

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

RAQUEL DE OLIVEIRA PRETE

**CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE ÓLEO DE ORÉGANO COMO  
ANTIOXIDANTE NATURAL EM LINGUIÇA SUÍNA FRESCAL**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

LONDRINA  
2016

RAQUEL DE OLIVEIRA PRETE

**CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE ÓLEO DE ORÉGANO COMO  
ANTIOXIDANTE NATURAL EM LINGUIÇA SUÍNA FRESCAL**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina Trabalho de Conclusão de Curso 2 do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, câmpus Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Margarida Masami Yamaguchi

LONDRINA  
2016

## TERMO DE APROVAÇÃO

### CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE ÓLEO DE ORÉGANO COMO ANTIOXIDANTE NATURAL EM LINGUIÇA SUÍNA FRESCAL

RAQUEL DE OLIVEIRA PRETE

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado no dia 13 de junho de 2016 como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnóloga em Alimentos. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

---

Margarida Masami Yamaguchi  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Orientadora

---

Caroline Maria Calliari  
Membro titular

---

Isabel Craveiro Moreira  
Membro titular

## RESUMO

PRETE, R. O. **Caracterização e aplicação de óleo de orégano como antioxidante natural em linguiça suína frescal**. 2016. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2016.

Em busca de manter as propriedades sensoriais e nutricionais, muito tem sido desenvolvido na área de aditivos, em especial os antioxidantes. Há grande interesse de sua aplicação em produtos cárneos, devido a sua susceptibilidade a oxidação lipídica e outras alterações biológicas, as quais limitam seu prazo de validade, prejudicam a aceitação sensorial e diminuem o valor nutricional. A metodologia aplicada neste trabalho consiste em, inicialmente, avaliar o óleo de orégano dentre seus compostos fenólicos e sua capacidade sequestrante em ABTS. Com base nestes dados, as formulações de linguiça suína frescal buscaram equiparar a atividade antioxidante do óleo de orégano a um antioxidante comercial para sua aplicação no produto carne. Para verificar seu efeito durante o armazenamento de 28 dias, foi avaliado o grau de oxidação lipídica por sua reatividade ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) semanalmente. O resultado de compostos fenólicos em 1 mg/mL de óleo essencial de orégano corresponde a  $340,12 \pm 2,78$   $\mu\text{g}$  EAG (equivalente de ácido gálico). A atividade antioxidante determinada pelo método de ABTS obteve um valor de  $2613,39$   $\mu\text{M}$  TEAC para 1 mg/mL de óleo essencial de orégano e de  $4643$   $\mu\text{M}$  TEAC para 1mg/mL de eritorbato de sódio. Com base no valor de ABTS foi realizado o delineamento experimental, contando com uma formulação controle utilizando apenas eritorbato de sódio, a formulação 1 com 70% de eritorbato de sódio e 30% de óleo essencial de orégano, a formulação 2 com 50% de cada e por último 30% e 70% respectivamente. Observou-se um efeito sinérgico entre os antioxidantes, obtendo diferença significativa de todas as formulações (em mg de MDA F1:  $1,139 \pm 0,12$ ; F2:  $1,254 \pm 0,04$ ; F3:  $1,123 \pm 0,04$ ) com o controle ( $1,457 \pm 0,06$  mg MDA) no final de 28 dias, demonstrando maior eficiência com a adição do óleo essencial de orégano do que apenas com eritorbato de sódio.

**Palavras-chave:** Oxidação lipídica. Antioxidantes. *Origanum vulgare*. Linguiça Frescal. Sinergia.

## ABSTRACT

PRETE, R. O. **Characterization and application of oregano essential oil as a natural antioxidant in fresh pork sausage**. 2016. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) - Federal Technology University - Paraná. Londrina, 2016.

Seeking to maintain the sensorial and nutritional properties, extensive studies has been developed in the area of additives, in particularly related to antioxidants. There is great interest in their application in meat products, due to their susceptibility to lipid oxidation and other biological changes, which limit its duration, impair their sensory acceptance and decrease their nutritional value. The methodology conduct in this study was to evaluate the oregano oil from its phenolic compounds and its scavenging capacity in ABTS. Based on these data, the pork sausage formulations sought to balance the antioxidant activity of oregano oil to a commercial antioxidant for its application in the meat product. Its degree of lipid oxidation during storage of 28 days was assessed by its reactivity to 2-thiobarbituric acid (TBARS) weekly. The result of phenolic compounds at 1 mg / mL of essential oil of oregano corresponds to  $340.12 \pm 2.78$   $\mu\text{g}$  GAE (gallic acid equivalent). Antioxidant activity determined by the ABTS method obtained a value of 2613.39  $\mu\text{M}$  TEAC regarding 1 mg / mL of essential oil of oregano and 4643  $\mu\text{M}$  TEAC of 1mg / mL sodium erythorbate. Based on the value of ABTS was developed the experimental guideline, provided with a control formulation using only sodium erythorbate, formulation 1 with 70% erythorbate and 30% essential oil of oregano, the formulation 2 with 50% each and finally 30% and 70% respectively. There was a synergistic effect between antioxidants, obtaining a significant difference in all formulations (mg of MDA F1:  $1,139 \pm 0,12$ ; F2:  $1,254 \pm 0,04$ ; F3:  $1,123 \pm 0,04$ ) towards the control ( $1,457 \pm 0,06$  mg MDA) at the end of 28 days, indicating higher efficiency with the addition of oregano essential oil rather than only sodium erythorbate.

**Keywords:** Lipid oxidation. Antioxidants. *Origanum vulgare*. Fresh sausage. Synergy.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Linguiça Suína Frescal de cada formulação embalada.....	21
Figura 2 - Curva padrão para determinação de compostos fenólicos em EAG.....	23
Figura 3 – Curva Padrão de TEP.....	25
Figura 4 – Tendência linear na oxidação lipídica da formulação controle.....	27
Figura 5 – Análise de TBARs durante o armazenamento de linguiça frescal...	27

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Formulação padrão da linguiça frescal.....	20
Tabela 2 – Formulações de linguiça frescal.....	20
Tabela 3 – Avaliação da atividade antioxidante frente ao ABTS em Equivalente Trolox.....	24
Tabela 4 - Valores médios de TBARS nas diferentes formulações de linguiça suína frescal durante o período de armazenamento.....	26

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	08
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	09
2.1 OBJETIVO ESPECÍFICO.....	09
<b>3 DESAFIOS TECNOLÓGICOS EM PRODUTOS CÁRNEOS</b> .....	10
3.1 OXIDAÇÃO LIPÍDICA.....	11
3.2 LINGUIÇA SUÍNA FRESCAL.....	13
3.3 ANTIOXIDANTES.....	14
3.3.1 Óleo essencial de orégano.....	16
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	18
4.1 AVALIAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO.....	18
4.1.1 Compostos Fenólicos Totais.....	18
4.1.2 Capacidade sequestrante do radical ABTS.....	19
4.2 APLICAÇÃO EM LINGUIÇA SUÍNA FRESCAL.....	20
4.2.1 Índice de substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) .....	21
4.2.2 Análises Estatística.....	22
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	23
5.1 AVALIAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO.....	23
5.2 APLICAÇÃO EM LINGUIÇA SUÍNA FRESCAL.....	25
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	29
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	30

## 1 INTRODUÇÃO

A preocupação com a saúde e com uma alimentação cada vez mais saudável tem levado os consumidores à procura de alimentos com menos aditivos ou que estes sejam provenientes de fontes naturais. Devido a divulgação de estudos a respeito da toxicologia de aditivos sintéticos utilizados pela indústria, consumidores optam por alimentos minimamente processados ou do tipo frescal.

