

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROCESSOS QUÍMICOS E
BIOTECNOLÓGICOS**

ANA HELOISA DA SILVEIRA VENZEL BOTTOLI

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS NATURAIS
NO CONTROLE DA OXIDAÇÃO DE LINGUIÇAS FRESCAIS**

DISSERTAÇÃO

**TOLEDO
2022**

ANA HELOISA DA SILVEIRA VENZEL BOTTOLI

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS NATURAIS
NO CONTROLE DA OXIDAÇÃO DE LINGUIÇAS FRESCAIS**

**Evaluation of natural extracts' antioxidant capacity of controlling fresh
sausage oxidation**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Processos Químicos e Biotecnológicos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Toledo, como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Processos Químicos e Biotecnológicos.

Área de concentração: Processos Químicos e Biotecnológicos.

Orientador(a): Prof (a) Dra. Solange Maria Cottica

**TOLEDO
2022**



Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



**Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Toledo**



ANA HELOISA DA SILVEIRA VENZEL BOTTOLI

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS NATURAIS NO CONTROLE DA
OXIDAÇÃO DE LINGUIÇAS FRESCAIS**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestra Em Processos Químicos E Biotecnológicos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Processos Químicos E Biotecnológicos.

Data de aprovação: 19 de Dezembro de 2022

Dra. Solange Maria Cottica, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr. Clayton Antunes Martin, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dra. Rodicler Cerezoli Bortoluzzi, Doutorado - Brf S.A.

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 19/12/2022.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, que sempre investiram na minha educação, me ensinando que o conhecimento abre horizontes e nos torna pessoas mais capacitadas, respeitadas e realizadas. Pelo incentivo incondicional e incansável ao longo de toda a minha formação.

Ao meu esposo, pela paciência, estímulo e companheirismo durante todo o período do mestrado; por estar sempre ao meu lado, me motivando e ajudando a ser uma profissional melhor a cada dia.

A Prof. Dra. Solange M. Cottica, pela orientação, apoio e conhecimento compartilhado, me direcionando nesta jornada e confiando a mim a realização deste trabalho.

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) e ao Programa de Pós-Graduação em Processos Químicos e Biotecnológicos (PPGQB) pela oportunidade.

Ao Laboratório Multiusuário da Central Analítica da UTFPR Campus Toledo, aos técnicos e colegas do Programa de Pós-Graduação pelos conhecimentos compartilhados e auxílio com a execução das análises.

A Central Analítica Multiusuário – UTFPR Campus Medianeira pela realização das análises termogravimétricas, em especial ao Prof. Dr. Paulo R. S. Bittencourt.

Aos meus gestores, em especial à Rodicler Bortoluzzi, pelo apoio ao desenvolvimento acadêmico dos funcionários.

E a todos aqueles que contribuíram para realização deste trabalho.

