

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
CAMPUS PATO BRANCO  
CURSO DE BACHARELADO E LICENCIATURA EM QUÍMICA**

**DAIANE PEREIRA  
RAFAELLY SIMIONATTO PINHEIRO**

**ELABORAÇÃO DE HAMBURGUERES COM ANTIOXIDANTES NATURAIS  
ORIUNDOS DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE ALECRIM (*Rosmarinus officinalis.L*)**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**Pato Branco – PR  
2013**

DAIANE PEREIRA  
RAFAELLY SIMIONATTO PINHEIRO

**ELABORAÇÃO DE HAMBURGUERES COM ANTIOXIDANTES NATURAIS  
ORIUNDOS DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE ALECRIM (*Rosmarinus officinalis.L*)**

Trabalho de conclusão de curso, apresentado à Comissão de Diplomação do Curso de Bacharelado em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Câmpus Pato Branco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientador: Solange Teresinha Carpes

Pato Branco – PR  
2013

## TERMO DE APROVAÇÃO

O trabalho de diplomação intitulado **ELABORAÇÃO DE HAMBURGUERES COM ANTIOXIDANTES NATURAIS ORIUNDOS DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE ALECRIM (*Rosmarinus officinalis.L*)** foi considerado APROVADO de acordo com a ata da banca examinadora N° **060B2** de 2013.

Fizeram parte da banca os professores.

Profa. Dra. Solange Teresinha Carpes  
Orientador

Profa. Dra. Larissa Macedo dos Santos

Profa.Dra. Tatiane Luiza Cadorin Oldoni

## **AGRADECIMENTOS**

Agradecemos primeiramente a Deus, pelo dom da vida.

As nossas famílias, pelo incentivo, carinho e por sempre nos apoiar nos momentos difíceis pelos quais passamos durante toda esta caminhada.

A nossa orientadora, professora Dr<sup>a</sup>. Solange Teresinha Carpes, pelo profissionalismo, orientação e amizade além da confiança depositada em nós durante todas as etapas deste trabalho.

Aos colegas de Iniciação Científica (Cristiane Moura, Jacqueline Florio Almeida, Mirelli Bianchin e a mestranda Leila Serafini) do Laboratório de Bromatologia e Microbiologia do Departamento de Química da UTFPR, pela amizade e companheirismo.

Enfim, agradecemos a todos aqueles que de alguma forma tenham contribuído para a realização deste trabalho.

## RESUMO

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

O alecrim (*Rosmarinus officinalis*) se destaca principalmente por suas características sensoriais e, por ser rico em flavonoides e compostos fenólicos com ação antioxidante. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o teor de compostos fenólicos, flavonoides e as propriedades antioxidantes do extrato etanólico de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e na sequência o seu potencial como antioxidante natural em hambúrgueres durante o seu processamento e armazenamento. As concentrações de compostos fenólicos, apresentaram teores elevados (40,91 mg GAE/g de planta) para flavonoides totais, foi observado, 24,26mg quercetina/g na planta. A atividade antioxidante dos extratos hidroalcoólicos foi determinada e comparada à de antioxidantes comerciais BHT (butilhidroxi- tolueno), BHA (butilhidroxi-anisol) e  $\alpha$ -tocoferol pelo método de sequestro do radical livre DPPH• (2,2-difenil-1-picrihidrazil). Foi observado que o extrato hidroalcoólico de Alecrim (*Rosmarinus officinalis*) apresenta uma alta capacidade antioxidante. Neste trabalho também foi elaborado produto cárneo do tipo hambúrguer e avaliado a vida de prateleira durante seu armazenamento. Os produtos preparados por três tratamentos (Controle negativo – sem adição de antioxidante e extrato; Controle positivo – com adição de 0,010% de BTH; Extrato de alecrim – adição de 0,5% de extrato) foram armazenados a -5 °C por 21 dias com análises periódicas a cada 7 dias. O extrato de alecrim inibiu a oxidação lipídica em 21 dias com uma baixa produção de malonaldeído.

**Palavras-chave:** *Rosmarinus officinalis L.*; Compostos fenólicos totais; Flavonoides totais; Atividade antioxidante; Oxidação Lipídica; Produto cárneo.

## ABSTRACT

PEREIRA, Daiane.; PINHEIRO, S. Rafaelly. Preparation of burgers with natural antioxidants derived from ethanol extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis*.L). 2013. 47 f. Work Course Conclusion - Course in Chemistry - BS in Industrial Chemistry / Degree in Chemistry, Federal Technological University of Paraná. Pato Branco, 2013.

Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) is notable primarily for its sensory characteristics and to be rich in flavonoids and phenolic compounds with antioxidant activity. The objective of this study was to evaluate the content of phenolic compounds, flavonoids and antioxidant properties of ethanolic extract of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and sequence their potential as natural antioxidant in burgers during processing and storage. The concentrations of phenolic compounds showed high levels (40.91 mg GAE / g of plant) to total flavonoid was observed, quercetin 24.26 mg / g in the plant. The antioxidant activity of hydroalcoholic extracts was determined and compared to that of commercial antioxidants BHT (butylhydroxy-toluene), BHA (butylated hydroxy anisole) and  $\alpha$ -tocopherol by the method of kidnapping free radical DPPH • (2,2-diphenyl-1-picrihidrazil). It was observed that the hydroalcoholic extract of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) has a high antioxidant capacity. This work was also prepared meat product like burger and rated shelf life during storage. The products prepared by three treatments (negative control - no added antioxidant and extract; positive control - with the addition of 0.010% BTH, Rosemary Extract - adding 0.5% extract) were stored at -5 ° C for 21 days with regular reviews every 7 days. The rosemary extract inhibited lipid oxidation in 21 days with a low production of malonaldehyde.

**Keywords:** *Rosmarinus officinalis* L., total phenolic compounds, total flavonoids, antioxidant activity; Lipid Oxidation; Product flesh diet.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química do Fenol .....	13
Figura 2. Estruturas do Tocoferol .....	15
Figura 3. Estrutura química dos principais antioxidantes sintéticos .....	16
Figura 4. Curva padrão de ácido gálico.....	29
Figura 5. Curva padrão de quercetina.....	30
Figura 6. Cinética de reação extrato de Alecrim.....	31
Figura 7. Cinética de redução do DPPH (porcentagem de atividade antioxidante) das substâncias de referência, (a) $\alpha$ -tocoferol, (b) BHA e (c) BHT. ....	32
Figura 8. Gráfico para cálculo do EC50. ....	33
Figura 9. Cálculo do EC50 para as substâncias de referência, (a) $\alpha$ -tocoferol, (b) BHA e (c) BHT.....	33
Figura 10. T1) Controle Negativo; T2) Controle Positivo; T3) Extrato de Alecrim. ....	35
Figura 11. Elaboração dos hambúrgueres. ....	36
Figura 12. Tubos retirados do banho-maria para posterior leitura dos valores de TBARS. ....	37

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Atividade antioxidante do extrato de Alecrim e antioxidantes comerciais..	34
Tabela 2. Valores de índice de TBARS expresso em expresso em mg de malonaldeído/Kg de amostra, nos hambúrgueres de carne de frango em diferentes tratamentos. ....	38



## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	10
2 OBJETIVOS .....	11
2.1 OBJETIVO GERAL .....	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	11
3 REFERENCIAL TEÓRICO .....	12
3.1 ALECRIM ( <i>ROSMARINUS OFFICINALIS L.</i> ).....	12
3.2 ANTIOXIDANTES EM ALIMENTOS .....	12
3.3 ANTIOXIDANTES NATURAIS .....	14
3.4 ANTIOXIDANTES SINTÉTICOS .....	15
3.5 COMPOSIÇÃO LIPÍDICA DA CARNE .....	17
3.6 CARACTERIZAÇÃO DA RANCIDEZ DE ÓLEOS E GORDURAS .....	17
3.7 FATORES QUE INFLUENCIAM A OXIDAÇÃO EM CARNES .....	18
3.8 PRINCIPAIS CONSEQUÊNCIAS DO PROCESSO OXIDATIVO EM CARNES .....	20
3.9 MÉTODOS PARA AVALIAR A PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA EM CARNES.....	22
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
4.1 COLETA DAS AMOSTRAS E PREPARO DOS EXTRATOS ETANÓLICOS .....	24
4.2 COMPOSTOS FENOLICOS TOTAIS.....	24
4.3 FLAVONOIDES TOTAIS.....	24
4.4 ATIVIDADE DE SEQUESTRO DO RADICAL DPPH•.....	25
4.5 ELABORAÇÃO DE HAMBÚRGUER DE CARNE DE FRANGO .....	26
4.6 ÍNDICE DE PERÓXIDO .....	27
4.7 DETERMINAÇÃO DA OXIDAÇÃO LIPÍDICA PELO TBARS .....	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5.1 COMPOSTOS FENOLICOS E FLAVONOIDES TOTAIS DOS EEEA .....	29
5.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EEEA.....	30
5.3 ELABORAÇÃO DE HAMBÚRGUER DE CARNE DE FRANGO .....	35
5.4 ÍNDICE DE PERÓXIDO .....	36
5.5 DETERMINAÇÃO DA OXIDAÇÃO LIPÍDICA PELO TBARS .....	37
6 CONCLUSÃO.....	40
REFERÊNCIAS.....	41

## 1 INTRODUÇÃO

A preocupação do consumidor com a saúde tem crescido a cada dia e, com isso, vem a busca por produtos naturais de maneira proporcional. Isso tem fundamentado e incentivado os pesquisadores a encontrar substâncias oriundas de fontes naturais, com potencial antioxidante, que de alguma forma substitua os antioxidantes sintéticos com riscos toxicológicos, os quais foram investigados por Pokorny (2007).

Nos últimos anos no Brasil, ocorreu um aumento significativo de pesquisas sobre produtos naturais com atividade antioxidante e antimicrobiana. Entretanto, apesar da rica biodiversidade, somente estão disponíveis dados sobre 44 espécies de plantas pertencentes a 20 famílias, com atividade positiva, incluindo espécies nativas e exóticas (OLIVEIRA et al., 2007).

O alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) é uma excelente fonte de compostos fenólicos, sendo muito utilizado como tempero na alimentação. Tal substâncias têm apresentado alto potencial antioxidante, podendo ser utilizadas como conservantes naturais para alimentos, prolongando a vida de prateleira de produtos sujeitos à oxidação (ANDREO, 2006).

A carne e seus derivados representam uma parte importante da dieta humana, e é considerado um alimento de alto valor nutricional, pois sua composição em aminoácidos essenciais, lipídeos, vitaminas e minerais são adequados à alimentação. Todavia, os produtos cárneos, devido à sua riqueza na composição química, estão propensos à oxidação lipídica, que pode ocorrer tanto no processamento como no armazenamento.

A adição de antioxidantes é a prática mais comum para aumentar a estabilidade dos lipídios em alimentos. Devido ao menor custo e sua eficiente ação, os compostos antioxidantes mais utilizados na indústria são os antioxidantes de origem sintética. Contudo, pesquisas demonstraram que estes compostos apresentaram toxicidade o que vem associado ao aumento da consciência dos consumidores no que diz respeito à segurança dos aditivos alimentares, criou a necessidade para a identificação de alternativas naturais, que apresentem atividade antioxidante em alimentos.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar as propriedades antioxidantes do extrato etanólico de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) em hambúrgueres durante o seu processamento e armazenamento.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Coletar as partes aéreas de alecrim (*Rosmarinus officinalis*).
- Preparar os extratos etanólicos;
- Determinar o teor de compostos fenólicos totais e flavonoides totais dos extratos;
- Avaliar as propriedades antioxidantes do extrato da planta pelo método de sequestro do radical livre DPPH• (2,2 difenil-1-picrilhidrazina);
- Elaborar os produtos cárneos a base de carne frango;
- Determinar a oxidação lipídica dos produtos cárneos pelo método TBARS (substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico) e peroxidação lipídica;
- Realizar análises microbiológicas e a composição centesimal dos produtos cárneos.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 ALECRIM (*ROSMARINUS OFFICINALIS L.*)

O Alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) da família *Lamiaceae*, é originário da região do mediterrâneo. É uma das especiarias mais estudadas e aplicadas no processamento de alimentos devido as suas propriedades antioxidantes. Uma das características do Alecrim é de seu arbusto atingir dois metros de altura, com folhas e flores aromáticas, produzindo flores azuis e brancas. As partes usadas são as folhas, de cor verde mais intenso, na forma *in natura* ou secas e trituradas (em pó). O óleo extraído dos ramos e das folhas tem sido utilizado na indústria de cosméticos (perfumes, desodorantes e tônicos para cabelo). O alecrim ajuda a regular as funções hepáticas e tem propriedades diuréticas, digestivas, tônicas e antissépticas, é muito utilizada como um ingrediente indispensável no preparo de molhos para saladas, carnes e frangos (CARVALHO, 2002).