No caso de produtos cárneos, por serem altamente perecíveis, procura-se maneiras de prolongar sua vida útil. Um dos maiores fatores que acarretam em diminuição do tempo de vida é a oxidação lipídica, visto que produz compostos indesejáveis e perceptíveis sensorialmente, além de diminuir seu valor nutricional (NOVELLO; POLLONIO, 2013). A linguiça frescal, objeto deste trabalho, possui uma fração lipídica alta (até 30%), e tem elevada exposição ao oxigênio devido a moagem dos ingredientes, de modo que é de interesse tecnológico buscar meios para desacelerar sua oxidação, em especial o uso de antioxidantes naturais.

A legislação brasileira estabelece limites de uso para antioxidantes sintéticos, dos quais apesar da eficiência, tem sido demonstrado por diversos estudos o efeito tóxico para a saúde humana (LIMA et al., 2010). Alternativamente, os antioxidantes naturais vêm sendo aplicados em busca de eficiência e atoxicidade, entretanto, limitando sua quantidade para não ocorrer alteração de maneira indesejada da característica sensorial do alimento (ROSA et al., 2013).

Provindos de fontes vegetais variadas, estes antioxidantes em sua maioria são formados por compostos fenólicos, os quais apresentam um ou mais anéis aromáticos em sua estrutura, com características sensoriais marcantes no caso de temperos, como a sálvia, orégano, tomilho, entre outros, devendo ser levado em consideração sua contribuição ao sabor e aroma do produto (BREWER, 2011).

Para a realização deste trabalho, foi avaliada a capacidade antioxidante do óleo essencial de orégano, adquirido comercialmente, de modo a embasar o delineamento para sua aplicação em linguiça suína frescal. O óleo de orégano foi utilizado em conjunto com o eritorbato de sódio, um antioxidante sintético de uso comum para este tipo de produto, a fim de verificar o comportamento, tendo em vista a substituição parcial do eritorbato na formulação.



## 2 OBJETIVOS

Avaliar a substituição parcial de antioxidante eritorbato de sódio por óleo de orégano em linguiça frescal, no período de armazenamento de 28 dias à 4°C. As formulações buscam equiparar a atividade antioxidante do orégano com um antioxidante comercial, o eritorbato de sódio, de modo a substituir parcialmente este antioxidante sintético, verificando o comportamento do óleo essencial de orégano aplicado em um produto cárneo.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar os compostos fenólicos totais do óleo essencial de orégano comercial;
- Avaliação da atividade antioxidante do óleo essencial de orégano pelo método ABTS;
- Elaborar formulação de linguiça frescal com substituição parcial de 30, 50 e 70% de eritorbato de sodio por óleo essencial de orégano
- Avaliar a oxidação lipídica das linguiças pelo método de TBARs em frequência semanal, sob refrigeração de 4°C pelo período de 28 dias;

### 3 DESAFIOS TECNOLÓGICOS EM PRODUTOS CÁRNEOS

Existe atualmente uma tendência a uma alimentação mais saudável, em que os consumidores buscam informações a respeito dos ingredientes e aditivos que estão sendo utilizados nos produtos. Concomitantemente, há uma preferência a alimentos naturais, ou ainda, que os ingredientes presentes sejam familiares, sendo percebidos pelo consumidor como melhor opção para a saúde (BREWER, 2011).

Com o avanço tecnológico e a industrialização, houve um crescimento da exposição humana à produtos químicos, o que levou ao surgimento de diversos estudos averiguando a toxicologia e segurança para o homem. Neste contexto, incluem-se os 25 mil aditivos alimentares utilizados pelo mundo, sendo o item mais controverso para os consumidores preocupados com sua segurança alimentar (HONORATO et al., 2013).

No Brasil, a regulamentação depende da Secretária de Vigilância Sanitária, a qual apresenta na Portaria nº540, de 27 de outubro de 1997, a definição de aditivo alimentar como:

qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenagem, transporte ou manipulação de um alimento (BRASIL, 1997).

Os aditivos alimentares apresentam papéis fundamentais no aspecto tecnológico, especialmente para manter a qualidade de alimentos perecíveis e prolongar a vida de prateleira. Em meio aos questionamentos quanto a segurança dos aditivos sintéticos, relacionando o consumo excessivo com reações gastrointestinais, respiratórias, dermatológicas e neurológicas (HONORATO et al. 2013), e a preferência dos consumidores a alimentos que contenham o mínimo de aditivos sintéticos (LIMA, 2010), surgem estudos buscando alternativas naturais e viáveis a indústria alimentícia.

Devido ao intenso consumo de carnes, além de fazer parte da dieta diária contribuindo com importantes nutrientes, tem-se explorado sua transformação em produtos industrializados de modo a atender as necessidades de variedade e praticidade dos consumidores (CHIATTONE, 2010). Tais mudanças na indústria alteram as propriedades da carne fresca por meio de tratamentos físicos, químicos ou

biológicos, com a finalidade de aumentar a vida útil do produto, entretanto mantendo as propriedades nutritivas e sensorial (SERAFINI, 2013).

Trata-se de um fator limitante para a indústria a estabilidade da carne e seus derivados (CHIATTONE, 2010), principalmente por sua propensão à oxidação lipídica no processo ou no armazenamento do produto (PEREIRA; PINHEIRO, 2013). Tais alterações influenciam diretamente no prazo de validade, pois modificam as propriedades sensoriais, especialmente pela gordura contribuir em quesitos como sabor, textura e suculência (NOVELLO; POLLONIO, 2013).

A degradação dos lipídeos pode ocorrer por oxidação, hidrólise, polimerização, pirólise e absorção de sabores e odores indesejáveis. No caso das reações hidrolíticas, as enzimas lipases ou a ação de calor e umidade agem como catalisadores, formando ácidos graxos livres. Entretanto, a principal causa de deterioração da carne é a oxidação lipídica (CHIATTONE, 2010).

Processos de elaboração de produtos cárneos, como moer, reestruturar, cozinhar, levam a ruptura das membranas das células, ainda mais em produtos sem processo de aquecimento que tem a desestruturação do músculo e incorporação do ar, o que ocasiona a interação de pro-oxidantes com as gorduras insaturadas e o oxigênio, gerando radicais livres e propagando a reação oxidativa (SKIBSTED; RISBO; ANDERSEN, 2010).

### 3.1 OXIDAÇÃO LIPÍDICA

A oxidação lipídica trata-se de uma reação em que as moléculas de oxigênio reagem com os lipídeos insaturados para formar peróxidos lipídicos. Este processo envolve a formação de radicais provinda dos lipídeos insaturados, absorção de oxigênio, rearranjo das duplas ligações, e eventual quebra de peróxido lipídico, acarretando em uma variedade de produtos como álcoois, aldeídos e cetonas (SKIBSTED; RISBO; ANDERSEN, 2010).

A oxidação lipídica ocorre em uma reação em cadeia de radicais livres, retratado em três mecanismos: iniciação, propagação e terminação. A oxidação lipídica inicia-se quando um átomo de hidrogênio (H) é capturado a partir de uma

insaturação (R:H) formando um radical livre (R<sup>\*</sup>). Ao retirar esta molécula, a cadeia lipídica deixa um elétron desemparelhado no carbono central da cadeia. Este radical se estabiliza por um rearranjo molecular, o que em contato com o ar ambiente, deverá reagir com o oxigênio, este arranjo forma então um radical peróxido (ROO<sup>\*</sup>) (LIMA, 2014; SKIBSTED; RISBO; ANDERSEN, 2010).

A próxima etapa é a propagação, em que o peróxido (ROO<sup>\*</sup>) por ser mais reativo que R<sup>\*</sup> ou RH, preferencialmente extraí um átomo de hidrogênio de outra molécula lipídica ou de um ácido graxo adjacente, de modo a formar um hidroperóxido lipídico e um novo radical livre, ou seja, a propagação de uma reação em cadeia. Por fim, na fase da terminação, os peróxidos formados irão reagir entre si e dessa forma geram produtos secundários provindos da peroxidação (LIMA, 2014; SKIBSTED; RISBO; ANDERSEN, 2010).