RESUMO

A oxidação lipídica é um processo crítico para a qualidade dos produtos cárneos, sendo um fator determinante para aceitação do consumidor e atendimento da vida de prateleira desses produtos. O uso de antioxidantes naturais é uma alternativa para retardar a deterioração oxidativa dos alimentos e atender a demanda por produtos mais naturais, sem o uso de aditivos sintéticos. O objetivo desse estudo foi determinar a atividade antioxidante dos extratos naturais e avaliar sua eficiência na estabilidade oxidativa da linguiça frescal. O teor de compostos fenólicos totais para o extrato de alecrim, mistura de tocoferóis, extrato de semente de uva e BHA encontrados foram 4,1; 30,48; 27,40 e 72,68 mg EAG/g amostra, respectivamente. A mistura de tocoferóis e o extrato de semente de uva demonstram atividade antioxidante similar ao BHA também pelos métodos de DPPH (472,89; 275,71 e 1271,0 $\mu\text{mol ET/g}$ amostra) e FRAP (1065,25; 665,87 e 1446,11 $\mu\text{mol EFeSO}_4/\text{g}$ amostra) e, por isso, foram aplicados em uma formulação base de linguiça frescal. A eficácia desses antioxidantes naturais no produto cárneo foi avaliada por meio do teor de acidez, índice de peróxidos, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, rancidez qualitativa, termogravimetria e perfil de ácidos graxos, durante 15 dias de armazenamento à temperatura de 4,0 °C, sob incidência de luz. Os resultados demonstram um efeito pró-oxidante do extrato de semente de uva (acidez 6,74% e TBARS 2,74 mg MDA/kg amostra) comparado ao controle (acidez 4,85%) e BHA (0,053 mg MDA/kg amostra). O resultado do índice de peróxidos para a amostra contendo a mistura de tocoferóis (3,07 mE O_2/kg) foi significativamente menor do que a controle (11,40 mE O_2/kg) e o valores de TBARS para as amostras tratadas com o padrão BHA (0,473 mg MDA/kg) e a mistura de tocoferóis (0,441 mg MDA/kg) no tempo 11 dias foram similares, comprovando o potencial desse antioxidante natural para substituir o sintético. Os principais ácidos graxos encontrados nas linguiças frescas foram o C16:0 (ácido palmítico), C18:0 (ácido esteárico), C18:1 (ácido oleico) e o C18:2 (ácido linoleico). As análises de termogravimetria demonstraram que a degradação dos ácidos graxos presentes na amostra contendo extrato de semente de uva iniciou em uma temperatura menor do que nas demais amostras (190,0 °C). Em contrapartida, a amostra contendo tocoferol foi capaz de retardar esse processo, tendo atingido a maior de taxa de perda de massa somente aos 338,0 °C. As análises confirmaram a maior perda de massa total nas etapas de degradação das gorduras para a amostra controle, com 28,45 % de quebra. Todas as amostras adicionadas de antioxidantes performaram melhor do que a controle nesse ensaio, tendo exibido os percentuais de perda total de 22,99 %, 18,22 % e 21,05 % para BHA, mistura de tocoferóis e extrato de semente de uva, respectivamente. Dessa forma, a partir desse trabalho foi possível demonstrar a viabilidade da substituição do antioxidante BHA por uma fonte natural, a mistura de tocoferóis, e evidenciar o efeito pró-oxidante do extrato de semente de uva quando aplicado em uma matriz cárnea.

Palavras-chave: extrato de alecrim; extrato de semente de uva; tocoferóis; produtos cárneos; estabilidade oxidativa.

ABSTRACT

Lipid oxidation is a critical process for the quality of meat products. It is a determinant factor for consumer's acceptance and shelf life of these products. The use of natural antioxidants is an alternative to delay the oxidative deterioration of food and it is in line with the growing demand for more natural products, without the use of synthetic additives. The objective of this study was to determine the antioxidant activity of natural extracts and evaluate their efficiency in the oxidative stability of fresh sausage. The phenolic compounds of rosemary extract, tocopherol mixture, grape seed extract and BHA were 4.1; 30.48; 27.40 and 72.68 mg EAG/g sample, respectively. The tocopherol mixture and grape seed extract showed antioxidant activity similar to BHA also by the DPPH (472.89; 275.71 and 1271.0 $\mu\text{mol ET/g}$ sample) and FRAP (1065.25; 665.87 and 1446.11 $\mu\text{mol EFeSO}_4/\text{g}$ sample) methods. The efficacy of these natural antioxidants applied to fresh sausage was evaluated through the acidity content, peroxide value, thiobarbituric acid reactive substances and qualitative rancidity, thermogravimetry and fatty acids profile, during the 15 days of storage at 4.0 °C, under light incidence. The results demonstrated a pro-oxidant effect of grape seed extract (6.74% acidity and TBARS 2.74 mg MDA/kg sample) compared to control (4.85% acidity) and BHA (0.053 mg MDA/kg sample). The result of the peroxide value for the sample containing the mixture of tocopherols (3.07 mE O₂/kg) was significantly lower than the control (11.40 mE O₂/kg) and the TBARS values for the samples treated with BHA (0.473 mg MDA/kg) and the mixture of tocopherols (0.441 mg MDA/kg) at 11 days were similar, proving the potential of this natural antioxidant to replace the synthetic one. The main fatty acids found in fresh sausages were C16:0 (palmitic acid), C18:0 (stearic acid), C18:1 (oleic acid) and C18:2 (linoleic acid). The thermogravimetric charts showed that lipid degradation in the sample containing grape seeds extract began at a lower temperature than the other samples (190.0 °C). On the other hand, tocopherol was able to delay this process, reaching the highest rate of mass loss only at 338.0 °C. The analyzes confirmed the greatest loss of total mass for the control sample, with 28.45% loss. All samples with antioxidants in the formulations performed better than the control in this assay, having shown total mass loss percentages of 22.99%, 18.22% and 21.05% for BHA, mixture of tocopherols and grape seed extract, respectively. Thus, this study demonstrated the viability of replacing the BHA by a natural source, the mixture of tocopherols, and revealed the pro-oxidant effect of the grape seed extract when applied to a meat matrix.