Atualmente, o extrato de alecrim tem grande aceitação na indústria de produtos cárneos como ingrediente para controlar a oxidação dos lipídios. Um dos fatores limitantes para a utilização de outros segmentos da indústria alimentícia é a mudança de sabor que produz nos alimentos (BENZAQUEM, 2012).

As propriedades antioxidantes do alecrim podem ser atribuídas à presença de rosmanol, diterpenos, rosmaridifenol e rosmariquinona, e as propriedades antimicrobianas parecem estar relacionadas com a presença de borneol, pinenos, cineol e cânfora (PORTE e GODOY, 2010).

#### 3.2 ANTIOXIDANTES EM ALIMENTOS

Um antioxidante é uma substância natural ou sintética adicionada em produtos para prevenir ou retardar a deterioração dos mesmos pela ação do oxigênio presente no ar (HUANG et al., 2005).

Existem duas categorias básicas de antioxidantes denominadas: sintético como o BHA (butilhidroxianisol) e o BHT (butilhidroxitolueno), largamente empregados pela indústria de alimentos e natural, substâncias bioativas tais como compostos fenólicos e terpenos, que fazem parte da constituição de diversos alimentos (MELO e GUERRA, 2002).

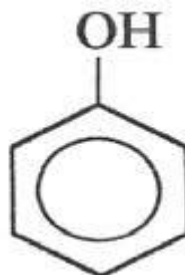
Nos últimos anos, as pesquisas com antioxidantes naturais tiveram grande destaque junto à comunidade científica. As suspeitas de que os antioxidantes sintéticos sejam carcinogênicos tem direcionado os estudos para os compostos naturais que apresentam esta capacidade. É crescente o interesse para que os antioxidantes naturais substituam os artificiais ou atuem em conjunto com os mesmos, reduzindo a quantidade dos antioxidantes sintéticos nos alimentos (SOARES, 2002; ALEZANDRO, 2009).

Antioxidantes naturais extraídos de plantas podem ser usados como alternativas aos antioxidantes sintéticos, devido a seu efeito equivalente ou maior na inibição da oxidação. Assim, antioxidantes naturais presentes em alimentos e outros materiais biológicos tem atraído considerável interesse nas últimas duas décadas devido à sua presumida segurança, potencial nutricional e efeitos terapêuticos. Alimentos ricos em antioxidantes tem sido apresentados como tendo papel essencial na prevenção de doenças cardiovasculares, câncer e doenças neurodegenerativas, onde as mais conhecidas são as doenças de Parkinson e Alzheimer e problemas causados pelo envelhecimento das células (GÓMEZ, 2003; GENENA, 2005).

Os antioxidantes não se tornam radicais livres pela doação de elétrons, pois eles são estáveis em qualquer forma, por isso são definidos como substâncias capazes de quelar ou estabilizar radicais livres, são compostos aromáticos que contêm pelo menos uma hidroxila (MELO e GUERRA, 2002).

Os compostos fenólicos são um grupo de antioxidantes que combatem o envelhecimento celular (radicais livres), onde os grupos abundantes nos alimentos são os flavonoides, os ácidos fenólicos e as lignanas (. SPENCER et al., 2008)

Os compostos fenólicos pertencem a uma classe que inclui uma diversidade de estruturas, simples e complexas, que possuem pelo menos um anel aromático no qual ao menos um hidrogênio é substituído por um agrupamento hidroxila, sendo assim o composto mais simples é o fenol (Figura 1).



**Figura 1. Estrutura química do fenol.**

A efetividade antioxidante de muitos compostos fenólicos é, essencialmente, resultado da facilidade com a qual um átomo de hidrogênio de um grupo hidroxila (OH) da sua estrutura aromática é doado para um radical livre, bem como a habilidade da mesma em suportar um elétron não emparelhado através do deslocamento do mesmo ao redor de todo o sistema de elétron da molécula (PAULA, 2004).

Esta classe de compostos apresenta uma grande diversidade e divide-se em flavonóides (polifenóis) e não-flavonóides (fenóis simples ou ácidos) (SILVA et al., 2010).

Os flavonóides são estruturas polifenólicas de baixo peso molecular encontradas naturalmente nas plantas. São os responsáveis pelo aspecto colorido das folhas e flores e absorvem radiação eletromagnética na faixa do ultravioleta (UV) visível e, dessa maneira, apresentam um papel de defesa das plantas frente à radiação UV da luz solar. Englobam uma classe muito importante de pigmentos naturais e têm a estrutura química do difenil-propano (C6-C3-C6), sendo que as duas partes da molécula com seis carbonos são anéis aromáticos. As duas classes de flavonóides consideradas mais importantes são os flavonóis e as antocianinas (MOON e WANG, 2006).

### 3.3 ANTIOXIDANTES NATURAIS

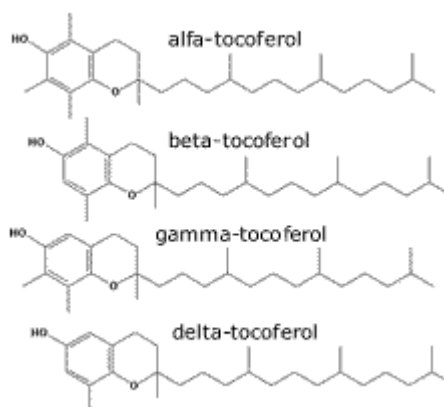
Os antioxidantes mais utilizados na indústria alimentícia que podem ser citados são: os tocoferóis, ácidos fenólicos e extratos de plantas como Alecrim e Sálvia (BENZAQUEM, 2012).

Os antioxidantes naturais podem funcionar como agentes redutores, inibidores de radicais livres, quelantes ou sequestrantes do oxigênio singlete e como desativadores de metais pró-oxidantes (GÓMEZ, 2003). A atividade antioxidante dos fenólicos é devida principalmente a suas propriedades redutoras. Além disso, eles apresentam um potencial como quelantes de metais (ATOUI et al., 2005). Extratos de alecrim e o tocoferol agem como sequestrantes de radicais (HRAS et al., 2000).

O tocoferol, por ser um dos melhores antioxidantes naturais é amplamente aplicado como meio para inibir a oxidação dos óleos e gorduras comestíveis,

prevenindo a oxidação dos ácidos graxos insaturados (JORGE E GONÇALVES, 1998).

A legislação brasileira permite a adição de 300 mg/kg de tocoferóis em óleos e gorduras, como aditivos intencionais, com função de antioxidante (ABIA, 1999). Os tocoferóis estão presentes de forma natural na maioria dos óleos vegetais, em alguns tipos de pescado e atualmente são fabricados por síntese. Existem quatro tipos segundo a localização dos grupos metila no anel:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  (Figura 2). A atividade antioxidante dos tocoferóis é principalmente devida à capacidade de doar seus hidrogênios fenólicos aos radicais livres lipídicos interrompendo a propagação em cadeia.

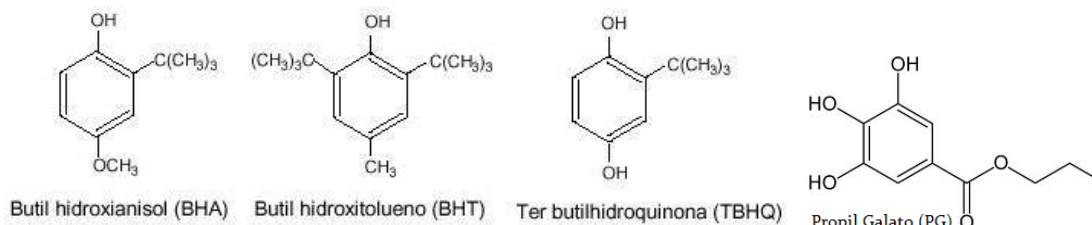


**Figura 2. Estruturas do Tocoferol.**

### 3.4 ANTIOXIDANTES SINTÉTICOS

Os principais antioxidantes sintéticos, mais utilizados na indústria de alimentos são: BHT, BHA, TBHQ (terc-butilhidroquinona) e PG (propil galato) e têm sido frequentemente usados como antioxidantes em alimentos lipídicos. No Brasil, as legislações vigentes permitem a adição, em óleos e gorduras de BHA e TBHQ no limite máximo de  $200 \text{ mg kg}^{-1}$ ; BHT, galatos de propila, dodecila e octila no limite de  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  e, margarina (sobre o teor de gordura), no limite de  $200 \text{ mg kg}^{-1}$  de BHA, BHT, TBHQ e galato de propila (BRASIL, 2005; BRASIL, 1998). Uma desvantagem consiste em que esses antioxidantes são produzidos por processos químicos sintéticos, sendo seu uso frequentemente limitado por regulamentos e não sendo aceitos em algumas aplicações (MATTEA et al., 2004). Apesar da elevada capacidade antioxidante e antimicrobiana desses compostos, a sua utilização tem

sido controversa, pela suspeita de uma possível toxicidade e/ou mutagenicidade desses antioxidantes, fator que tem sido objeto de estudo por muitos anos, e tem trazido um novo interesse aos antioxidantes naturais (BERNARDO-GIL et al., 2002; IBAÑEZ et al., 2000; RIBEIRO et al., 2001).



**Figura 3. Estrutura química dos principais antioxidantes sintéticos**

O BHA é um antioxidante mais efetivo na supressão da oxidação em gorduras animais que em óleos vegetais. É insolúvel em água e extremamente solúvel em gorduras, apresenta pouca estabilidade frente a elevadas temperaturas, mas é particularmente efetivo no controle de oxidação de ácidos graxos de cadeia curta (RAMALHO e JORGE, 2006).

O PG, éster do 3,4,5 ácido triidroxibenzoico, tem ótima atividade como antioxidante para estabilizar alimentos fritos, massas assadas e biscoitos preparados com gorduras (BAILEY, 1996).

O TBHQ é um pó cristalino branco e brilhoso, moderadamente solúvel em óleos e gorduras e não se complexa com íons de cobre e ferro, como o galato considerado o melhor antioxidante para óleos de fritura, pois resiste ao calor e proporciona uma excelente estabilidade para os produtos acabados (RAMALHO e JORGE, 2006).

Embora potentes antioxidantes como BHA e BHT sejam permitidos em produtos cárneos, em quantidades de 0,01 gramas de antioxidante para cada cem gramas de produto (GRÜN et al., 2006), os antioxidantes sintéticos requerem testes extensos e de custo elevado para comprovar a sua segurança para aplicação em alimentos (MARTINEZ-VALVERDE et al., 2002).

Há diversos relatórios recentes sobre o efeito do BHA na conversão de materiais ingeridos em substâncias tóxicas ou cancerígenas devido ao aumento da secreção de enzimas microsossomáticas do fígado e dos órgãos extra hepáticos, tais como os pulmões e a mucosa do trato gastrointestinal. Além disso, tem sido relatado



que o BHT é cancerígeno em ratos. Em adição, o TBHQ não é aprovado para o uso em alimentos na Europa, Japão e Canadá (RIBEIRO et al., 2001).

### 3.5 COMPOSIÇÃO LIPÍDICA DA CARNE

Os lipídios são biomoléculas que, juntamente com os carboidratos e as proteínas, formam o grupo de compostos mais simples em alimentos (BOBBIO e BOBBIO, 1985). Eles desempenham um papel importante na qualidade dos alimentos, particularmente são imprescindíveis para a aceitabilidade da carne, já que sua concentração na mesma e a composição de cada uma das frações lipídicas influem consideravelmente nas propriedades organolépticas (textura, sabor, aroma, cor, etc).

Em geral os componentes da carne são água (65 a 80%), proteína (16 a 22%), gordura (3 a 13%) e cinzas, embora existam pequenas quantidades de outras substâncias, como as nitrogenadas não-proteicas (aminoácidos livres, peptídeos, nucleotídeos, creatina), carboidratos, ácido láctico, minerais e vitaminas. A composição depende da espécie, pode variar amplamente dependendo de diversos fatores, como idade, sexo, alimentação e zona anatômica estudada. (ORDÓÑEZ, 2005).