Além dos efeitos indesejados ao produto oriundos da oxidação dos lipídeos, Chiattonne (2010) ressalta preocupações envolvendo o âmbito da saúde humana, uma vez que os produtos da oxidação lipídica, como os peróxidos por exemplo, podem ser absorvidos pelo fígado ou causar danos a mucosa intestinal. A autora indica que os peróxidos: “afetam a atividade de diversas enzimas, alteram as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) que estão envolvidas no desenvolvimento de lesões arteroscleróticas e interagem com o DNA, atuando como promotores da carcinogênese” (CHIATTONE, 2010).

Há ainda a ação dos hidroperóxidos de ácidos graxos poli-insaturados, os quais se formam na oxidação lipídica, estes favorecem a oxidação do colesterol, o qual gera produtos mais danosos para as artérias do que o colesterol em si, e estão relacionados com doenças coronárias e arteriosclerose (CHIATTONE, 2010). Novello e Pollonio (2013) levantam ainda a questão de a oxidação lipídica interferir no valor nutricional, por meio da perda de vitaminas e ácidos graxos insaturados essenciais.

Outros fatores os quais podem ser citados por modificar as reações de autooxidação das gorduras são: presença de metais, contato com o oxigênio e peróxidos, pH, o uso de antioxidantes para impedir a formação de radicais livres e presença de enzimas como a lipoxigenase, as oxidases e as lipases (CHIATTONE, 2010; MARQUES; ROSA; VALENTE, 2009).

Os autores Mariutti e Bragagnolo (2009) listam fatores extrínsecos relativos ao processamento os quais influenciam na oxidação lipídica, são eles: moagem,

tratamento térmico, aplicação de alta pressão, relação entre os ingredientes na formulação de produtos, temperatura de armazenamento, embalagem e exposição à luz.

Considerando a temperatura como fator importante no tempo de armazenamento, Chiattonne (2010), considera que a carne mantém boas condições a 0°C em um tempo de três a seis semanas, enquanto que sob congelamento (entre -18°C e -20°C) pode atingir 9 a 15 meses. Entretanto, no caso de produtos cárneos que passem pelo processo de desintegração da carne, como a linguiça frescal, há início da oxidação mesmo em resfriamento, devido a liberação dos ácidos graxos insaturados presentes na membrana (fosfolípídeos) e os íons de ferro da mioglobina (Fe<sup>++</sup>).

Por essas considerações, a oxidação lipídica é o principal processo para perda de qualidade dos produtos cárneos, por determinar a vida útil e gerar produtos indesejáveis sensorialmente (PEREIRA; PINHEIRO, 2013). Desse modo justifica-se buscar medidas para retardar sua ação, mantendo o produto por mais tempo sensorialmente aceitável.

### 3.2 LINGUIÇA SUÍNA FRESCAL

A legislação vigente determina como 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” (BRASIL, 2000). Sendo sua denominação definida de acordo com expressões que a caracterizem, neste trabalho tratando-se de linguiça de carne suína frescal.

Os ingredientes obrigatórios são carnes de diferentes espécies de animais de açougue e sal, tendo como ingredientes opcionais: gordura, água, proteína vegetal e/ou animal; açúcares, plasma, aditivos, aromas, especiarias e condimentos (BRASIL, 2000).

Suas características sensoriais são de textura, cor, sabor e odor característico, e as características físico-químicas da linguiça frescal são: umidade

máxima de 70%, gordura máxima de 30%, proteína mínima de 12% e cálcio em base seca de no máximo 0,1% (BRASIL, 2000).

Em específico, a linguiça frescal apresenta desafios, visto que para sua fabricação a matéria-prima é moída, o que aumenta a superfície de exposição para oxidação e crescimento microbiano, além de não passar por nenhum tratamento térmico para reduzir a microbiota, e ainda apresentar elevada atividade de água, fatores os quais acarretam em uma vida-útil curta (MILANI et al., 2003). Por estes motivos, buscam-se aplicações tecnológicas para aumentar a vida útil e manter suas características durante o tempo de armazenamento.

### 3.3 ANTIOXIDANTES

De modo a obter maior estabilidade em produtos com alto teor de lipídeos, opta-se pela adição de agentes antioxidantes (PEREIRA; PINHEIRO, 2013), podendo ser sintéticos, naturais ou uma combinação de ambos. Esta estabilidade está diretamente relacionada com o equilíbrio entre antioxidante e a composição dos substratos de oxidação (SERAFINI, 2013).

A atividade antioxidante é a capacidade que um composto possui em retardar a degradação pela oxidação, agindo por meio de um ou mais mecanismos para inibir a formação de radicais livres ou para interromper a propagação dos mesmos (HONORATO et al., 2013).

Estes mecanismos, listados por Brewer (2011), são: sequestrando compostos os quais iniciam a peroxidação; quelando íons metais impedindo estes de gerar compostos reativos ou decompor peróxidos lipídicos; consumindo O<sub>2</sub> de modo a prevenir a formação de peróxido; interrompendo a cadeia oxidativa ou reduzindo o O<sub>2</sub> disponível.

Tanto os antioxidantes naturais quanto os sintéticos são eficientes em sequestrar radicais livres, absorver a luz ultravioleta (UV) e quelar metais de transição, agindo de modo a conter os danos autoxidativos e a produção de odor e sabor desagradável (BREWER, 2011).

Na indústria atualmente se utiliza em grande parte antioxidantes sintéticos, devido ao menor custo e maior eficiência (PEREIRA; PINHEIRO, 2013). Entre os antioxidantes sintéticos mais utilizados pode se citar: BHA (butilhidroxianisol), BHT (butilhidroxitolueno), TBHQ (terc-butilhidroquinona) e PG (galato de propila), porém os aspectos toxicológicos e efeitos carcinogênicos tem sido uma preocupação ao empregar estes componentes (SERAFINI, 2013).

Há ainda a questão de empregar aditivos com a presença de sódio, como nitratos e nitritos de sódio, o eritorbato de sódio, entre outros, os quais aumentam o volume de sódio a ser ingerido. Diversos estudos demonstram que o consumo excessivo leva ao desenvolvimento de doenças crônicas, e que o consumo brasileiro diário esta três vezes superior ao indicado (SARNO et al., 2009).

Devido a conscientização crescente dos consumidores a respeito da segurança dos aditivos alimentares e pesquisas alertando sobre a toxicidade dos compostos sintéticos, buscam-se alternativas para reduzir seu uso entre elas a aplicação de antioxidantes naturais (PEREIRA; PINHEIRO, 2013).

Porém, ao selecionar um antioxidante deve se levar em conta que ele irá provocar alterações no produto, não sendo interessante que produza cores, odores ou sabores estranhos. Devem ser resistentes ao tratamento que o produto irá passar, e ser ativo na temperatura de armazenamento (ROSA et al., 2013). Chiattonne (2010) ressalta outras características, como a eficácia em baixas concentrações, compatibilidade com o alimento a ser aplicado, e o composto e seus produtos de oxidação serem atóxicos. Necessita também considerar custo e a legislação vigente.

Além do conhecimento da reatividade química do antioxidante escolhido, é necessário considerar a localização física e distribuição dentro do alimento, a interação do antioxidante com outros componentes da formulação e as condições ambientais (MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2009).

Os antioxidantes naturais são formados por vitaminas, minerais, enzimas, pigmentos, óleos essenciais, entre outros compostos vegetais (LIMA, 2014). Extensa pesquisa acadêmica tem sido realizada buscando novos, seguros e eficientes compostos para prevenir a oxidação, especialmente extraídos de plantas (HONORATO et al., 2013).

Dentre estas substâncias destacam-se os compostos fenólicos devido ao seu alto potencial antioxidante, além de estarem presentes em muitas ervas e especiarias,

as quais são aplicadas como condimentos em diversos pratos (ROSA et al., 2013). Serafini (2013) considera uma tecnologia promissora, devido as muitas substâncias vegetais possuírem, além da propriedade antioxidante, uma ação antimicrobiana.