Keywords: rosemary extract; grape seeds extract; tocopherols; meat products; oxidative stability.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

BHA - Butilhidroxianisol
BHT – Butilhidroxitolueno
CG – Cromatografia gasosa
DPPH - Radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazila
EAG – Equivalente ácido gálico
EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético
EFeSO₄ - Equivalente sulfato ferroso
ET – Equivalente Trolox
FID - Detector por Ionização de Chama (*Flame Ionization Detector*)
FRAP - Poder de redução férrico (*Ferric Reducing Ability Power*)
g - Grama
IN - Instrução Normativa
INS - Sistema Internacional de Numeração de Aditivos Alimentares (*International Numbering System*)
ISO - Organização Internacional para Padronização (*International Organization for Standardization*)
L - Litro
MDA – Malonaldeído
mg - Miligrama
mL – Mililitro
mm – Milímetros
NaCl - Cloreto de sódio
nm – Nanômetro
P.A – Padrão analítico
PG – Propilgalato
pH – Potencial hidrogeniônico
RDC - Resolução da Diretoria Colegiada
RM – Massa residual (*Residual mass*)
RPM – Rotações por minuto
RTIQ - Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade
TBA - Ácido 2-tiobarbitúrico
TBARS - Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TBHQ - Terc-butil hidroquinona

TCA - Ácido tricloroacético

TEP - 1,1,3,3-tetraetoxipropano

TPTZ - 2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazina

UV-VIS - Ultravioleta visível

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Reação de hidrólise do triacilglicerol em glicerol e ácidos graxos livres	17
Figura 2: Esquematização do mecanismo da autoxidação lipídica:	18
Figura 3: Reação de formação de substâncias reativas ao oxigênio	20
Figura 4: Mecanismo de atuação dos antioxidantes primários.....	24
Figura 5: Estrutura fenólica dos antioxidantes sintéticos BHA, BHT, PG e TBHQ	26
Figura 6: Estruturas moleculares da catequina e epicatequina	30
Figura 7: Estrutura molecular da procianidina	30
Figura 8: Molécula dos tocoferóis.....	33
Figura 9: Processo de produção de linguiças frescas	41
Figura 10: Médias do índice de peróxidos ao longo do período avaliado.....	55
Figura 11: Análise termogravimétrica em amostras de linguiça frescal com adição de antioxidantes.....	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resultados obtidos para atividade antioxidante dos extratos naturais e do BHA.....	48
Tabela 2: Média da composição centesimal das amostras de linguiças frescas	52
Tabela 3: Média de pH das amostras de linguiças frescas	53
Tabela 4: Média dos índices de peróxidos durante o estudo de shelf-life	55
Tabela 5: Médias dos resultados de índice de acidez (%) nas amostras de linguiça frescal.....	58
Tabela 6: Médias das quantidades de malonaldeídos (mg por kg de amostra) para TBARS	61
Tabela 7: Média do % de composição de ácidos graxos presentes nas formulações de linguiça frescal adicionadas de antioxidante natural e sintético	65
Tabela 8: Resultados do monitoramento dos principais ácidos graxos presentes nas amostras de linguiça frescal ao longo do shelf-life	66
Tabela 9: Eventos térmicos identificados na análise termogravimétrica das linguiças frescas	73