Os principais ácidos graxos saturados da carne são, de maior e menor concentração, o palmítico (C16:0), o esteárico (C18:0) e o mirístico (C14:0). O ácido oleico (C18:1) é o monoinsaturado mais abundante, seguido de palmitoléico (C16:1). Os ácidos linoleico (C18:2), linolênico (C18:3) e araquidônico (C20:4) são os principais ácidos graxos poliinsaturados (HUANG, 2005). A carne de frango em comparação com a de outros animais, é relativamente abundante em ácidos graxos poliinsaturados (VALSTA; TAPANAINEM; MANNISTO, 2005).

Os lipídios encontrados na carne de frango são constituídos por ésteres de glicerol com ácidos graxos onde predominam os triglicerídeos, podendo apresentar pequenas quantidades de monoglicerídeos, diglicerídeos e ácidos graxos livres. Esses estão acumulados em quantidades microscópicas no interior de células musculares, geralmente localizados nos tecidos conectivos (COBOS et al., 1994).

### 3.6 CARACTERIZAÇÃO DA RANCIDEZ DE ÓLEOS E GORDURAS

A rancidez, ou seja, a deterioração da gordura constitui um importante problema técnico nas indústrias de alimentos, a qual pode ocorrer através da rancidez hidrolítica e rancidez oxidativa (CECCHI, 2003).

A rancidez hidrolítica enzimática refere-se à hidrólise dos óleos e gorduras com produção de ácidos graxos livres (AGL), devido à ação das enzimas lipases, presentes nas sementes oleaginosas ou lipases de origem microbiana. De forma não enzimática, a rancidez hidrolítica se dá em altas temperaturas, produzindo ácidos graxos livres. É acelerada por luz e calor e os ácidos graxos livres formados são responsáveis pelo sabor e odor desagradáveis, especialmente em gorduras como a manteiga, que possui grande quantidade de ácidos graxos de baixo peso molecular. Porém, em gorduras com ácidos graxos não-voláteis, o sabor e odor característicos não surgem juntamente com a deterioração. Nesse caso, é muito importante a medida quantitativa dos ácidos graxos livres para se determinar o grau de deterioração (CECCHI, 2003). Outro efeito importante decorrente do aumento do teor de ácidos graxos livres é o abaixamento do ponto de fumaça do lipídio, com reflexos sobre a inflamabilidade do mesmo (BOBBIO e BOBBIO, 2001).

A rancidez oxidativa, é a autooxidação dos acilglicerois com ácidos graxos insaturados por hidrogênio atmosférico, sendo um tipo de deterioração importante nas carnes e produtos cárneos, porque todos os tipos de gorduras possuem triacilglicerois insaturados. A deterioração oxidativa tem como consequência a deterioração das vitaminas lipossolúveis e dos ácidos graxos essenciais, além da formação dos subprodutos com sabor-odor forte e desagradável.

Evidências experimentais demonstram que os hidroperóxidos são os produtos primários predominantes, mas não exclusivos, de auto-oxidação de gorduras insaturadas.

Vários testes têm sido desenvolvidos para indicar a rancidez oxidativa em gorduras. Os estágios de rancidez podem ser detectados por estes testes antes que se perceba a deterioração organoleptica (CECCHI, 2003).

### 3.7 FATORES QUE INFLUENCIAM A OXIDAÇÃO EM CARNES

A oxidação provoca inúmeras alterações indesejáveis nos alimentos, as quais podem afetar as características sensoriais dos produtos ao reduzir o seu valor nutricional. Estas razões evidenciam que os antioxidantes apresentam um

importante papel no processamento e estocagem dos alimentos (KLIMCZAK; PACHOLEK, 2002).

Ainda que a inibição completa da rancificação oxidativa não tenha sido até agora conseguida, é possível retardar essa transformação por períodos longos, de modo a permitir o consumo dos lipídios ou dos alimentos que os contêm, mesmo após seu armazenamento por muitos meses (BOBBIO, 2001).

Essa diminuição da velocidade da reação é obtida pela ação dos antioxidantes, representados por meios físicos e químicos. Os primeiros são as embalagens que contenham pouco ar, que não permitam passagem da luz e o uso de temperaturas adequadas no armazenamento.

A oxidação lipídica da carne pode ser afetada por alguns fatores extrínsecos como temperatura, luz e nível de oxigênio afetam a oxidação, além da composição de ácidos graxos e processamento.

A oxidação lipídica ocorre quando o oxigênio reage com lipídios em uma série de reações em cadeia dos radicais livres que é freqüentemente iniciada pela exposição dos lipídios à luz, calor, radiação ionizante, íons metálicos ou catálise metalo-protéica e que conduzem à complexas alterações químicas. A oxidação de lipídios em alimentos causa perdas na qualidade e, em seres humanos, podem causar diversas doenças como câncer, aterosclerose, e processo de envelhecimento (ATOUI et al., 2005; FUKUMOTO et al., 2000; GÓMEZ, 2003; IBAÑEZ et al., 2000).

A temperatura, quando aumentada provoca aumento da taxa de auto-oxidação, afetando a cadeia de formação de hidroperóxidos e sua decomposição. A cada 15°C de aumento da temperatura, a velocidade de reação dobra, isso porque o aumento inicial da temperatura acelera dois fatores, as reações de propagação em cadeia e a decomposição dos peróxidos, resultando em aumento na concentração de radicais livres disponíveis e na disseminação das cadeias de reação (REGITANO-D'ARCE, 2006). Manter o produto em baixas temperaturas no armazenamento é importante, pois, não irão impedir a oxidação lipídica, entretanto permitirão que esta ocorra em uma menor velocidade, assim, não só evitando a deterioração microbiológica, mas também para retardar a oxidação oxidativa.

A luz acelera o desenvolvimento do ranço em gorduras. A luz ultravioleta e a luz visível de onda curta são as mais prejudiciais. Estas favorecem a fotólise dos peróxidos em radicais livres e a decomposição de outros compostos. Radiações ionizantes também aceleram as reações e os ácidos graxos poli-insaturados auto-

oxidativos, formam sistemas conjugados insaturados que absorvem sua energia, acelerando a quebra dos seus peróxidos (REGITANO-D'ARCE, 2006).

A presença de oxigênio é importante para que ocorra o processo de oxidação lipídica. O emprego de embalagens a vácuo, sachês absorvedores de oxigênio, nitrogênio e materiais com baixa permeabilidade ao oxigênio são algumas alternativas que contribuem para aumentar a vida útil dos alimentos.

Quanto a composição de ácidos graxos, a rancificação oxidativa não ocorre normalmente em ácidos graxos saturados, sendo que a formação de um radical livre é energeticamente desfavorável, somente por situações drásticas de temperatura, por ruptura hemolítica da ligação C-H de uma cadeia carbônica saturada, poderia ocorrer a formação de radical livre, o que exigiria aproximadamente 100 kcal/mol de energia. A presença de duplas ligações na cadeia carbônica dos ácidos graxos insaturados reduz a energia necessária para a ruptura hemolítica das ligações C-H para 60 kcal/mol, viabilizando sua oxidação (BOBBIO e BOBBIO, 2001). Portanto, quanto maior a proporção de ácidos graxos insaturados, maior se torna a probabilidade do alimento a oxidação.

Com o processamento, muitos produtos cárneos sofrem algumas modificações físicas. Nos produtos cárneos emulsificados, moídos e reestruturados, os graus se diferem pelo efeito de destruição da estrutura do músculo e exposição dos lipídios a um ambiente pró-oxidante (MONAHAN, 2000). Com tudo, essas alterações nos comprimentos celulares resultam na liberação de ferro. Esses e outros agentes pró-oxidantes passam a interagir com os compostos de baixo peso molecular como aminoácidos, nucleotídeos e fosfatos, com os quais formam quelatos responsáveis pela catalise da oxidação lipídica *in vitro* (MORRISSEY et al., 1996).

### 3.8 PRINCIPAIS CONSEQUÊNCIAS DO PROCESSO OXIDATIVO EM CARNES

A oxidação lipídica é o principal processo pelo qual ocorre perda da qualidade das carnes e seus derivados e um fator determinante na vida útil do produto, na medida em que gera produtos indesejáveis do ponto de vista sensorial. Este processo está relacionado com a produção de substâncias potencialmente tóxicas como malonaldeídos e óxidos de colesterol, e apresenta como consequências, a modificação do *flavor* original, o aparecimento de odores e gostos

característicos do ranço e a perda do valor nutricional decorrente da destruição de vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos, além de tornar o alimento impróprio para o consumo (OLIVEIRA, 2011).

A união de aroma e sabor foi aportuguesada para saborama e tem sido usada como sinônimo de *flavour* ou *flavor*, que é a combinação de sabor, aroma, textura e outras propriedades físicas como temperatura alta (calor) e temperatura baixa (frescor).

O mecanismo primário de degradação do sabor desejável das carnes é favorecido pela auto-oxidação dos lipídios, mas sua decomposição leva a uma mistura complexa de compostos voláteis, com odores e *flavours* característicos. Destes alguns dos principais responsáveis pela perda de *flavour* desejável em carnes estão, álcoois, hidrocarbonetos, cetonas aldeídos, ácidos, ésteres.

Os problemas de *flavour* ligados a oxidação lipídica estão ligados a carne cozida, principalmente quando ela é reaquecida. O termo warmed-over flavour (WOF) foi introduzido por Tims e Watts (1958), para descrever, o rápido ataque de rancificação em carne cozida quando no armazenamento sob refrigeração. Os sabores oxidados são detectados, depois de 48 horas em contato com o ranço, que se desenvolve lentamente, e fica evidente somente depois de prolongado armazenamento sobre congelamento.

Segundo Stangelo et al. (1987) é importante considerar que o desenvolvimento de *off-flavour* acontece no reaquecimento de carnes pré-cozidas. O perfil e aroma de WOF característico e o perfil de aroma relacionado a oxidação lipídica da carne crua são diferentes, são diferentes, mais os compostos que interferem no sabor são os mesmos, porém suas concentrações são diferentes.

A cor da carne é o mais importante atributo de qualidade que influencia na aceitabilidade de produtos cárneos pelo consumidor (MANSINI; HUNTI, 2005). A oxidação lipídica provoca a modificação de cor de carnes, pela transformação de pigmento oximioglobina, de coloração vermelha brilhante, em metamioglobina, tornando a carne marrom-acizentada (KANNER, 1994). A oxidação do pigmento pode catalisar a oxidação lipídica, assim como, os radicais livres produzidos durante esse processo podem oxidar o átomo de ferro ou desnaturar a molécula de mioglobina, alterando a cor do produto cárneo (JAKOBSEN; BERTELSEN, 2000).

As reações de oxidação de gorduras no organismo tem sido associadas a diversos estados patológicos e doenças (KEHERER, 1993). Por outro lado, a

ingestão de produtos que contêm produtos da oxidação lipídica também representa risco toxicológico crônico ao ser humano (KUBOW, 1992).

### 3.9 MÉTODOS PARA AVALIAR A PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA EM CARNES

Vários métodos são utilizados para avaliar a oxidação lipídica, entretanto os mais utilizados são o índice de peróxido e análise de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).

O índice de peróxido é um dos métodos mais utilizados para medir o estado de oxidação de óleos e gorduras. Como os peróxidos são os primeiros compostos formados quando uma gordura deteriora, toda gordura oxidada fornece resultado positivo nos testes de peróxidos. O índice de peróxido de gordura é facilmente determinado dissolvendo-se um peso de gordura em uma solução de ácido acético-clorofórmio, adicionando-se iodeto de potássio e titulando o iodo liberado com solução padrão de tiosulfato de sódio, usando amido como indicador. O resultado é expresso como equivalente de peróxido por 100g (CECCHI, 2003).

O método TBARS é utilizado para estudos de peroxidação lipídica. A avaliação de peroxidação lipídica é realizada pela detecção de seus derivados lipoperóxidos, por meio de substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico, como o malonaldeído, produzindo uma base de Schiff de coloração rosa (OHKAWA, 1979; BIRD e DRAPER, 1984). É um método simples e sensível para a mensuração da peroxidação lipídica, embora não seja muito específico (MEAGHER e FITZGERALD, 2000).