Destaca-se ainda, a vantagem da aceitação imediata do consumidor frente aos antioxidantes naturais e não haver limite na legislação brasileira (SERAFINI, 2013). Entretanto, Ferreira (2011) indica a necessidade de revisão da legislação para poder substituir completamente os antioxidantes sintéticos.

### 3.3.1 Óleo essencial de orégano

Os óleos essenciais são definidos por Busatta et al. (2007) como líquidos oleosos aromáticos obtidos por diferentes partes da planta, como as flores, folhas, sementes, frutos, raiz, ervas, madeiras, botões, galhos e cascas, sendo uma mistura complexa de hidrocarbonetos, álcoois, ésteres, aldeídos, compostos carboxílicos e, em alguns casos, fenilpropanoídes.

O orégano é uma planta perene pertencente à família *Lamiaceae*, a qual possui várias ramificações de seus galhos, utilizando-se de suas folhas, comumente secas, como tempero. Está entre os condimentos mais populares do mundo, sendo a maioria de suas espécies nativas do Mediterrâneo, sendo conhecido por seu aroma característico, proveniente de seu conteúdo relativamente alto de carvacrol (UGALDE, 2014).

Há estudos sobre seus diversos usos na medicina, como para tratamento de tosses, desordens do trato digestivo e problemas menstruais. Além disso, é extensamente apresentado na literatura por possuir efeitos antimicrobianos, fungicidas e antioxidantes (GURUDATT et al. 2010).

A maioria dos estudos sobre o *Origanum vulgare* se relaciona com métodos de obtenção de óleo ou de extratos de orégano (RODRIGUES, 2002; MARTINS et al. 2014; TEIXEIRA et al. 2012), caracterização de uma subespécie sob determinados parâmetros ambientais, como estação e origem, (JERKOVIC; MASTELIC; MILOS, 2011; PUTIEVSKY; RAVID; DUDAI, 1998; AMNA et al. 2010) e caracterização da



atividade antioxidante e antimicrobiana *in vitro* (FALEIRO et al. 2005; PUERTAS-MEJÍA et al. 2002).

Entre aplicações tecnológicas do orégano, o estudo de Pitaro, Fiorani e Jorge (2012) utilizou extratos de manjerição e orégano em óleo de soja para medir a estabilidade oxidativa, o qual demonstrou potencial antioxidante em uma concentração de 2.000 mg/kg<sup>-1</sup>. Em outro estudo, este realizado por Ugalde (2014), foi aplicado o óleo essencial de orégano em um filme para embalar salsicha, o qual mostrou um desempenho superior do orégano com relação a concentração inibitória mínima *in vitro*, e no filme foi evidenciado diferença significativa nos valores de TBA (2-tiobarbitúrico) após 15 dias de armazenamento, demonstrando efeito antioxidante.

Poucos estudos mostram aplicações do óleo essencial de orégano em alimentos, e estes focam no aspecto antimicrobiano, como Kruger (2006) mostrando o controle de *Listeria monocytogenes* em linguiça frescal pela ação de nisina sinergicamente com óleo essencial de orégano; e Busatta et al (2007), o qual verifica a atividade antimicrobiana frente a *Escherichia coli* em comparação a diferentes concentrações de óleo essencial de orégano em linguiça, relatando que com uma concentração relativamente baixa do óleo obteve-se uma maior vida útil do produto com alteração mínima desejada em parâmetros sensoriais.

Busca-se, portanto, a caracterização do óleo essencial de orégano e sua aplicação em linguiça frescal para observar seu potencial antioxidante no tempo de vida útil do produto, por meio da análise de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, conhecido como TBARS. Este é o método mais utilizado e baseia-se na reação entre o ácido com o malonaldeído (MDA), composto este resultante da decomposição dos hidroperóxidos (PEREIRA; PINHEIRO, 2013; SERAFINI, 2013).

Os processos envolvidos na elaboração de produtos cárneos favorecem a geração de MDA, e este é determinado por "valor de TBA" em mg de malonaldeído por kg de amostra. Valores entre 1,00 a 2,00 mg kg<sup>-1</sup> começam a ser perceptíveis sensorialmente devido a formação de sabor indesejável no produto (PEREIRA; PINHEIRO, 2013; SERAFINI, 2013).

## 4 METODOLOGIA

O trabalho está dividido em duas etapas, a primeira de avaliação do óleo essencial de orégano em comparação ao eritorbato de sódio, o qual foi a base para o desenvolvimento da segunda etapa de aplicação tecnológica em linguiça suína frescal de modo a avaliar o efeito dos antioxidantes no produto cárneo durante o armazenamento.

### 4.1 AVALIAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO

O antioxidante natural em foco neste estudo foi o Óleo Essencial de Orégano comercial da marca Quinarí, extraído por arraste de vapor das folhas de *Origanum vulgare*, proveniente dos Estados Unidos. Este foi avaliado quanto a sua capacidade antioxidante e estudado em comparação ao antioxidante sintético eritorbato de sódio, comercial puro.

#### 4.1.1 Compostos Fenólicos Totais

O conteúdo de compostos fenólicos foi realizado pelo método de Folin-Ciocalteu adaptado por Pereira (2009) do método descrito por Singleton et al. (1965). Ele se baseia na quantificação espectrofotométrica de compostos fenólicos, em que o reagente na presença de certos agentes redutores forma os compostos molibdênio azul e tungstênio azul, com coloração que permite ser determinada sua concentração em espectrofotômetro no comprimento de onda de 740nm.

O óleo essencial de orégano foi diluído em etanol, utilizando-se de diferentes concentrações (2mg/mL a 0,125mg/mL). Foi preparado em tubo de ensaio, em triplicata, cada amostra utilizando 0,5 mL e adicionando 2,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu 10% diluído em água destilada. Após 5 minutos foi acrescido de 2 mL de

carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) a 4%. Agitou-se os tubos e armazenou por duas horas, ao abrigo de luz, em temperatura ambiente.

Após o tempo de incubação mediu-se a absorvância, usando água destilada como branco. Foi utilizado Ácido gálico (20 a 70  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), dissolvido em água destilada, para elaboração da curva padrão e os valores de fenólicos totais são expressos como equivalentes de ácido gálico (mg de ácido gálico/g de amostra).

#### 4.1.2 Capacidade sequestrante do radical ABTS

O método ABTS foi realizado conforme a metodologia desenvolvida por Re et al. (1999). Preparou-se uma solução estoque de 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) a 7mM em água destilada, sendo armazenado em vidro âmbar sob refrigeração. O radical ABTS é preparado utilizando 5 mL da solução estoque e 88  $\mu\text{L}$  de solução de persulfato de sódio 140 mM em água destilada, sendo armazenado ao abrigo de luz, em temperatura ambiente por 16 horas.

Para realizar a leitura em espectrofotômetro é utilizado o comprimento de onda de 734 nm, e o radical ABTS é diluído em álcool etílico até atingir uma absorvância de  $0,700 \pm 0,05$  preparado no momento da análise. Utilizou-se 30  $\mu\text{L}$  de diluições do óleo essencial de orégano em tubos de ensaio realizados em triplicata, homogeneizando-os com 3 mL da solução radical ABTS em agitador de tubos. Após aplicado, os tubos foram mantidos ao abrigo da luz por 6 minutos e realizado a leitura, obtendo-se um coloração verde-azulada que diminui conforme a quantidade de antioxidante presente.

Foi utilizado uma curva padrão de Trolox (6-Hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico) e os resultados são expressos como TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity – Capacidade antioxidante equivalente ao Trolox), de modo a TEAC corresponder em mMol Trolox por mL de óleo essencial de orégano

## 4.2 APLICAÇÃO EM LINGUIÇA SUÍNA FRESCAL

Foi desenvolvido uma formulação padrão de linguiça similar a um produto comercial (Tabela 1), havendo variação apenas das concentrações de antioxidante.

