos cárneos consumidos no Brasil**. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso para obtenção do grau de Farmacêutica-Bioquímica. Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2014.

OLIVEIRA, Milyan Jorge de; ARAÚJO, Wilma M. C.; BORGIO, Luiz Antônio. **quantificação de nitrato e nitrito em lingüiças do tipo frescal**. *Ciências Tecnol. Aliment.*, Campinas, p. 736-742, 2005.

OLIVO, Rubison; RIBEIRO, Lair G. T. **Novos conceitos sobre nitratos e nitritos**. *Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research – BJSCR*, v. 24, n. 3, p. 115-125, 2018.

PEREIRA, F. de M.; CAMARGO, R. C. R. de; LOPES, M. T. do R. **Contaminação do mel por *Clostridium botulinum***. 1. ed. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2007.

PÉRES-LLAMAS, F. *et al.* **Estudio comparativo sobre la calida nutritiva de alimentos procedentes de la agricultura ecologica y convencional**. *Alimentaria*, v. 274, p. 39–44, 1996.

RAMOS, L. A.; CAVALHEIRO, C. C. S.; CAVALHEIRO, E. T. G. **Determinação de Nitrito em Águas Utilizando Extrato de Flores**. *Química Nova*, v. 29, n. 5, p. 1114-1120, 2006.

SANTOS, Cláudia Destro dos. **Extração, clarificação e estabilização de betalaínas provenientes de talos de beterraba vermelha (*Beta vulgaris L.*)**. 2017. Tese de doutorado para obtenção do título de Doutora em Engenharia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.

SANTOS, J. S. dos; HECK, M. C.; COSTABEBER, I.; EMANUELLI, T. **Nitrato e nitrito em leite in natura e ingesta estimada destes compostos**. *Infarma*, v.19, n. 5/8, 2007.

SILVA, Thayane de Andrade (2018). **Comercialização de hortaliças beneficiadas e minimamente processadas no setor supermercadista em Boa Vista - RR**. Trabalho de Conclusão de Curso para obtenção do grau de Bacharel em Agronomia. Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, 2018.

SOUZA, A. R. M. de; ARTHUR, V.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Alterações provocadas pela irradiação e armazenamento nos teores de ferro heme em carne de frango. **Ciências Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 303-306, 2007.

SUCU, C.; TURP, G.Y. The investigation of the use of beetroot powder in Turkish fermented beef sausage (sucuk) as nitrite alternative. **Meat Science**, v. 140, p. 158–166, 2018.

TENORIO L., F. A.; del VALLE M., L.; PASTELÍN H., G. Validación de un método analítico espectrofotométrico para la cuantificación de metabolitos estables de óxido nítrico en fluidos biológicos. **Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas**, v. 36, n. 1, p. 31 - 41, 2005.

TURAZI, C. M. V.; JUNQUEIRA, A. M. R.; OLIVEIRA, A. S.; BORGIO, L. A. Acúmulo de nitrato em alface em função da adubação, horário de colheita e tempo de armazenamento. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 1, p. 65-70, 2006.

UNICAMP. **Tabela brasileira de composição de alimentos- TACO**. 4 ed. Campinas: UNICAMP-NEPA, 2011.

WANG, Q. H. *et al.* Methods for the detection and determination of nitrite and nitrate: a review. **Talanta**, Amsterdam, v. 165, p. 709-720, abr. 2017.

YUN-SANG, Choi *et al.* Effects of pre-converted Nitrite from Red Beet and Ascorbic Acid on Quality Characteristics in Meat Emulsions. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, v. 37(2), p. 288 – 296, 2017.