Portanto o método de TBARS é utilizado para avaliar a proteção a lipoperoxidação, sendo o principal método utilizado para quantificar os produtos finais da peroxidação lipídica provocada por um pró-oxidante, peróxido de terc-butila, que causa dano oxidativo em tecidos e células.

A oxidação de gorduras produz compostos que reagem com ácido 2-tiobarbitúrico dando produtos de coloração vermelha. Essencialmente, o método compreende a dissolução da amostra de gordura em volume orgânico como benzeno, clorofórmio ou tetracloreto de carbono e extração do material reativo com uma solução de ácido acético, ácido tiobarbitúrico, água. O extrato aquoso, com aquecimento, desenvolverá uma coloração vermelha se a gordura estiver oxidada. O

método torna-se quantitativo quando a intensidade de cor é medida no espectrofotômetro, através da medida da absorbância.

O teste TBA só pode ser corretamente aplicado nos primeiros estágios da oxidação, porque nos estágios mais avançados vai haver muita modificação nos compostos produzidos. A cor produzida irá variar com o tipo de ácidos graxos existentes na amostra. O pigmento produzido na reação colorimétrica é resultante da condensação de duas moléculas de TBA e uma de dialdeído malônico. O método foi utilizado inicialmente para leite e produtos lácteos, porém ele tem sido considerado um bom método para gorduras vegetais e animais (CECCHI, 2003). Particularmente para carnes e derivados, a informação do número de TBARS é bastante relevante.

Processos envolvidos na elaboração de produtos cárneos que incluam moagem, homogeneização (mistura) e cozimento favorecem a formação do malonaldeído, sendo fundamental o emprego do teste na avaliação da qualidade do produto final.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 COLETA DAS AMOSTRAS E PREPARO DOS EXTRATOS ETANÓLICOS

As ervas aromáticas foram coletadas na região do sudoeste do Paraná. Após a coleta, foram secas em estufa a 40°C, moídas em moinho Marconi modelo MA - 630 e guardadas em geladeira (7°C) para posteriores análises. Para o preparo do extrato, foram pesados 2 g de erva desidratada e moída. A erva foi extraída com 15 mL de etanol a 80% v/v em banho-maria a 70°C, por 30 min (CARPES, 2008). Após a filtragem em papel de filtro Whatman nº 5, os EEEA (Extrato Etanólico da Erva Aromática) foram utilizados para as análises de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante.

A quantidade do extrato de alecrim, adicionada na massa cárnea para a elaboração da partida dos produtos foi baseada em experimentos realizados para testar a atividade antioxidante do extrato de alecrim em hambúrgueres segundo Trindade (2007). Onde o extrato etanólico de alecrim foi evaporado e liofilizado para então ser acrescentado o produto cárneo.

### 4.2 COMPOSTOS FENOLICOS TOTAIS

A determinação de compostos fenólicos foi realizada de acordo com o método espectrofotométrico de Folin-Ciocateau, descrito por Singleton et al. (1999). Uma alíquota de 0,5 mL do respectivo extrato foi transferida para tubos de ensaio e adicionados 2,5 mL do reagente de Folin-Ciocateau (1:10). Após 5 minutos de repouso da mistura, foram adicionados 2,0 mL de uma solução de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 4% (v/v). As soluções foram incubadas em local escuro, à temperatura ambiente e após 2 horas, foi feita a leitura da absorbância a 740nm. O padrão utilizado foi o ácido gálico e os resultados foram expressos em mg g<sup>-1</sup> (equivalentes de ácido gálico). Essas análises foram realizadas em triplicata.

### 4.3 FLAVONOIDES TOTAIS

A concentração de flavonoides totais foi determinada conforme método descrito por Park et al. (1995), com algumas modificações. Alíquota de 0,5 mL do respectivo extrato foi transferida para um tubo de ensaio e adicionado 4,3 mL de



etanol a 80% (v/v), 0,1 mL de nitrato de alumínio a 10% (m/v) e 0,1 mL de acetato de potássio 10% (m/v). Após 40 minutos de repouso, as leituras foram feitas em espectrofotômetro, a 415nm. Tubos em branco foram conduzidos nas mesmas condições, sem adição de nitrato de alumínio. A curva analítica foi construída contendo 10, 25, 40, 55, 70, 85 e 100 ppm de quercetina e os resultados expressos em mg quercetina mL<sup>-1</sup> de extrato de Alecrim (DOWD, 1959). Essas análises foram realizadas em triplicata.

#### 4.4 ATIVIDADE DE SEQUESTRO DO RADICAL DPPH•

A medida da atividade sequestrante do radical DPPH• foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Brand-Williams et al. (1995). O radical DPPH• (1,1-difenil-2-picrihidrazil) é um radical livre estável que aceita um elétron ou um radical hidrogênio para tornar-se uma molécula estável e desta forma, é reduzido na presença de um antioxidante. Para avaliação da atividade antioxidante os extratos hidroalcoólicos foram reagidos com o radical estável DPPH• em uma solução de etanol. Na forma de radical, o DPPH• possui uma absorção característica a 517 nm, a qual desaparece após a redução pelo hidrogênio arrancado de um composto antioxidante. Os EEEA foram diluídos a concentrações finais de 0,32 mg/mL até 0,89 mg/mL.

A mistura de reação foi constituída da adição de 0,5 mL das amostras, 3 mL de etanol absoluto e 0,3 mL da solução do radical DPPH• 0,5 mM em etanol. Para cada amostra e substância de referência foi realizado em paralelo, um teste branco com adição de etanol em substituição a solução de DPPH• 0,5 mM. Também foi realizado um controle contendo 3,5 mL de etanol e 0,3 mL de DPPH• 0,5 mM. As substâncias de referência – os antioxidantes sintéticos comerciais BHT, BHA e  $\alpha$ -tocoferol - foram avaliados nas concentrações finais de 10  $\mu\text{g mL}^{-1}$  até 125  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

Fez-se uma curva cinética da atividade antioxidante de cada amostra e das substâncias de referência, para determinar o tempo necessário para chegar à estabilização das absorbâncias. A redução do radical DPPH• foi medida por meio de um monitoramento contínuo do declínio da absorbância a 517 nm, a cada 20 minutos até valores estáveis de absorção.

A porcentagem de atividade antioxidante (%AA) foi determinada após 80 min de reação (fase estável) em relação ao controle conforme, através do EC<sub>50</sub>, ou seja, a concentração mínima necessária para o antioxidante reduzir em 50% o DPPH• inicial da reação.

Os valores de EC<sub>50</sub> foram calculados por regressão linear de gráficos onde o eixo das abscissas (X) representa as concentrações em mg mL<sup>-1</sup>, µL mL<sup>-1</sup> e µg mL<sup>-1</sup> no caso dos EEEA e substâncias de referência, respectivamente e o eixo das ordenadas (Y) a %AA conforme a Equação 1. Essas análises foram realizadas em triplicata.

$$\%AA = 100 - \{[(Abs_{amostra} - Abs_{branco}) \times 100] / Abs_{controle}\} \text{ (Eq.1)}$$

#### 4.5 ELABORAÇÃO DE HAMBÚRGUER DE CARNE DE FRANGO

As matérias - primas utilizadas na obtenção da massa-base das formulações consistiram em 92% de carne de frango (10% carne de peito, 55% carne de coxa e sobrecoxa, 15% de gordura e pele, 12% de água gelada), 1% de proteína texturizada de soja hidratada na proporção de 1:3 e 1% de proteína isolada de soja. Os demais ingredientes foram: Sal 1,5%, cura rápida 0,5%, BHT 0,25%, Pimenta branca moída 0,30%, glutamato monossódico 0,20%, alho em pó 1,10%, aroma de cebola 1,3%, fécula de mandioca 2%.

Os produtos foram elaborados conforme metodologia proposta por Terra (1998) e observando-se as determinações de identidade e qualidade descritas na legislação brasileira 21, sendo a carne moída em disco de 8 mm e misturados com adição de proteína texturizada de soja, e demais ingredientes. Após mistura, a massa foi dividida em 3 porções para adição do antioxidante comercial e extrato de alecrim, originando os seguintes tratamentos:

Tratamento 1 (T1): Controle negativo – sem adição de antioxidante e extrato;

Tratamento 2 (T2): Controle positivo – adição de 0,010% de antioxidante comercial (BTH ou Eritorbato de sódio);

Tratamento 3 (T3): Extrato de alecrim – adição de 0,5%, em relação a massa de carne, de extrato (EEEA);

A legislação brasileira regulamenta o uso do eritorbato de sódio na quantidade suficiente para que exerça o efeito desejável (*quantum satis*) enquanto que os antioxidantes naturais não possuem limite estabelecido para produtos cárneos (BRASIL, 1998). A quantidade dos extratos de alecrim, adicionada na massa cárnea será baseada em experimentos realizados para testar a atividade antioxidante de extratos de alecrim e orégano segundo Trindade (2007) e própolis conforme Vieira (2012) que obtiveram melhores resultados com a concentração de 1% (m/v) na massa cárnea.

Após a completa homogeneização das massas, os hambúrgueres foram moldados, sendo obtidos produtos com peso médio de 5 g, posteriormente embalados em filme de polietileno, identificados e levados ao congelamento em temperatura de -5 °C, por 21 dias, com coleta de amostras a cada 7 dias para avaliações, índice de peróxido e TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico).

#### 4.6 ÍNDICE DE PERÓXIDO

A quantidade de peróxido não constitui um índice inflamável das características de conservação, porém indica até que ponto a oxidação progrediu. Geralmente, quando a coloração da reação de Kreiss é intensa, pode-se inferir que o valor do índice de peróxido será elevado. Foi necessário pesar 5 g da amostra em frasco Erlenmeyer de 125 mL. Adicionar 30 mL de solução ácido acético-clorofórmio (3:2). Agitar o frasco até a dissolução da amostra. Adicionar 0,5 mL de solução saturada de iodeto de potássio. Deixar em repouso por aproximadamente 1 minuto. Adicionar 30 mL de água. Titular com solução de tiosulfato de sódio 0,01 N, com agitação. Prosseguir a titulação até que a coloração amarela tenha quase desaparecido. Adicionar 0,5 mL de solução de amido a 1% e prosseguir a titulação até o ponto final, quando todo o iodo se libera da camada de clorofórmio. Adicionar, gota a gota a solução do tiosulfato de sódio 0,01 N, até que a coloração azul tenha desaparecido. Preparar a prova em branco nas mesmas condições. O índice de peróxido foi expresso em miliequivalentes, por 1000g da amostra, usando a equação 2:

$$[(A-B) \times N \times 100] / P \text{ (Eq. 2)}$$

Em que A representa o número de mL de solução de tiosulfato de sódio 0,01 N gasto na titulação da amostra, B o número de mL de solução de tiosulfato de sódio 0,01 N gasto na titulação do branco, N a normalidade real da solução da solução de tiosulfato de sódio, P o peso da amostra, em gramas (CECCHI, 2003).

#### 4.7 DETERMINAÇÃO DA OXIDAÇÃO LIPÍDICA PELO TBARS

A oxidação lipídica dos produtos foi determinada nos tempos 0, 7, 14 e 21, dias pelo método de TBARS modificado de acordo com o descrito por Raharjo, Sofos e Schimidt (1992). Para amostras de hambúrgueres a determinação do valor de TBARS será realizada nos tempos 0, 7 e 14 dias segundo Shirahigue (2008).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 COMPOSTOS FENOLICOS E FLAVONOIDES TOTAIS DOS EEEA

Atualmente o interesse no estudo dos compostos fenólicos tem aumentado muito, devido principalmente à habilidade antioxidante destas substâncias em sequestrar radicais livres, os quais são prejudiciais a saúde humana (BOBBIO e BOBBIO, 2003).

A quantidade de compostos fenólicos por grama de planta seca foi de 40,15 mg GAE (equivalente em ácido gálico)/g de Alecrim. Esses resultados foram possíveis pela equação de reta da curva padrão de ácido gálico ( $R^2 = 0,9974$ ) (Figura 4).