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1: Índice de peróxidos.....	43
Equação 2: % de Acidez	44
Equação 3: % de Composição de ácidos graxos	46

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	14
2.	OBJETIVOS	15
2.1	OBJETIVO GERAL.....	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1	OXIDAÇÃO LIPÍDICA	16
3.2	MECANISMOS DA OXIDAÇÃO LIPÍDICA.....	16
3.3	FATORES QUE INFLUENCIAM A OXIDAÇÃO LIPÍDICA.....	19
3.4	IMPACTOS DA OXIDAÇÃO LIPÍDICA EM PRODUTOS CÁRNEOS	22
3.5	ANTIOXIDANTES	23
3.6	MECANISMO DE AÇÃO DOS ANTIOXIDANTES	23
3.7	ANTIOXIDANTES SINTÉTICOS	25
3.8	ANTIOXIDANTES NATURAIS	27
3.8.1	Extrato de alecrim	28
3.8.2	Extrato de semente de uva.....	29
3.8.3	Mistura de tocoferóis	32
3.9	LINGUIÇA FRESCAL	34
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1	AMOSTRAS	37
4.2	REAGENTES E PADRÕES	38
4.3	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	38
4.3.1	Capacidade de captura do radical DPPH	38
4.3.2	Teor de compostos fenólicos totais	39
4.3.3	Poder de redução pelo método FRAP (Ferric Reducing Ability Power)	39
4.4	PREPARO DAS LINGUIÇAS FRESCAIS.....	40
4.5	CARACTERIZAÇÃO DAS LINGUIÇAS FRESCAIS	41
4.6	MONITORAMENTO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA.....	42
4.6.1	Rancidez qualitativa.....	42
4.6.2	Índice de peróxidos.....	42
4.6.3	Índice de acidez.....	43
4.6.4	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)	44
4.6.5	Perfil de ácidos graxos	44
4.6.6	Termogravimetria.....	46
4.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	47
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.1	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	48
5.2	CARACTERIZAÇÃO DAS LINGUIÇAS FRESCAIS	52
5.3	MONITORAMENTO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA	53
5.3.1	Rancidez qualitativa.....	54

5.3.2	Índice de peróxidos.....	54
5.3.3	Índice de acidez.....	57
5.3.4	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)	60
5.3.5	Perfil de ácidos graxos	63
5.3.6	Termogravimetria.....	71
6.	CONCLUSÕES	78
	REFERÊNCIAS.....	80

1. INTRODUÇÃO

Os produtos cárneos são muito suscetíveis à oxidação devido à sua composição química, rica em aminoácidos e lipídios, e ao processamento mecânico e térmico ao qual a carne é submetida (PEREIRA et al., 2017). Sabe-se que a oxidação lipídica é responsável pela redução da qualidade dos produtos cárneos e da diminuição da sua vida útil devido à formação de compostos como aldeídos e cetonas, que alteram principalmente seu sabor, cor e odor (KANNER, 1994).

Nesse sentido, os antioxidantes se apresentam como um importante recurso para inibir ou retardar a deterioração oxidativa dos alimentos, de forma a estender sua vida útil (OLIVEIRA et al., 2012). Como o emprego de antioxidantes sintéticos na indústria de alimentos como, por exemplo, o butilhidroxianisol (BHA) e o butilhidroxitolueno (BHT), tem sido questionado quanto à inocuidade, estão sendo estudados compostos naturais que exibam essa funcionalidade, com destaque para extratos vegetais (DEL RÉ; JORGE, 2012).

Dentre os extratos vegetais, um dos mais promissores para controle da oxidação lipídica é o de alecrim. Sua atividade antioxidante é conferida fundamentalmente pela presença de compostos fenólicos, como os diterpenos fenólicos (ácido carnósico e carnosol) (FERNÁNDEZ-LÓPEZ et al., 2005). Os tocoferóis, por sua vez, estão presentes de forma natural na maioria dos óleos vegetais e sua atividade antioxidante é decorrente da sua capacidade de doar hidrogênios fenólicos aos radicais livres e, assim, interromper a formação de hidroperóxidos e a propagação em cadeia da reação (BERTOLIN et al., 2011). Por fim, o extrato de semente de uva, obtido a partir de subprodutos do processo de fabricação do vinho ou suco de uva, apresenta grande quantidade de compostos fenólicos, que são capazes de sequestrar radicais livres e trabalham em sinergia com outros antioxidantes (YI et al., 2009).