**Tabela 1 – Formulação padrão da linguiça fresca**

<b>Ingredientes</b>	<b>%</b>
Carne suína	72
Toucinho	23
Água	3
Sal	1,5
Sais de Cura*	0,21
Alho	0,15
Pimenta branca	0,02
Tempero verde	0,12

\*Sais de cura comercial próprio para linguiça suína, sendo uma combinação de nitrito e nitrato de sódio.

Devido à ausência de legislação sobre a quantidade de antioxidante natural e por simular um produto a ser comercializado, optou-se por uma substituição parcial de um antioxidante sintético, utilizando eritorbato de sódio, por ser comumente aplicado em embutidos crus. Esta substituição não foi determinada por volume e sim pela atividade antioxidante observada *in vitro*, ou seja, usou-se quantidade suficiente de óleo essencial de orégano para atingir a mesma atividade da quantidade de eritorbato de sódio a ser substituída.

Realizou-se um teste para determinar esta equivalência da atividade antioxidante *in vitro* por meio do método ABTS. Seguindo a quantidade de eritorbato de sódio indicada para óleos e gorduras, de 0,1 g por kg de produto (0,01%), estabeleceu uma correlação com o óleo essencial de orégano descrita na tabela 3 (p.24). A partir deste resultado determinou-se as formulações, conforme a tabela 2:

**Tabela 2 – Formulações de linguiça fresca**

<b>Formulação</b>	<b>% de OEO</b>	<b>% de Eritorbato de Sódio</b>
Controle	-	100
Formulação 1	30	70
Formulação 2	50	50
Formulação 3	70	30

Porcentagem referente a substituição do eritorbato de sódio.

A carne suína e o toucinho foram moídos no momento do preparo da linguiça. A massa de linguiça foi preparada conforme a formulação e homogeneizada, sendo que para cada formulação preparou-se 1 kg, para então adicionar o(s) antioxidante(s) conforme o delineamento experimental e realizar nova homogeneização. As tripas suínas foram hidratadas em imersão uma hora antes do embutimento.

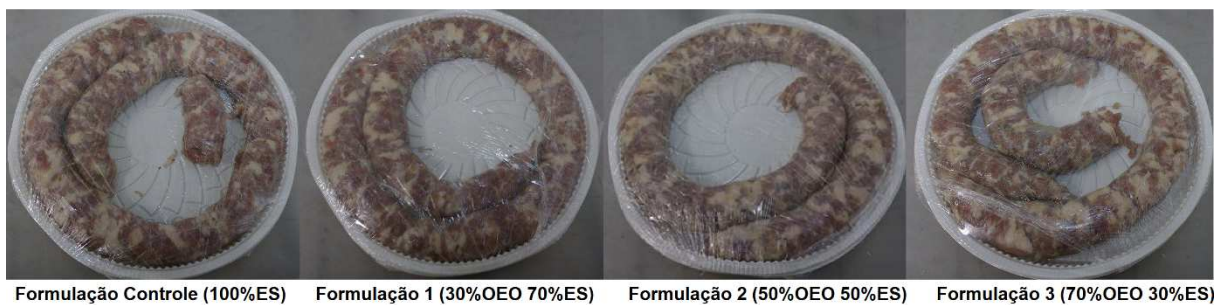


Figura 1 – Linguiça Suína Frescal de cada formulação embalada

Cada formulação foi embutida separadamente e embaladas em bandeja plástica com cobertura de filme PVC, conforme observado na Figura 1. Foram armazenadas por 28 dias em BOD à 4°C, sendo retiradas apenas para pesagem da amostra para realizar o teste de oxidação lipídica, sendo novamente embalada.

#### 4.2.1 Índice de substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

Este teste foi conduzido conforme descrito por Stefanello et al. (2015), onde quantificou-se o malonaldeído (MDA) proveniente da decomposição dos compostos primários da oxidação lipídica, o qual reage com o ácido 2-tiobarbitúrico formando um complexo cromogênio, e apresenta uma coloração vermelha. Esta coloração é quantificada por espectrofotômetro no comprimento de onda de 531 nm.

Foi pesada 10g por formulação, em triplicata, e adicionada de 50 mL de ácido tricloroacético (TCA) e uma gota de antioxidante BHT, sendo homogeneizada em mixer por 30 segundos. Esta mistura passou por papel filtro e teve seu volume completado em balão volumétrico de 50 mL. Desta foi retirado 5 mL para cada tubo de rosca, realizado em triplicata, e adicionado de 5 mL de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) 0,02M em ácido acético 50%.

Os tubos foram fechados e colocados em banho maria a 90°C por 45 minutos. Ao atingir temperatura ambiente realizou-se a leitura da absorbância. A equivalência das leituras foi pela curva padrão com 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP), tendo seus valores expressos em mg de MDA por quilograma de produto. Este teste foi realizado no tempo 0, e semanalmente até os 28 dias de armazenamento.

#### 4.2.2 Análise Estatística

Os dados de TBARs foram avaliados por meio de análise de variância ANOVA, pelo teste de Tukey ao intervalo de confiança de 95% no software STATISTICA 13.0 verificando diferenças significativas entre os tempos e entre as formulações.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Será apresentado a avaliação preliminar do óleo essencial de orégano e do eritorbato de sódio, em que relata o embasamento para desenvolver o delineamento experimental, seguido da seção com os resultados da aplicação tecnológica.

### 5.1 AVALIAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO

Devido a variação da composição de óleos essenciais influenciados pela sazonalidade, colheita, temperaturas de secagem, entre outros (TAVARES et al. 2005), em particular no orégano observado pela variação da quantidade de seus principais compostos timol e carvacrol (OLIVEIRA et al. 2008), faz-se necessário avaliar o objeto em estudo.

Avaliou-se os compostos fenólicos pois trazem uma perspectiva das propriedades bioativas da amostra, por sua relação com a atividade antioxidante (BIANCHIN, 2014). Utilizando a curva padrão de ácido gálico representada na figura 2, observou-se que 1 mg/mL de óleo essencial de orégano corresponde a  $340,12 \pm 2,78$   $\mu\text{g}$  EAG (equivalente de ácido gálico).

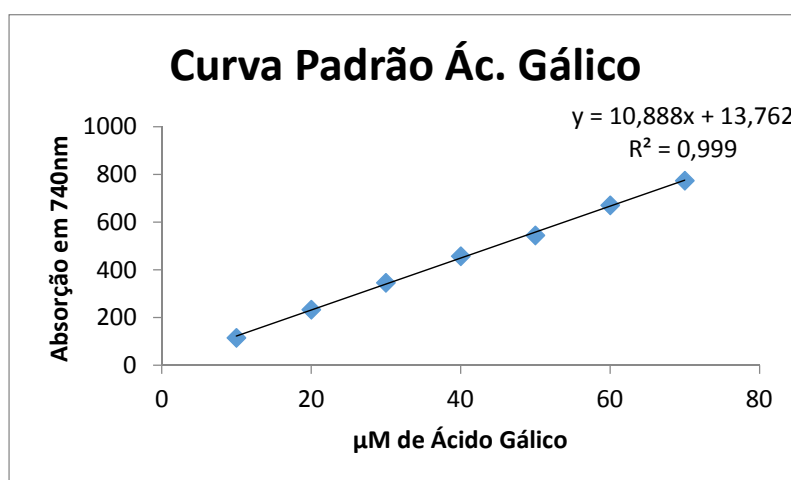


Figura 2 - Gráfico da curva padrão para determinação de compostos fenólicos em EAG

No trabalho de Pitaro, Fiorani e Jorge (2012) o extrato de orégano com maior atividade antioxidante e maior quantidade de compostos fenólicos foi obtido por folhas secas de orégano em etanol, relatando um valor de 147,96 µg EAG. Brewer (2011) relata valores de 15,8 µg EAG para o orégano. Isso demonstra que a composição fenólica do óleo essencial é em maior concentração do que no tempero seco e/ou em extrato.