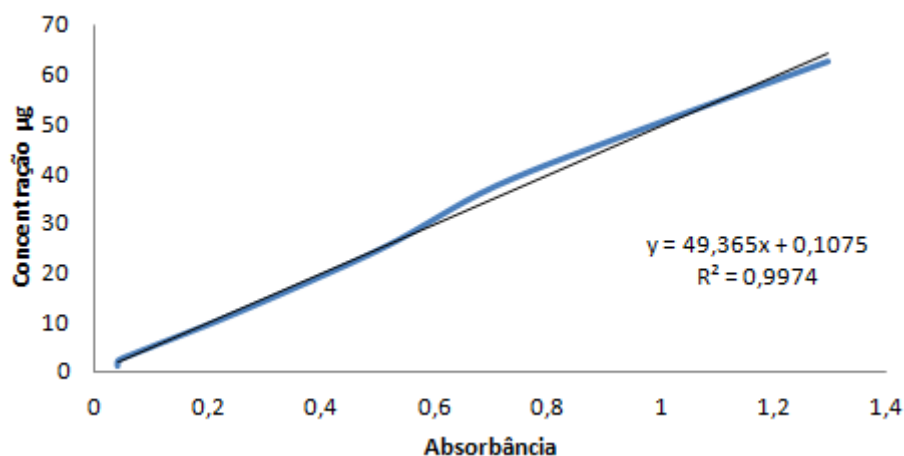
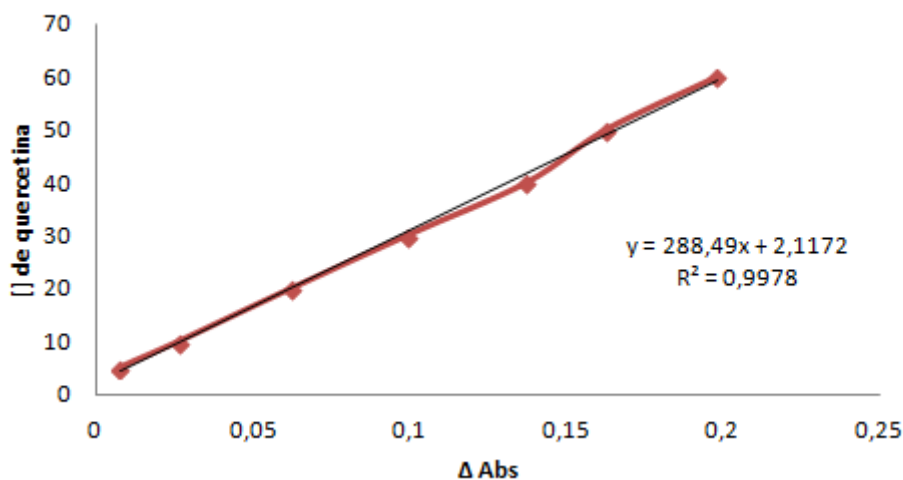


Figura 4. Curva padrão de ácido gálico.

Já em análise dos flavonoides, foi possível verificar a presença de 22,43 mg Quercetina/g no extrato de Alecrim, calculadas com base na curva padrão de Quercetina ( $R^2 = 0,9978$ ) (Figura 5).



**Figura 5. Curva padrão de quercetina.**

Os resultados encontrados neste estudo diferem dos encontrados por Zheng e Wang (2001), que estudaram plantas aromáticas da China. Os autores encontraram 2,19 mg de GAE/g em extratos de Alecrim. Já Mata e colaboradores (2007), obtiveram valores de compostos fenólicos em extratos aquosos e etanólicos de alecrim (58,4 e 73,5 mg de GAE/g), respectivamente, resultados superiores aos relatados neste trabalho.

Essas diferenças se devem provavelmente às diferenças geográficas, climáticas, de solo e época de colheita.

O teor de compostos fenólicos e flavonoides dos extratos de Alecrim foram altos, podendo ser considerados uma fonte de compostos fenólicos com possível atividade antioxidante, já que muitos autores relacionam o teor de compostos fenólicos com atividade antioxidante (CARPES, 2008).

## 5.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EEEA

O radical DPPH• tem sido muito usado para se avaliar a capacidade sequestrante de radicais livres em produtos naturais. A atividade antioxidante do radical livre estável DPPH• se baseia na transferência de elétrons de um composto antioxidante para essa espécie radicalar, que ao se reduzir perde sua coloração púrpura (LEJA et al., 2007).

A evolução da reação cinética depende da natureza do antioxidante a ser testado. Podem ocorrer três tipos de comportamentos cinéticos entre as amostras:

cinética rápida, quando reagem rapidamente com o DPPH•, atingindo o final da reação em menos de um minuto; cinética intermediária, quando o final da reação é atingido em até trinta minutos, e cinética lenta quando a reação demora mais de uma hora para terminar (BRAND-WILLIAMS et al., 1995).

Sendo assim, é necessária a determinação da cinética dos EEEA, pois há substâncias antioxidantes que reagem de forma diferenciada. Além disso, os EEEA possuem uma grande variedade de compostos com potencial antioxidante e, desta forma, é imprescindível se avaliar o comportamento da amostra, frente ao radical DPPH•.

As Figuras 6 e 7 estão representando a cinética de reação do DPPH• com o EEEA e os antioxidantes sintéticos (BHA e BHT) e o antioxidante natural  $\alpha$ -tocoferol, usados como padrão. Na Figura (a) é possível verificar que o tempo de estabilização da reação com o  $\alpha$ -tocoferol foi de 40 min enquanto que os antioxidantes sintéticos BHT e BHA precisaram de 80 min para estabilizar a reação de sequestro do radical livre. Estes resultados coincidem com os estudos feitos por BRAND-WILLIAMS et al. (1995) os quais, constataram que o BHT e BHA apresentam uma cinética lenta de reação com o DPPH•, enquanto que a cinética de reação do  $\alpha$ -tocoferol com o DPPH• apresentam uma cinética intermediária.

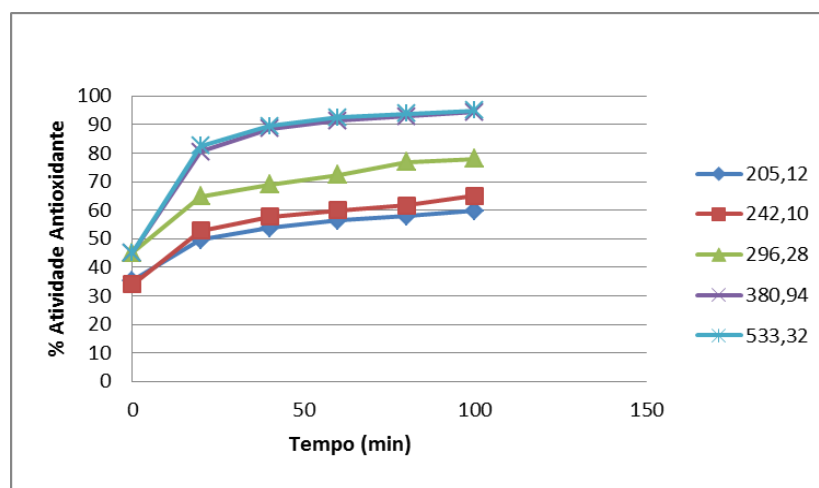
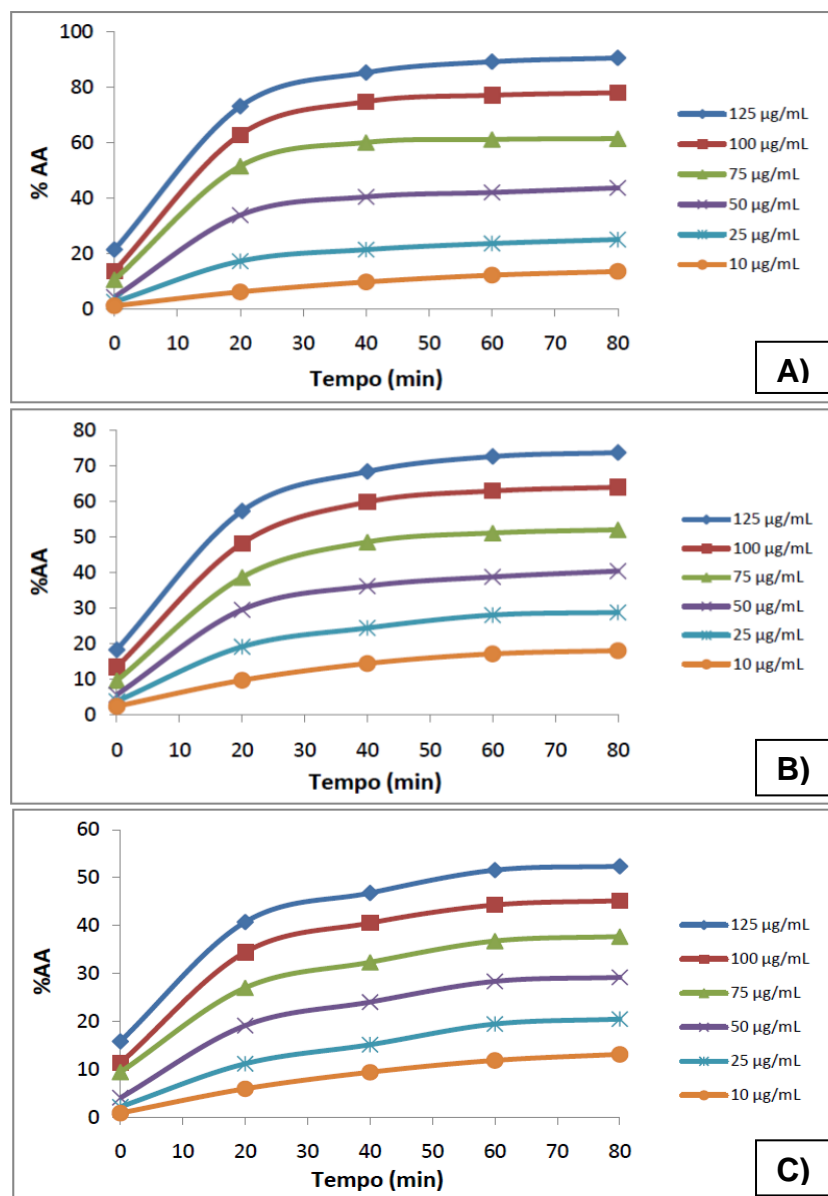


Figura 6. Cinética de reação extrato de Alecrim.



**Figura 7. Cinética de redução do DPPH (porcentagem de atividade antioxidante) das substâncias de referência, (a)  $\alpha$ -tocoferol, (b) BHA e (c) BHT.**

Após a avaliação da cinética de reação, a atividade antioxidante foi expressa em termos de  $EC_{50}$ , ou seja, a concentração mínima necessária para o antioxidante reduzir em 50% o DPPH inicial da reação no tempo em que o extrato atingiu a estabilidade, no caso 80 min. Quanto menor o seu valor do  $EC_{50}$ , maior é a capacidade antioxidante do extrato de Alecrim (CARVALHO e ALMANÇA, 2003).

As figuras 8 e 9 apresentam o cálculo de meia vida ( $EC_{50}$ ), do EEEA e substâncias de referência como BHA, BHT e  $\alpha$ -Tocoferol. Os valores de  $EC_{50}$  foram determinados pela equação da reta, onde o princípio de reação é de primeira ordem,



o gráfico expressa a atividade antioxidante pela concentração, utilizando a fórmula de Mensor et al. (2001) (Eq. 3)

$$\%AA = 100 - \{ [(Abs_{amostra} - Abs_{branco}) \times 100] / Abs_{controle} \} \text{ (Eq.3)}$$

Os valores do EC<sub>50</sub> do EEEA e substâncias de referência podem ser conferidos nas Figuras 8 e 9 e Tabela 1.

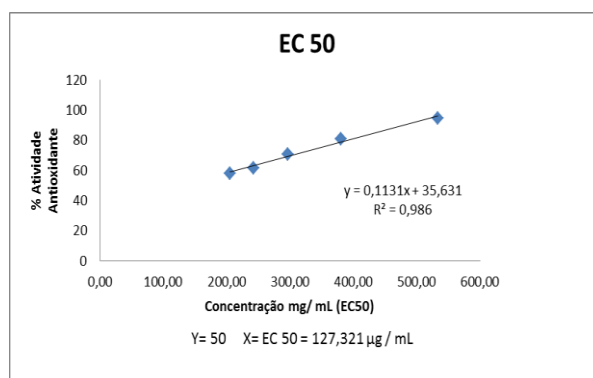


Figura 8. Gráfico para cálculo do EC<sub>50</sub>.