Tendo em vista o crescente interesse dos consumidores por produtos que entreguem conveniência, sabor, textura e saudabilidade, as indústrias de alimentos requerem um maior aprofundamento em pesquisa e inovação para atender a demanda dos consumidores (FONT-I-FURNOLS; GUERRERO, 2014).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Comparar a efetividade da mistura de tocoferóis comercial, do extrato comercial de alecrim, do extrato de semente de uva na inibição da oxidação lipídica da linguiça frescal.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter o extrato natural de semente de uva;
- Determinar o potencial antioxidante da mistura de tocoferóis, dos extratos de alecrim e de semente de uva, em comparação ao antioxidante sintético BHA;
- Elaborar linguiça frescal com adição dos antioxidantes naturais com maiores capacidades antioxidantes;
- Avaliar as características físico-químicas da linguiça frescal;
- Mensurar a estabilidade oxidativa da linguiça frescal contendo os antioxidantes naturais e sintético durante a sua vida de prateleira.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 OXIDAÇÃO LIPÍDICA

Os lipídios exercem um papel importante na qualidade dos alimentos, pois influenciam significativamente nas suas propriedades organolépticas (textura, aroma, sabor e cor). Porém, durante o processamento e ao longo do armazenamento, podem ser oxidados, ocasionando a perda de valor nutricional dos alimentos e a produção de *off-flavors* (PEREIRA et al., 2017).

A oxidação lipídica é um mecanismo mediado por radicais livres e pode ocorrer por reações enzimáticas, hidrolíticas, fotoxidação ou autooxidação (RAMALHO; JORGE, 2006).

As carnes e os produtos cárneos apresentam baixa estabilidade oxidativa devido aos ácidos graxos insaturados de sua composição (MORRISSEY et al., 1998). Bragagnolo e Rodriguez-Amaya (2002) verificaram que no pernil suíno, 42 % dos ácidos graxos são monoinsaturados, 25 % poli-insaturados e 33 % saturados, enquanto que o toucinho suíno, apresentou 46 % dos ácidos graxos monoinsaturados, 17 % poli-insaturados e 38 % saturados. Nos dois cortes foram identificados 36 ácidos graxos, dos quais o ácido oleico (18:1 ω -9), o ácido palmítico (16:0), o ácido linoleico (18:2 ω -6), o ácido esteárico (18:0), o ácido palmitoleico (16:1 ω -7) e o ácido *cis*-vacênico (18:1 ω -7) estavam presentes em maior proporção.

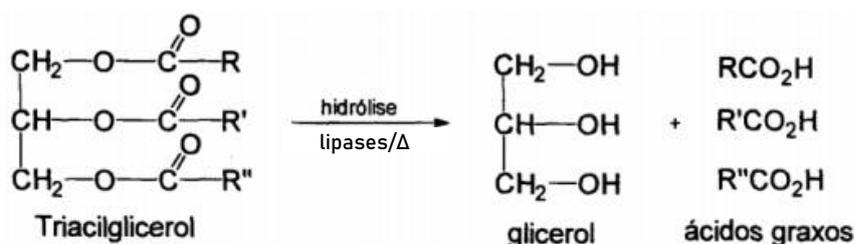
Sendo assim, manter a qualidade desses produtos ao longo de toda a cadeia de produção, distribuição e comercialização é um grande desafio (MORRISSEY et al., 1998). Amaral, Solva e Lannes (2018) ressaltaram que aparência, cor, textura, sabor e aroma são os principais fatores que afetam a aceitabilidade da carne e, por isso, a compreensão e o controle dos processos oxidativos é de grande interesse para a indústria frigorífica.