Lima (2014) descreve os constituintes aromáticos dos Óleos Essenciais (OE) como compostos de cadeias hidrocarbônicas, tendo como precursor básico uma molécula isopreno formadora de terpenos. No OE de Orégano a atividade antioxidante é baseada em monoterpenos fenólicos, tendo em maior quantidade o timol e o carvacrol. No estudo de Teixeira (2012) lista-se decrescente os compostos carvacrol, timol, γ-terpeno, linalol como responsáveis pela alta propriedade antioxidante. Além disso, estes compostos fenólicos atuam em pelo menos dois mecanismos diferentes de antioxidação (BREWER, 2011).

Para equiparar a atividade antioxidante do Eritorbato de Sódio (ES) com a atividade do OE de Orégano, realizou-se testes em ABTS, com diversas concentrações, tendo os valores presentes na Tabela 3. Por meio deste estudo *in vitro* determinou-se a quantidade a ser usada nas formulações de modo a retirar 30, 50 e 70% do volume de ES e utilizar em mL a quantidade necessária para o OE de orégano apresentar a mesma atividade antioxidante. Esta equiparação baseia-se nos resultados obtidos *in vitro*, podendo apresentar outro efeito dentro do produto.

**Tabela 3 – Caracterização da atividade antioxidante frente ao ABTS em Equivalente Trolox**

<b>Amostra</b>	<b>TEAC (µM)</b>
OE Orégano ( 1mg/mL)	2613,39 µM
Eritorbato de Sódio (1 mg/mL)	4643 µM

Curva Padrão em trolox  $R^2 = 0,9956$   $y = -0,2493x + 685,76$

Finalmente, vale ressaltar que o efeito observado *in vitro* de antioxidantes naturais pode apresentar alterações significativas em sua eficiência dentro do produto, devido aos interferentes os quais podem ser inerentes, como o pH e a força iônica, ou específico do processo e dos ingredientes de um produto (BREWER, 2011).



## 5.2 APLICAÇÃO EM LINGUIÇA SUÍNA FRESCAL

Para verificar a oxidação lipídica da linguiça fresca quantificou-se as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico. Realizou-se do tempo 0 a fim de estabelecer a oxidação inicial do produto, e acompanhou semanalmente estes valores até atingir 28 dias de armazenamento. O processo de oxidação inicia-se desde a matéria-prima pela moagem, e na embalagem e BOD pela contínua exposição ao oxigênio, entretanto, não houve exposição a luz, limitando este fator. Apesar da temperatura de 4° C a oxidação não é impedida e não retardada de maneira tão eficientemente quanto o congelamento.

Por meio de uma curva padrão (Figura 3) transformou-se a leitura da absorbância no espectrofotômetro em equivalente TEP ( $10^{-8}$  mols/mL), de modo aos valores representarem miligrama de Malonaldeído (MDA) por quilograma de amostra, sendo os resultados da oxidação lipídica exibidos na Tabela 4.

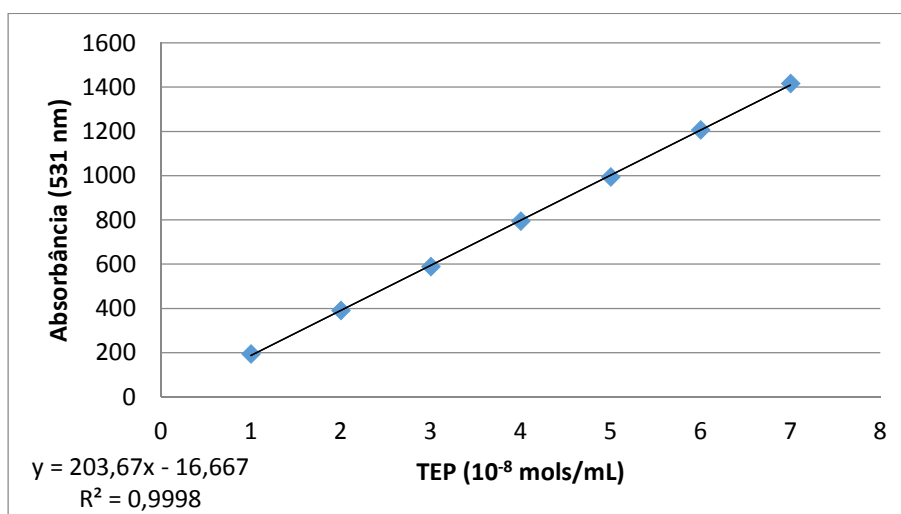


Figura 3 – Gráfico da curva padrão de TEP

Analisando individualmente o comportamento das formulações durante o tempo, percebe-se que não houve diferença significativa do tempo inicial e a primeira semana em nenhum dos ensaios, obtendo valores significativos de oxidação a partir dos 14 dias até o fim do experimento, com exceção da formulação 2 (70% ES 30%OEO).

**Tabela 4 - Valores médios de TBARS nas diferentes formulações de linguiça suína frescal durante o período de armazenamento**

	0 (Inicial)	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
<b>Controle</b>	0,508±0,02a	0,508± 0,01 a	0,793±0,01 b	1,106±0,01 c	1,457±0,06 d
<b>F1*</b>	0,480±0,02 a	0,539±0,01 a	0,901±0,09 b	1,074±0,08 c	1,139±0,12 c
<b>F2**</b>	0,481±0,03a	0,542± 0,02 a	0,796±0,05 b	1,064±0,01 c	1,254±0,04 d
<b>F3***</b>	0,481±0,02 a	0,511±0,02 a	0,722± 0,03 b	0,921±0,07 c	1,123±0,04 d

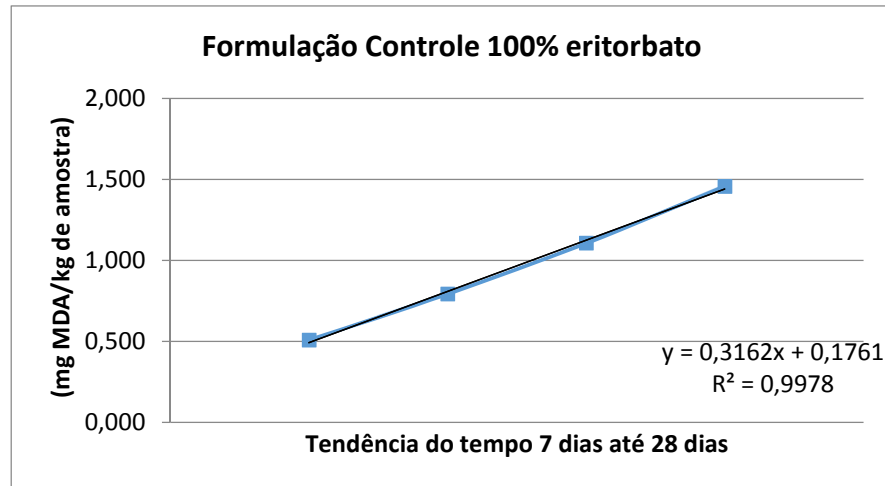
\*Valores apresentados como média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey. \*Formulação 1: 30% OEO 70% ES \*\* Formulação 2: 50% OEO 50% ES \*\*\* Formulação 3: 70% OEO 30%

No experimento conduzido por Brum (2011), observa-se aumento significativo dos níveis de TBARs em hambúrguer desde o período inicial até os 30 dias, em armazenamento a  $-20^{\circ}\text{C}$ , comportamento este observado nesse estudo de 28 dias apesar deste ser em resfriamento a  $4^{\circ}\text{C}$ . Após os 30 dias, Brum (2011) relata estabilização na oxidação, tendência essa observada na formulação 2 a qual não teve variação significativa entre o 21° e 28° dia.