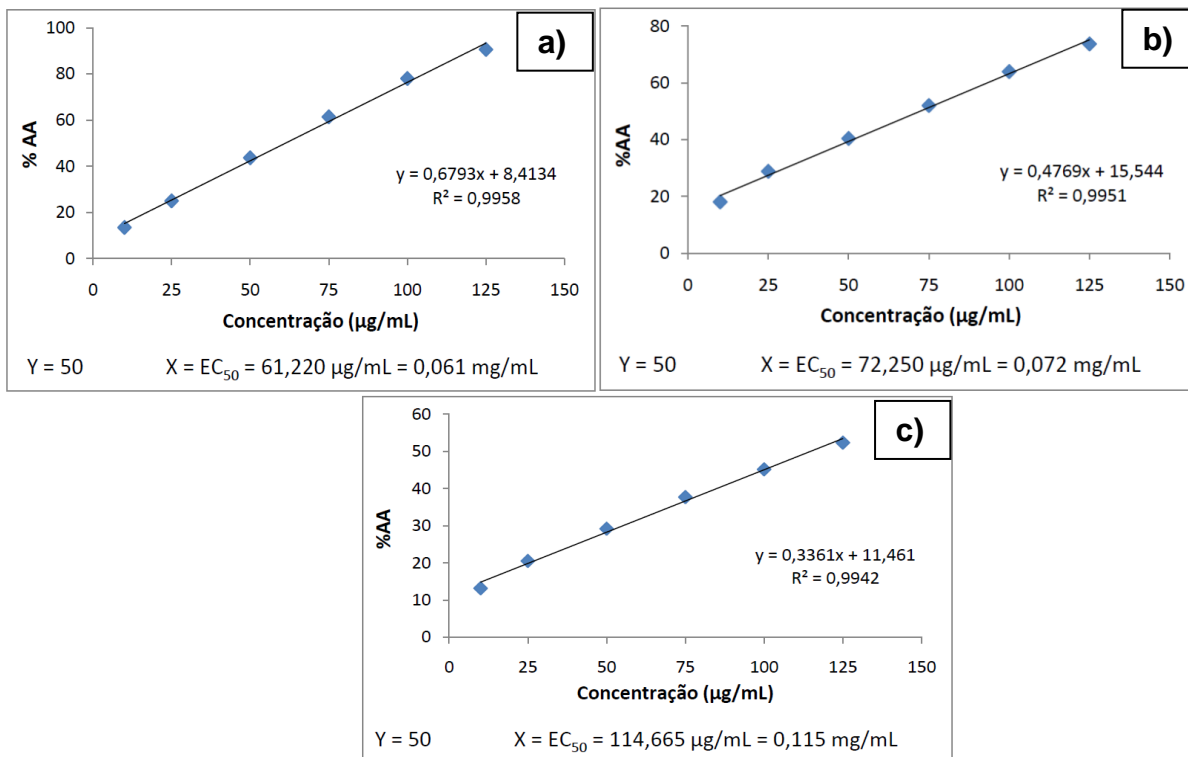


Figura 9. Cálculo do EC<sub>50</sub> para as substâncias de referência, (a) α-tocoferol, (b) BHA e (c) BHT.

Os valores de EC<sub>50</sub> encontrados para as substâncias de referência (BHA, BHT,  $\alpha$ -tocoferol) (Tabela 1) foram menores do que para os EEEA de Alecrim, apresentando uma maior capacidade antioxidante. O BHT apresentou a menor capacidade antioxidante entre os padrões analisados. Por outro lado, o padrão  $\alpha$ -tocoferol apresentou a maior capacidade antioxidante (menor valor de EC<sub>50</sub>) entre os padrões e entre os extratos etanólicos da erva aromática.

A atividade de sequestro de radical livre também foi expressa em termos de porcentagem de atividade antioxidante. Nesta análise, após 80 min de reação, o extrato etanólico de alecrim foi avaliado na concentração de 0,533mg mL<sup>-1</sup> com uma porcentagem de atividade antioxidante de 94,5%. Oselys e colaboradores (2008) investigaram as propriedades antioxidantes pelo método de DPPH• de extratos ativos de alecrim e gengibre, os métodos de análise foram os mesmos, e obteve-se 78,65%  $\pm$  2,18, para o Alecrim do Paraná, os valores encontrados pelo autor foi inferior ao encontrado neste estudo, podendo considerar a região em qual o alecrim foi coletado, época do ano, entre outras. Martos et al. (2010) estudaram a atividade antioxidante do óleo essencial por hidrodestilação de seis especiarias amplamente cultivadas no Egito, entre elas o *Rosmarinus officinalis*, neste estudo foi encontrado valor de EC<sub>50</sub> para o BHT 530  $\mu$ g mL<sup>-1</sup>. Desta forma o valor encontrado para o BHT foi consideravelmente maior, ao encontrado neste projeto (114,66  $\mu$ g mL<sup>-1</sup>  $\pm$ 0,07).

Os resultados de atividade antioxidante pelo método de DPPH, do extrato etanólico do Alecrim, assim como dos antioxidantes comerciais estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Atividade antioxidante do extrato de Alecrim e antioxidantes comerciais.

Amostras	DPPH° ( $\mu$ g/mL)*
EE- Alecrim	127,32 $\pm$ 0.14
BHT**	114.66 $\pm$ 0.07
BHA**	72.25 $\pm$ 0.07
$\alpha$ -tocopherol**	61.22 $\pm$ 0.06

\* EC<sub>50</sub>: concentração mínima necessária para reduzir a concentração inicial do DPPH em 50%; \*\*100 mg/mL.

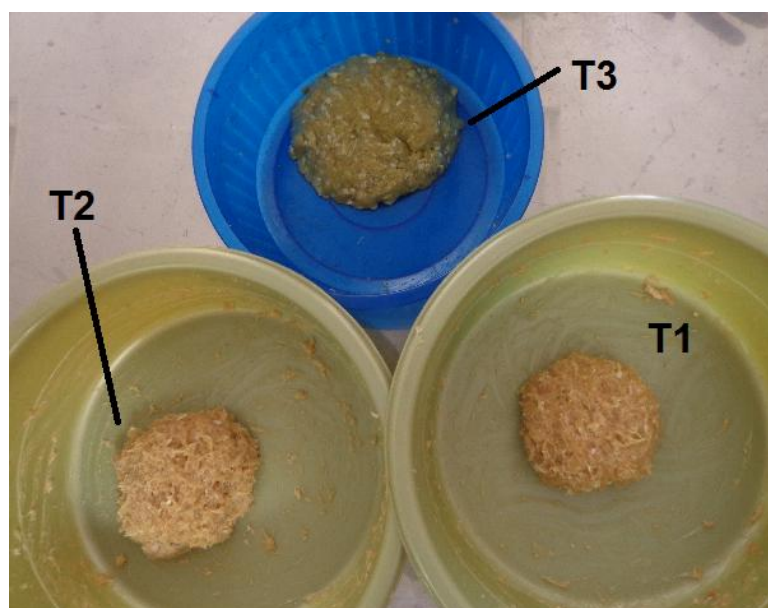
Erkan et al. (2008) avaliou a atividade antioxidante de três compostos puros, utilizando como método extração Soxhlet como solvente metanol, para o extrato de Alecrim, encontrou EC<sub>50</sub> 54,0  $\mu$ g mL<sup>-1</sup>, considerado um resultado menor quando comparado com os métodos e resultados neste estudo.

Os valores para BHT, BHA e  $\alpha$ -tocopherol, neste estudo são valores considerados altos e com alta capacidade de sequestro de radicais livres.

### 5.3 ELABORAÇÃO DE HAMBÚRGUER DE CARNE DE FRANGO

Na fabricação dos hambúrgueres a matéria prima utilizada foi carne de frango (coxa, sobre-coxa, peito, recorte), adquirida já moída e homogeneizada, em um supermercado na cidade de Pato Branco-PR.

Uma amostra de controle foi preparada nas mesmas condições, sem adição de antioxidante, como controle positivo foi adicionado o BHT, 0,81 g e como antioxidante natural foi adicionado extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) (1,6g), totalizando 3 tratamentos (figura 10 e 11). As amostras foram embaladas em porções de 5 g em sacos de polietileno, congeladas e estocadas a  $-5^{\circ}\text{C}$ . As análises de índice de Peróxido e TBARS (Figura 12) foram realizadas no dia do processamento e aos 7, 14 e 21 dias de armazenamento.



**Figura 10. T1) Controle Negativo; T2) Controle Positivo; T3) Extrato de Alecrim.**



Figura 11. Elaboração dos hambúrgueres.

#### 5.4 ÍNDICE DE PERÓXIDO

Segundo a legislação brasileira, o limite máximo permitido de índice de peróxido em uma amostra é de 10 mg de peróxido  $O_2$ /kg.

No presente estudo realizado em hambúrgueres de carne de frango o valor para índice de peróxido, não teve variação, sendo todas consideradas 0, as amostras tiveram seus valores constantes, ou seja sem variação, constatando que não houve produção do peróxido, e sim de compostos intermediários, avaliados pelo índice de TBARS, avaliadas nos dias 0,7,14,21.

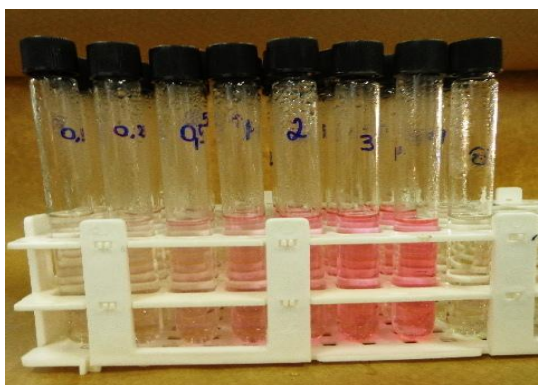
Mathias et al. (2010) avaliou a aplicação de alta pressão a presunto de peru nos processos oxidativos, em particular na oxidação de lipídios e os efeitos na cor do produto, quando tratados a pressões de 200 a 400 mpa, por 5, 10 e 15 minutos em temperatura ambiente. Dos resultados obtidos, pode-se observar que não foram verificadas diferenças significativas entre amostras controle e pressurizada para índice de peróxido. Na mesma pesquisa, pode-se verificar que os valores de índice de peróxido foram abaixo deste limite máximo permitido, mas no 15º e 30º dia, no caso da amostra pressurizada, e no 15º da amostra controle, esses valores foram superiores, indicando que houve produção do composto. Dessa forma, houve uma diferença entre as amostras no 30º dia, indicando que a amostra pressurizada ainda estava produzindo peróxidos, enquanto que na amostra controle o teor detectado foi muito reduzido.

## 5.5 DETERMINAÇÃO DA OXIDAÇÃO LIPÍDICA PELO TBARS

Os peróxidos são produtos primários da oxidação e, na sua decomposição, geram-se compostos de natureza diversa, os quais são designados como produtos secundários (SILVA et al., 1999). Um dos parâmetros utilizados para avaliar a extensão da oxidação nessa fase é o número de TBARS.

Durante o aquecimento da amostra (Item 6.7), é possível observar a formação da cor rosa no tubo de ensaio (Figura 12), indicando que há a presença do aldeído malônico. Quanto mais intensa for a coloração rósea, maior será a concentração do aldeído malônico presente na amostra.

A figura 12 mostra a formação da coloração rosa devido à ocorrência de rancidez oxidativa.



**Figura 12. Tubos retirados do banho-maria para posterior leitura dos valores de TBARS.**

O pico de oxidação foi encontrado aos 7 dias de armazenamento congelado, com queda aos 14 dias (Tabela 2). Este comportamento também foi encontrado por Angelini (2010), com pico em 30 dias de armazenamento congelado para uma espécie de tilápia, com quedas sucessivas até 120 dias. De acordo com Angelini (2010), a queda se deveu provavelmente a síntese de produtos da oxidação que passaram a não ser detectados por esta metodologia. No estudo feito por Cabral (2012) em diferentes espécies de tilápias, foi encontrado resultado semelhante ao ocorrido neste trabalho com pico de oxidação em 120 dias de armazenamento congelado, tendo queda aos 180 dias.

Esse decréscimo também foi relatado por Rao et al. (1996) que observou reduções nos valores de TBARS em carne de búfalo crua, entre 30 e 60 dias de

armazenamento sob congelamento, e esta redução foi atribuída as interações com as proteínas deste alimento. De acordo com Shamberger (1980) e Nanan et al. (2008) esta redução pode ser explicada pela provável interação do malonaldeído com a proteína presente no sistema, ou seja, o malonaldeído pode combinar-se com outros componentes químicos dos alimentos, tais como as proteínas, formando compostos muito estáveis, que pode conduzir a uma subestimação do valor final de TBARS.

A Tabela 2 apresenta os resultados de índice de TBARS no hambúrguer de carne de frango, em diferentes tratamentos.

Tabela 2. Valores de índice de TBARS expresso em expresso em mg de malonaldeído/Kg de amostra, nos hambúrgueres de carne de frango em diferentes tratamentos.

amostras	TBARS dias de armazenamento			
	0	7	14	21
T1	2,01 ±0,03	2,93 ±0,17	1,85 ±0,23	1,77 ±0,16
T2	2,09 ±0,06	2,06 ±0,07	1,83 ±0,03	1,52 ±0,04
T3	2,14 ±0,06	2,22 ±0,02	1,86 ±0,02	1,53 ±0,16

T1: sem antioxidante ; T2: antioxidante comercial; T3: extrato de alecrim

Na Tabela 2, verifica-se que, a partir do tempo 7 dias, o Tratamento 1 (Sem antioxidante) apresentou resultados de TBARS maiores, quando comparado aos tratamentos com adição de antioxidante, o que evidencia a maior oxidação lipídica naquele tratamento.

Através da tabela 2, observa-se que o tratamento controle não apresentou uma média significativa maior do valor de TBARS em relação aos outros tratamentos com antioxidantes em todos os tempos de armazenamento, o que difere do estudo feito por Selani (2010). Observa-se também que nos tratamentos com antioxidantes (sintéticos ou naturais) não ocorreram variações significativas nos valores de TBARS o que indica eficiência contra a oxidação lipídica da carne de frango durante 21 dias sob armazenamento, o que condiz com o estudo de Selani (2010).

Milani et al. (2010) estudou, extratos hidroetanólicos de *Diospyros kaki*, L. (caqui) das cultivares (cv.) Quioto e Rama Forte em carne de frango submetida à moagem, foram feitas algumas análises entre elas determinaram-se o TBARS. Os valores de TBARS da amostra controle aumentaram com o aumento do tempo de estocagem, atingindo 5,91 mg malonaldeído/kg na amostra do 14<sup>o</sup> dia, enquanto que os tratamentos T1 (carne de frango adicionada de 0,5% de extrato hidroetanólico de

caqui cv. Quioto) e T3 (carne de frango adicionada de 0,5% de extrato hidroetanólico de caqui cv. Rama ) apresentaram aumento significativo de malonaldeído do tempo 0 a 14 dias de armazenamento, diferindo do resultado encontrado neste estudo, o qual o índice de malonaldeído diminuiu.

Bertolin et al. (2011), avaliou a prevenção da oxidação lipídica em charque por meio do uso de substâncias antioxidantes naturais e do antioxidante sintético butil hidroxitolueno (BHT), para isto realizou teste de TBARS, o qual indicou que o BHT apresenta maior inibição dentre os naturais testados, o mesmo ocorreu neste estudo.

A legislação vigente no Brasil não apresenta limite máximo para malonaldeído/kg em produtos cárneos e produtos derivados de pescado, entretanto, o produto cárneo pode ser considerado em bom estado, se apresentar valores abaixo de 3mg de malonaldeído/Kg de amostra (AL-KAHTANI; ABU-TARBOUSH; BAJABER, 1996). Assim sendo, após os 21 dias de armazenamento congelado, os hambúrgueres de carne de frango, apresentam resultado satisfatório.

## 6 CONCLUSÃO

Com base neste estudo, os extratos hidroalcoólicos de alecrim presente no sudoeste do Paraná apresentam elevados teores de compostos fenólicos e flavonoides totais com elevada atividade antioxidante, o qual pode ser considerado um excelente suplemento alimentar.

Com os resultados obtidos na avaliação da inibição da oxidação lipídica dos hambúrgueres, foi possível verificar que o extrato de alecrim inibiu a oxidação lipídica em 21 dias com uma baixa produção de malonaldeído e com valores muito próximo ao antioxidante sintético (BHT), o que torna possível a substituição deste antioxidante pelo extrato de alecrim.

Durante este estudo, foi possível obter conhecimento tanto teórico como prático do estudo físico químico do Alecrim (*Rosmarinus officinalis*. L), observou-se que a utilização de antioxidantes naturais pode se tornar uma alternativa no retardamento da oxidação lipídica em hambúrgueres e produtos similares.



## REFERÊNCIAS

- ABIA – Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação; **Compêndio da Legislação de Alimentos: Consolidação das Normas e Padrões de Alimentos**, 7ª ver, São Paulo, v. 1, 1999.
- AFONSO, M. S. Atividade antioxidante e antimicrobiana do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) em filés de tilápia (*Oreochromis ssp*) salgados secos durante o armazenamento congelado. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 10, n. 2, p. 12-17, 2008. Disponível em: <[http://www.ibb.unesp.br/servicos/publicacoes/rbpm/pdf\\_v10\\_n2\\_2008/artigo3.pdf](http://www.ibb.unesp.br/servicos/publicacoes/rbpm/pdf_v10_n2_2008/artigo3.pdf)>. Acesso em: 10 abr. 2012.
- AHN, M. R.; KUMAZAWA, S.; HAMASAKA, T.; BANG, K. S.; NAKAYAMA, T. Antioxidant Activity and constituents of propolis collected in various areas of Korea. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 7286-7292, 2004.
- AL-KAHTANI, H. A.; ABU-TARBOUSH, H. M.; BAJABER, A. S. Chemical changes after irradiation and post-irradiation storage in Tilapia and Spanish mackerel. **Journal of Food Science**, v. 61, n. 4, p. 729-733, 1996.
- ALEZANDRO, M. R. **Determinação de isoflavonas e capacidade antioxidante de alimentos industrializados à base de soja e/ou produtos derivados consumidos no Brasil**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos – Área de Bromatologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, p. 113, 2009.
- ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 24, n. 2, p. 319-336, 2006.
- ANGELINI, M. F. C. **Desenvolvimento do produto de conveniencia Quelene Quenelle de tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. Dissertação (Mestrado em ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, p. 160, 2010.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemist International. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. Gaithersburg (MD), ed. 17, p. 1170, 2000.
- ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos – Teoria e Prática**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1995.
- ARUOMA, O. I. Free radicals and food. *Chemistry in Britain*, London, v.29, n.3, p. 210-214, 1993.
- ATOUI, A. K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chemistry**, v. 89, n. 1, p. 27-36, 2005.
- BAILEY, A. E. Bailey's Industrial Oil and Fat Products. Edible oil and fat products: oils and oilseeds. New York, v.2, p 403, 1996.
- BENZAQUEM, T. **Food Ingredients Brasil**. Disponível em: <<http://www.revista-fi.com/materias/83.pdf>>. Acesso em: 17 de maio de 2012.
- BERNARDO-GIL, M. G.; RIBEIRO, M. A.; ESQUÍVEL, M. M. Produção de extractos para a indústria alimentar: uso de fluidos supercríticos. **Boletim de Biotecnologia**, v. 73, p. 14-21, 2002.
- BERTOLIN, E. T. et al. **Ficocianina, tocoferol e ácido ascórbico na prevenção da oxidação lipídica em charque**, Campinas, v. 14, n. 4, p. 301-307, 2011.
- BIRD, R. P; DRAPER, A. H. **Comparative studies on different methods of malondyaldehyde determination**. *Methods in Enzymology*, v. 90, p. 105-110, 1984.

BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P.A. **Química do processamento de alimentos**. São Paulo: Varela, 3ª ed, 2001.

BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P.A. **Introdução a química dos alimentos**. Fundação cargirll, p 306, 1985.

BOBBIO, P.A., BOBBIO, F.O. **Introdução à Química de Alimentos**. São Paulo: Varela, p. 72-78, 2003.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft Technologie**, London, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Portaria nº 1004 de 11 de dezembro de 1998. Atribuição de Funções de Aditivos, Aditivos e seus limites máximos de uso para a Categoria 8 – Carnes e Produtos Cárneos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 14 de dezembro de 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa e Agropecuária. Instrução Normativa N° 20, de 31 de julho de 2000. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Almôndega, de Apresuntado, de Fiambre, de Hambúrguer, de Kibe, de Presunto Cozido e de Presunto. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 03 de agosto de 2000.

Brasil. Ministério da Saúde, Conselho Nacional de Saúde; Resolução nº 04, de 24 de novembro de 1988; Aprovar a revisão das Tabelas I, III, IV e V referente a Aditivos Intencionais, bem como os Anexos I, II, III, IV e VII, todas do Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965, **Diário Oficial**, Brasília, Seção I, p. 24716-24723, 19 de dezembro de 1988.

Brasil. Resolução RDC nº 23, de 15 de fevereiro de 2005 Aprova "**Regulamento Técnico que aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos óleos e gorduras - subcategoria creme vegetal e margarinas**", <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/legis/especifica/aditivos.htm>, acessada em janeiro 2013.

CABRAL, R. S. I. **Extratos de algas marinhas como agentes antioxidantes e antimicrobianos e seus efeitos na qualidade de Minced de tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. Tese de doutorado, Centro de Energia Nuclear na agricultura da Universidade de São Paulo 2012.

CARPES, S. T. **Estudo das características físico-químicas e biológicas do pólen apícola de *Apis mellifera* L. da região Sul do Brasil**. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos), UFPR, Curitiba, 2008.

CARVALHO, A.F. **Ervas e temperos: Cultivo, processamento e receitas**. Viçosa: Aprenda fácil, p. 296, 2002.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2 ed. rev. Campinas: UNICAMP, 2003.

COBOS, A.; CAMBERO, M.I.; ORDÓÑEZ, J.A. Revisión: Influence de la dieta animal en los ácidos grasos de los lípidos de la carne. **Revista Española de Ciência y Tecnología de Alimentos**, v. 34, n. 1, p. 35-51, 1994.

DOWD, L. E. Spectrophotometric determination of quercetin. **Analist Chemical**, v.31, n.7, p.1184-1187, 1959.

DZIEZAK, J. D. Antioxidants – The ultimate answer to oxidation. **Food Technology**, Chicago, v. 40, n. 9, p. 94-102, 1986.

DUTCOSKI, S. D. **Análise Sensorial de Alimentos**. 2 ed. rev. e ampl. Curitiba, PR: Champagnat, p. 239, 2007.

ERKAN, N; AYRANCI, G; AYRANCI, E. Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. **Food Chemistry**, v.110, p. 76–82, 2008.

FARIA, L. R. D. **Validação farmacológica do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim): atividade antiinflamatória e analgésica.** Unifenas, 2005. Disponível em: <[http://tede.unifenas.br/tde\\_busca/arquivo.php?codArquivo=9](http://tede.unifenas.br/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=9)>. Acesso em: 24 abr. 2012.

FRANKEL, E.N. **Lipid oxidation.** *Progress in Lipid Research*, Oxford, v.19, n.1-2, p.1-22, 1980.

GENENA, A. K. **Extração e caracterização do extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.): estudo de sua ação antioxidante.** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Curso de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

GÓMEZ, M. E. D. B. **Modulação da composição de ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 de ovos e tecidos de galinhas poedeiras, através da dieta. I. Estabilidade oxidativa.** (Tese para obtenção de grau de DOUTOR) - Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos - Área de Bromatologia, Universidade de São Paulo, p. 149, 2003.

GRÜN, I. U.; AHN, J.; CLARKE, A. D.; LORENZE, C. L. **Reducing oxidation of meat.** *Food Technology*. p. 36-43. 2006. Disponível em: <http://www.ift.org>. Acesso em: 08 de outubro de 2012.

GUTTERIDGE, J. M. C. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. **Clinical Chemistry**, v. 41, n. 12, p.1819 -1828, 1995.

HRAS, A. R.; HADOLIN, M.; KNEZ, Z.; BAUMAN, D. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with  $\alpha$ -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. **Food Chemistry**, v. 71, n. 2, p. 229-233, 2000.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *J. Agric. Food chem.*, v. 53, p. 1841-1856, 2005.

IBAÑEZ, E.; CIFUENTES, A.; CREGO, A. L.; SEÑORÁNS, F. J.; CAVERO, S.; REGLERO, G. Combined use of supercritical fluid extraction, micellar electrokinetic chromatography, and reverse phase high performance liquid chromatography for the analysis of antioxidants from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). **J. Agric. Food Chem.**, v. 48, n. 9, p. 4060-4065, 2000.