No experimento realizado por Casagrande (2014), linguiça frescal de frango apresenta valores iniciais de oxidação similares, sendo de  $0,607 \pm 0,1$  mg MDA/Kg, valor este que não apresenta diferença significativa do tempo inicial obtido neste estudo de amostra, utilizando como antioxidante eritorbato de sódio a 0,01%.

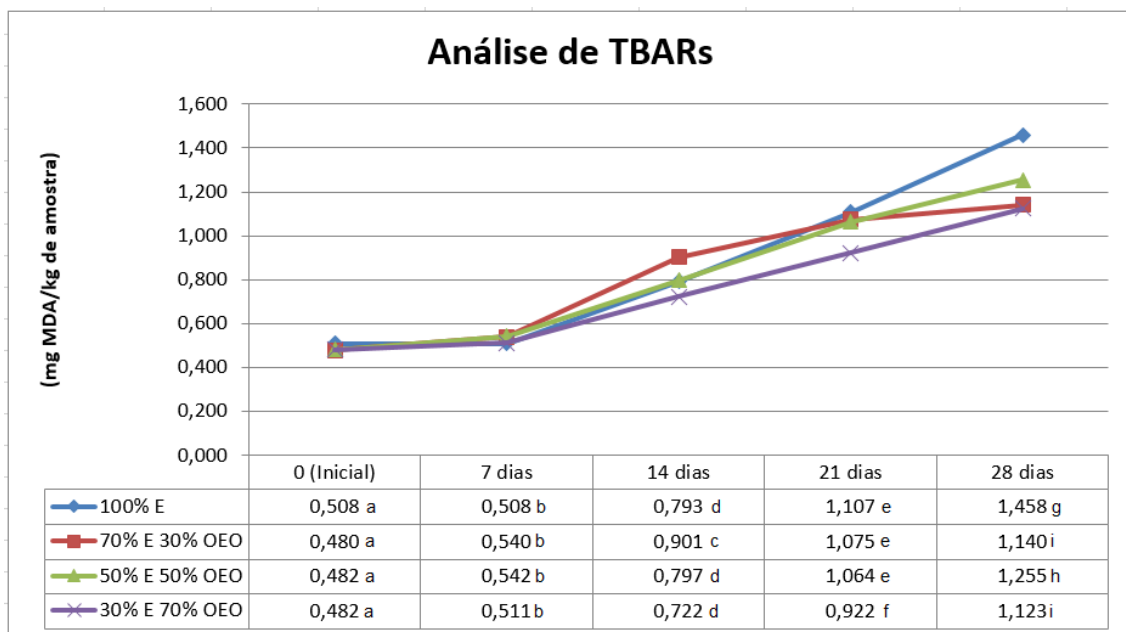
Entretanto, no tempo de 8 dias de armazenamento a  $4^{\circ}\text{C}$ , houve diferença significativa, obtendo valores de  $1,601 \pm 0,06$  mg MDA/Kg (CASAGRANDE, 2014), valores estes superiores ao encontrado neste trabalho, o qual só obteve diferença significativa a partir do 14° dia e em valores de  $0,793 \pm 0,01$  mg MDA/Kg para a mesma quantia de eritorbato de sódio.

Na formulação controle de eritorbato de sódio observou-se uma progressão linear após os 7 dias de armazenamento neste experimento. Em formulação controle com apenas eritorbato de sódio em hambúrguer (BRUM, 2011), observa-se o comportamento linear até o tempo de 30 dias, diferindo significativamente, similar ao apresentado no Figura 4, não utilizando o valor do tempo 0 por não haver diferença significativa com o tempo de 7 dias.



**Figura 4 – Gráfico da tendência linear na oxidação lipídica da formulação controle**

Estes valores de TBARs foram avaliados levando em consideração as diferenças significativas apresentadas entre as formulações conforme o Figura 5:



Legenda: E (eritorbato de sódio) OEO (óleo essencial de orégano). Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey.

**Figura 5 – Análise de TBARs durante o armazenamento de linguiça frescal**

As formulações não diferem entre si no tempo inicial e após 7 dias, havendo diferença significativa no tempo 14 apenas para a formulação 2, a qual apresenta um pico maior de oxidação, entretanto tende a se estabilizar, diferente das outras formulações que apresentam um crescimento linear até o fim do armazenamento.

No tempo de 21 dias apenas a formulação com maior quantia de orégano diferiu significativamente das outras formulações, apresentando menor valor de mg de malonaldeído. Valores acima de 1 mg MDA/kg começa a ser notada a oxidação lipídica sensorialmente (PEREIRA; PINHEIRO, 2013; SERAFINI, 2013), onde apenas a formulação 3 (30% ES e 70% OEO) manteve-se abaixo de 1 mg.

Na última análise a formulação 1 e 3 deixam de ter diferença significativa, tendo no tempo de 28 dias apenas o eritorbato diferido significativamente de todas as formulações e possuindo o maior valor de MDA. Permite-se concluir que a combinação com orégano mostrou mais eficiência do que utilizando apenas o eritorbato de sódio. Similarmente, Figueiredo (2010) descreve um estudo com carne suína moída e aplicado combinações de eritorbato de sódio e urucum, tendo obtido valores de TBARs significativamente menores do que a amostra controle (apenas ES) ao fim do armazenamento.

Estes resultados demonstram sinergia entre os antioxidantes utilizados, mostrando que a interação com óleo essencial de orégano aumenta a eficácia do eritorbato de sódio, visto que este isômero sintético do ácido ascórbico atua como redutor, capturando oxigênio, o qual se combinado com outros mecanismos antioxidantes, como queladores ou sequestrantes de radicais livres, tem maior eficiência do que utilizado sozinho (BREWER, 2011).

Esse efeito sinérgico nem sempre é observado, no estudo de Sposito (2014), foi realizada o teste de TBARs em carne mecanicamente separada, usando como antioxidante eritorbato de sódio, tanto no controle como nas formulações em conjunto com acerola em pó, observando ao fim do armazenamento que não houve diferença significativa entre as amostras. Este resultado demonstra que não houve sinergia, devido ao eritorbato de sódio ter propriedades similares ao ácido ascórbico, atuando com o mesmo mecanismo antioxidante sem melhorar sua eficácia.

## 6 CONCLUSÃO

Este estudo permitiu avaliar o óleo essencial de orégano, mostrando uma alta atividade antioxidante e alto valor de compostos fenólicos, sendo um foco pouco explorado em comparação aos vários estudos caracterizando as propriedades antimicrobianas. Observa-se que o valor *in vitro* baseado para a substituição parcial do eritorbato de sódio mostrou-se eficiente, tendo ainda como vantagem da substituição do antioxidante sintético a diminuição da quantidade de sódio total do produto.

A adição do óleo de orégano junto ao eritorbato de sódio em linguiça frescal foi suficiente para reduzir de maneira significativa a formação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico durante o armazenamento de 28 dias em refrigeração. Não se levou em consideração uma possível sinergia ao fazer o delineamento fatorial, efeito este observado entre os dois antioxidantes, o qual necessita de maiores estudos para esclarecer de que forma ocorre.

Novos estudos são necessários para uma consolidação da interação observada entre os dois antioxidantes. Para tanto, faz-se necessário elucidar como se desenvolve a atividade antioxidante do óleo essencial de orégano.

## REFERÊNCIAS

BIANCHIN, M. **Atividade antioxidante de ervas aromáticas e pólen apícola e seus efeitos durante armazenamento de patê de frango**. 2014. 76 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2014.

BRASIL. Instrução Normativa n.4, de 31 de março de 2000. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade de carne mecanicamente separada, de mortadela, de linguiça e de salsicha. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, p.6, 05 abr. 2000. Seção 1.