JAKOBSEN, M.; BERTELSEN, G. Colour stability and lipid oxidation of fresh beef. Development of a response surface model for predicting the effects of temperature, storage time, and modified atmosphere composition. **Meat Science**, UP, OXFORD, v. 54, n. 1, p. 49-54, 2000.

JORGE, N.; GONÇALVES, L. A. G.; **Boletim SBCTA**, v. 32, p. 40, 1998.

KANNER, J. Oxidative processes in meat and meat products – Quality implications. **Meat Science**, Oxford, UK, v. 36, n 1-2, p. 169-189, 1994.

KEHERER, J. P.; Free radicals as mediators of tissue injury and disease. **Critical Reviews in toxicology**, Boca Raton, v. 23, n. 1, p 21-48. 1993.

KLIMCZAK, M. M.; PACHOLEK, B. Antioxidant activity of ethanolic extracts of amaranth seeds. **Nahrung**, V. 46, p. 184-186, 2002.

KUBOW, S. Routes of formation and toxic consequences of lipid oxidation products in foods. **Free Radical Biology and Medicine**, Oxford, UK, v. 12, n. 1, p. 63-81, 1992.

LABUZA, T. P.; HEIDELBA, N. D.; SILVER, M.; KAREL, M. Oxidation at intermediate moisture contents. **Journal of the American Oil chemists society**, Champaign, v. 48, n. 2, p. 86-89, 1971.

LEJA, M.; MARECZEK, A.; WYZGOLIK, G.; KLEPACZ-BANIAK, J.; CZEKONSKA, K. Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species. **Food Chemistry**, v.100, n. 1, p. 237-240, 2007.

LOPES, R. M.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J.; PINTO, A. S. Flavonóides: farmacologia de flavonóides no controle hiperlipidêmico em animais experimentais. **Biocologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, p. 18-22, 2003.

MARTINEZ-VALVERDE I, PERIAGO MJ, PROVAN G. **Phenolic compounds, lycopene and antioxidant activity in commercial varieties of tomato (*Lycopersicon esculentum*)**. J Sci Food Agric, p 323-330, 2002.

MADSEN, H. I.; BERTELSEN, G.; SKIBSTED, L. H.; **Antioxidative activity of spices and spice extracts**. In: Risch SJ, HO SCT, editors. Spices, flavour chemistry and antioxidant properties. Washington: American Chemical Society. p.176-187, 1997.

MANSINI, R. A.; HUNTI, M. C. Current research in meat color. **Meat Science**, Oxford, UK, v. 71, n. 1, p. 100-121, 2005.

MARIUTTI, L.R.B ; BRAGAGNOLO, N. **A oxidação lipídica em carne de frango e o impacto da adição de sálvia (*Salvia officinalis*, L.) e de alho (*Allium sativum*, L.) como antioxidantes naturais**. Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.). São Paulo, v.68 n.1 2009.

MATA, A. T.; PROENÇA, C.; FERREIRA, A. R.; SERRALHEIRO, M. L. M.; NOGUEIRA, J. M. F.; ARAÚJO, M. E. M. **Food Chem.**, v,103, p. 778, 2007.

MATHIAS, P. S; ROSENTHAL, A; GASPAR, A; DELIZA, R; SLOGO, P. A; Juarez VICENTE; MASSON, M. L; BARBOSA, C. **Alterações oxidativas (cor e lipídios) em presunto de peru tratado por Alta Pressão Hidrostática (APH)**. Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas, v. 30, n. 4, 2010.

MATTEA, F.; CARDARELLI, D. A.; DAGHERO, J. D.; MATTEA, M. A. Natural antioxidants obtained with supercritical CO<sub>2</sub>. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE FLUIDOS SUPERCRÍTICOS. **Caderno de Resumos do VEBFS**. Florianópolis: EQA/CTC - UFSC, p. 70, 2004.

MARTOS, V. M. et al., **Chemical Composition and Antioxidant and Anti- Listeria Activities of Essential Oils Obtained from Some Egyptian Plants**. J. Agric. Food Chem. v. 58, p. 9063-9070, 2010.

MEAGHER, E. A; FITZGERALD, G. A. indices of lipid peroxidation in vivo: Strengths and limitations. **Free radical Biology and Medicine**, v. 26, p. 202-226, 2000.

MELO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim SBCTA**, Campinas, v. 36, n. 1, p. 1-11, jan./jun. 2002.

MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; SANTOS, T. C. COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. **Screening of brazilian plant extracts for antioxidante activity by the use of DPPH free radical method**. Phytotherapy Research, v.15, p. 127-130, 2001.

MILANI, L. I. G; Nelcindo Nascimento TERRA, N. N; FRIES, L. L. M; REZERO, A. P. S. Oxidação lipídica, características sensoriais e cor da carne de frango adicionada. **Braz. J. Food Technol.** Campinas, 2010.

MINIM, V. P. R. **Análise Sensorial**: Estudos com Consumidores. Viçosa: Ed. UFV, p 225, 2006.

MONAHAN, F. J. Oxidation of lipids in muscle foods: fundamental and applied concerns. In: Decker E, Faustman C, Lopez-Bote CJ, editores. **Antioxidants in muscle foods – Nutritional strategies to improve quality**. Canada: Ed. A John Wiley & Sons Inc, p. 3-24, 2000.

MORRISSEY, P. A.; SHEERY, P. J.; GALVAN, K.; KERRY, J. P.; BUCKLEY, D. J. Lipid Stability in meat and meat products. **Meat Science**, Oxford, UK, v. 49, n. 1, p. 73-86, 1996.

MOON, Y. J.; WANG, X. **Dietary flavonoids: effects on xenobiotic and carcinogen metabolism**, n. 187, p. 20, 2006.

NAWAR, W.W. Lipids. In: FENNEMA, O.R. (Ed.). **Food Chemistry**. 2.ed. New York : Marcel Dekker, p.139-244, 1985.

NINAN, G.; BINDU, J.; JOSEPH, J. Frozen storage studies of mince based products develops from tilápia (*Oreochromis niloticus*, Peter 1852). **Fishery Technology**, Cochín, v. 45, n. 1, p. 35-42, 2008.

OHKAWA, H. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, v. 95, p. 351-358, 1979.

OLIVEIRA, C. A. **Avaliação da atividade antioxidante do extrato de erva-cidreira-de arbusto (*Lippia alba* (Mill) NE Brown) em embutido cozido a base de carne ovina de descarte**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, p. 119, 2011.

OLIVEIRA, F.P.; LIMA, E.O.; SIQUEIRA, J. J. P.; SOUZA, E. L.; SANTOS, B. H. C.; BARRETO, H. M. Effectiveness of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) essential oil in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical material. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, vol.16, p. 510-516, 2006.

OLDONI, T. L. C. **Isolamento e identificação de compostos com atividade antioxidante de uma nova variedade de própolis brasileira produzida por abelhas da espécie *Apis mellifera***. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimento) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, p. 105, 2007.

ORDÓÑEZ, A. J. **Tecnologia de alimentos**. Porto Alegre: Artmed, v. 2, 2005.

OSELYS, R. J.; MORAES, M. A.; BARRETO, G. P; MERCADANTE, Z. A.; **Avaliação do potencial antioxidante de extratos ativos de plantas obtidos por extração com fluido supercrítico**. *Química Nova*. São Paulo, v.31, p. 7, 2008.

ÖZKAN, G.; KULEAËAN, H.; ÇELIK, S.; GÖKTÜRK, R. S.; ÜNAL, O. **Food Control**, v. 18, p. 509, 2007.

PARK, Y. K.; KOO, M. H.; SATO, H. H.; CONTADO, J. L. Estudo de alguns componentes da própolis coletada por *Apis mellifera* no Brasil. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 38, n.4, p. 1235 -1259, 1995.

PAULA, T. P.; PERES, W. A. F. Os carotenóides no tratamento e prevenção do câncer. **Rev. Bras Nutr Clin**, n. 144, p.19, 2004.

POKORNY, J. Are natural antioxidants better and safer than synthetic antioxidants? **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 109, n. 6, p. 629-642, 2007.

PELLEGRINI, N. SERAFINI, M.; COLOMBI, B.; DEL RIO, D.; SALVATORE, M. B.; BRIGUENTI, F. **Total antioxidante capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three diferente in vitro assays**. *Journal of Nutrition*, v.133, p. 2812-2819, 2003.

PORTE, A.; GODOY, R. L. O. **Alecrim (*Rosmarinus Officinalis* L.): propriedades antimicrobiana e química do óleo essencial**. Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos. Curitiba, v. 19, n. 2, p. 193-210, 2010.

RAHARJO, S.; SOFOS, J.N.; SCHMIDT, G.R. Improved Speed, Specificity, and Limit of Determination of an Aqueous Acid Extraction Thiobarbituric Acid-C18 Method for Measuring Lipid Peroxidation in Beef. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.40, p. 2182-2185, 1992.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**. São Paulo, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RAO, M. V.; PALIYATH, G.; ORMROD, D.P. **Ultraviolet-B- and ozoneinduced biochemical changes in antioxidant enzymes of Avabidopsis thaliana**. Plant Physiol, 1996.

REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Deterioração de lipídeos. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. Barueri: Manole. Cap. 6, p. 243-299, 2006.

RIBEIRO, M. A.; BERNARDO-GIL, M. G.; ESQUÍVEL, M. M. *Melissa officinalis*, L.: study of antioxidant activity in supercritical residues. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 21, n. 1, p. 51-60, 2001.

SELANI, M. M. Extrato de Bagaço de uva como antioxidante natural em carne de frango processada e armazenada sob congelamento. **Dissertação USP**. Piracicaba, 2010.

SHAHIDI, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D. **Phenolic antioxidants**. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, Boca Raton, v. 32, n. 1, p. 67-103, 1992.

SHAMBERGER, R.J. in Autoxidation in Food and Biological Systems (Simic, M.G. and Karel. M., eds.). **Plenum Press**. New York, 1980.

SHIRAHIGUE, L.D. **Caracterização química de semente e casca de uva e seus antioxidantes sobre carne de frango processada e armazenada sob refrigeração**. Dissertação de Mestrado, Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz/ Universidade de São Paulo, Piracicaba SP, p. 94, 2008.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteau reagent. **Methods of Enzymology**, n. 299, v. 152-178, 1999.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 94-103, 2010.

SILVA, M. L. C.; SANTANA, A. S.; COSTA, R. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, 1999.

SOARES, S. E. **Ácidos fenólicos como antioxidantes**. Revista Nutrição [online]. v.15. p. 71-78, 2002.

SPENCER, J. P.; ABD, E. L.; MOHSEN, M. M.; MINIHANE, A. M.; MATHERS, J.C.; BR. **J. Nutr**, v.12, p. 99. 2008.

STANGELO, A. J.; VERSOLLOTTI, J. R.; LEGENDRE, M. G. VINNET, C. H.; KUAN. J.W.; JAMES. C.; DUPUY. H. P. chemical and instrumental analyses of warmed-over flavor in beef. **Journal of food science**. Chicago, v. 52, p. 1163-1168, 1987.

TERRA, N. N. **Apontamentos de tecnologia de carnes**. São Leopoldo: Unisinós, p. 216, 1998.

TIMS, M. J.; WATTS, B. M. Protection of cooked meats with phosphates. **Food Technology**. Chicago, v. 12, n. 5, p. 240-243, 1958.

TRINDADE, R. A. **Influência de antioxidantes naturais sobre o perfil lipídico de hambúrgueres bovinos submetidos a irradiação por <sup>60</sup>Co e aceleradores de elétrons**. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. São Paulo, 2007.

TRINDADEA, R. A.; MANCINI-FILHOB, J.; VILLAVICENCIOA, A.L.C.H. Natural antioxidants protecting irradiated beef burgers from lipid oxidation. **Food Science and Technology**, v. 43, p. 98-

104, 2010. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643809001844>>. Acesso em: 23 de maio de 2012.

VALSTA, L. M; TAPANAINEM, H.; MANNISTO, S. **Meat fats in nutrition**. Meat, Science, oxford, v. 70, n. 3, p. 325-530, 2005.

VIEIRA, V. B. **Obtenção do extrato de própolis assistida por micro-ondas, aplicação em linguiça toscana e avaliação da sua capacidade antioxidante**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, p. 79, 2012.

Zheng, W. Wang, S.Y. Antioxidant **Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs**. Agric. Food Chem, v. 49, p. 5165-5170, 2001.