\_\_\_\_\_. Portaria n.540, de 27 de outubro de 1997. Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares - definições, classificação e emprego. **Agencia Nacional de Vigilância Sanitária**. Disponível em:  
<[http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/d1b6da0047457b4d880fdc3fbc4c6735/PORTARIA\\_540\\_1997.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/d1b6da0047457b4d880fdc3fbc4c6735/PORTARIA_540_1997.pdf?MOD=AJPERES)>. Acesso em: 30 de maio de 2016.

BREWER, M. S. Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.10, p.221-247, 2011.

BRUM, F. B. et al. Aplicação de ácido fítico em produto cárneo tipo hambúrguer. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v.70, n.1, p. 47-52, 2011.

BUSATTA, C. et al. Evaluation of Origanum vulgare essential oil as antimicrobial agent in sausage. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 610-616, 2007.

CASAGRANDE, M. **Avaliação do potencial antioxidante de coprodutos de indústrias de sucos de uva e de vinho visando sua aplicação em linguiça de frango**. 2014. 121 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2014.

CHIATTONE, P. V. **Ácido ascórbico, eritorbato e mistura comercial na redução da oxidação de hambúrguer bovino processado com água ozonizada**. 2010. 123 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2010.

FALEIRO, L. et al. Antibacterial and Antioxidant Activities of Essential Oils Isolated from *Thymbra capitata* L. (Cav.) and *Origanum vulgare* L. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 53, p. 8162-8168, 2005.

FERREIRA, E. L. et al. Natural Antioxidant from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) Prevents Hamburger Peroxidation. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, v.54, n.4, p. 803-809, 2011.

FIGUEIREDO, B. C. **Estudo da adição do urucum e eritorbato de sódio sobre a oxidação lipídica em carne suína.** 2010. 61 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

GURUDATT, P.S. et al. Changes in the essential oil content and composition of *Origanum vulgare* L. during annual growth from Kumaon Himalaya. **Current Science**, v. 98, n.8, p.1010-1012, 2010.

HONORATO, T. C. et al. Aditivos alimentares: aplicações e toxicologia. **Revista Verde**, Mossoró, v. 8, n. 5, p. 01-11, 2013.

JERKOVIC, I.; MASTELIC, J.; MILOS, M. The impact of both the season of collection and drying on the volatile constituents of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* grown wild in Croatia. **International Journal of Food Science & Technology**, v.4, n.6, p. 649-654, 2001.

KRUGER, M. F. **Controle de *Listeria monocytogenes* em linguiça frescal refrigerada através do uso de óleo essencial de orégano e nisina.** 2006. 70 f. Dissertação (Mestrado em Bromatologia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, 2006.

LIMA, A.R. et al. Compostos bioativos do café: atividade antioxidante in vitro do café verde e torrado antes e após a descafeinação. **Revista Quím Nova**, v.33, n.1, p.20-24, 2010.

LIMA, C. B. **Atividade antioxidante de bioprodutos do cerrado: estabilidade oxidativa e qualidade da carne de frango.** 2014. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. Revisão: Antioxidantes Naturais da Família Lamiaceae. Aplicação em Produtos Alimentícios. **Braz. J. Food Technol.**, v. 10, n. 2, p. 96-103, 2007.

MARQUES, A. C.; ROSA, C. S.; VALENTE, T. B. Formação de toxinas durante o processamento de alimentos e as possíveis consequências para o organismo humano. **Rev. Nutr.**, v.22, n.2, p.283-293, 2009.

MARTINS, et al. Decoction, infusion and hydroalcoholic extract of *Origanum vulgare* L.: Different performances regarding bioactivity and phenolic compounds. **Food Chemistry**, v.158, p.73–80, 2014.

MILANI, L. I. G. et al. Bioproteção de lingüiça de frango. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.23, n.2, p. 161-166 , 2003.

MILANI, L. I. G. et al. Efeito de extratos de caqui (*Diospyros kaki* L.) cultivar Rama Forte e do extrato oleoso de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) nas características sensoriais e na estabilidade da cor de hambúrguer de carne bovina congelado. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 3, p. 1085-1094, 2012.

NOVELLO, D.; POLLONIO, M.A.R. Teores de colesterol e oxidação lipídica em hambúrguer bovino com adição de linhaça dourada e derivados. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.48, n.7, p.805-808, 2013.

OLIVEIRA, D. H. et al. **Caracterização química do óleo essencial de *Origanum vulgare*: análise da relação timol/carvacrol**. In: 17<sup>o</sup> Congresso de Iniciação Científica, Pelotas, 2008.

PEREIRA, D.; PINHEIRO, S. R. **Elaboração de hambúrgueres com antioxidantes naturais oriundos de extratos etanólicos de alecrim (*Rosmarinus officinalis*.L)**. 2013. 47 f. Trabalho de Conclusão de Curso –Bacharelado em Química Industrial/Licenciatura em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2013.

PEREIRA, M. G. **Aplicação de Antioxidantes Naturais em Carne Mecanicamente Separada (CMS) de Ave**. 2009. 125 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

PITARO, S.P.; FIORANI, L.V.; JORGE, N. Potencial antioxidante dos extratos de manjeriço (*Ocimum basilicum* Lamiaceae) e orégano (*Origanum vulgare* Lamiaceae) em óleo de soja. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.14, n.4, p.686-691, 2012.



PUERTAS-MEJÍA, M. et al. In vitro radical scavenging activity of essential oils from Columbian plants and fractions from oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil. **Flavour and Fragrance Journal**, v.17, n.5, p.380-384, 2002.

PUTIEVSKY, E.; RAVID, U.; DUDAI, N. Phenological and seasonal influences on essential oil of a cultivated clone of *Origanum vulgare*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 43, n.3, p. 225-228, 1988.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.

RODRIGUES, M. R. A. **Estudo dos Óleos Essenciais Presentes em Manjerona e Orégano**. 2002. 143f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

ROSA, C.S. et al. Avaliação do efeito de extrato de farinha de alfarroba (*Ceratonia siliqua* L.) na estabilidade oxidativa e cor de hambúrgueres congelados. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 5, p. 93-98, 2013.

RUFINO, M. S. M. et al. **Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH**. Embrapa Ceara, Comunicado Técnico online, 2007.

SARNO et al. Estimativa de consumo de sódio pela população brasileira, 2002-2003. **Rev Saúde Pública**, v.43, n. 2, p.219-225, 2009.

SERAFINI, L. F. **Atividade antioxidante dos extratos de manjerona e pólen apícola: efeitos na qualidade de hambúrguer**. 2013. 136f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, PR, 2013.

SINGLETON, V.L. et al. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **Am. J. Enol. Viticulture**, v.16, p. 144-158, 1965.

SKIBSTED, L. H.; RISBO, J.; ANDERSEN, M. L. **Chemical deterioration and physical instability of food and beverages**. C R C Press LLC, 2010.

SPOSITO, Cinthia M. D. **Aplicação de acerola em pó (Malpighia Emarginata D. C.) em carne mecanicamente separada de frango: Avaliação da sua ação conservante.** 2014. 64f. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2014.

STEFANELLO, F. S. et al. **Efeito da adição de extrato de cogumelo do sol em linguiça suína e avaliação da estabilidade oxidativa e microbiológica do produto.** Semina: Ciências Agrárias, v.36, n.1, p.177-185,2015.

TAVARES, E.S. et al . Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. **Rev. bras. farma.**, João Pessoa , v. 15, n. 1, p. 1-5, 2005.

TEIXEIRA, B. et al. Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.93, p.2707-2714, 2012.

TEIXEIRA, E. M. B. et al. Hambúrguer elaborado com farinha de folhas de Moringa. **Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.**, São Paulo, v. 38, n. 3, p. 220-232, 2013.

UGALDE, M.L. **Biofilmes ativos com incorporação de óleos essenciais.** 2014. 162 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2014.

VARELA, P.; FISZMAN, S.M. Exploring consumers' knowledge and perceptions of hydrocolloids used as food additives and ingredients. **Food Hydrocolloids**, v.30, n.1, p.477-484, 2013.