3.2 MECANISMOS DA OXIDAÇÃO LIPÍDICA

Os lipídios presentes na composição dos alimentos podem ser oxidados por diferentes mecanismos. Dentre eles, a rancidez hidrolítica enzimática, que

se refere a hidrólise dos triacilglicerídeos dos óleos e gorduras, com produção de ácidos graxos livres, devido à ação das enzimas lipases, na presença de umidade, conforme demonstrado na figura 1 (OSAWA; GONÇALVES; RAGAZZI, 2006).

Figura 1: Reação de hidrólise do triacilglicerol em glicerol e ácidos graxos livres



Fonte: Adaptado de Rodrigues, 2016.

Já a rancidez hidrolítica não enzimática ocorre em altas temperaturas, na presença de água, produzindo ácidos graxos livres (OSAWA; GONÇALVES; RAGAZZI, 2006).

Os ácidos graxos de baixo peso molecular liberados na reação de hidrólise do triacilglicerol, podem acarretar odores e sabores indesejados como, por exemplo, de ranço e sabão, decorrentes do ácido caprótico (C6:0) e caprílico (C8:0), respectivamente (FEINER, 2006).

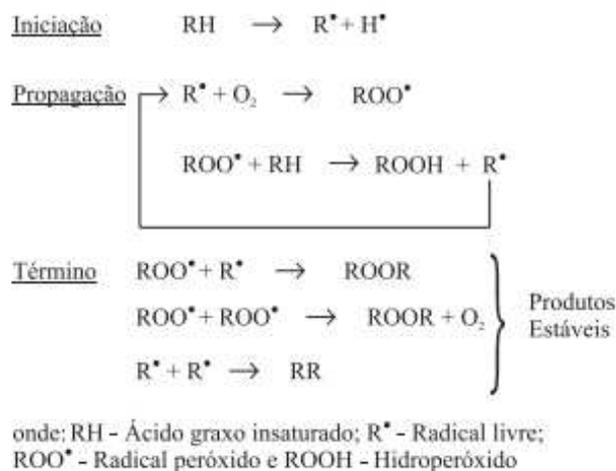
Ainda, as enzimas lipoxigenases podem atuar catalisando a adição de oxigênio à cadeia hidrocarbonada poli-insaturada dos ácidos graxos, formando peróxidos e hidroperóxidos (AMARAL; SOLVA; LANNES, 2018).

O mecanismo de fotoxidação de gorduras insaturadas se dá pela absorção da energia luminosa proveniente da radiação UV por fotossensibilizadores (mioglobina e hemoglobina) e transferência dessa energia para o oxigênio triplete ($^3\text{O}_2$), gerando o estado excitado singlete $^1\text{O}_2$. O oxigênio singlete é expressivamente mais reativo do que o estado fundamental triplete e reage com as ligações duplas dos ácidos graxos insaturados, formando hidroperóxidos. Posteriormente, esses hidroperóxidos são degradados, originando aldeídos, álcoois e hidrocarbonetos, que são compostos voláteis que apresentam aromas indesejados (BERGER; HAMILTON, 1995; FEINER, 2006; RAMALHO; JORGE, 2006).

A autoxidação, por sua vez, pode ser explicada como uma série de reações em cadeia em que o oxigênio interage com os ácidos graxos, por meio da formação de radicais livres (ERICKSON, 2002). Esse é o mecanismo mais importante de oxidação de lipídios em carnes e ocorre em três etapas, conforme demonstrado na figura 2, onde:

- **Iniciação:** acontece a formação dos radicais livres devido à retirada de um hidrogênio do carbono do ácido graxo insaturado, por meio da ação da luz e calor;
- **Propagação:** os radicais livres que são altamente instáveis, atacam o oxigênio atmosférico, sendo convertidos em outros radicais, os produtos primários de oxidação (peróxidos e hidroperóxidos). Os radicais livres formados atuam como propagadores da reação, resultando em um processo auto-catalítico. Nessa etapa, ocorrem também reações lipídio-lipídio, em que o radical peroxil lipídico retira o hidrogênio de uma molécula adjacente, resultando em um hidroperóxido lipídico e um novo lipídio radical livre.
- **Término:** ocorre quando dois radicais livres se ligam, formando produtos estáveis (produtos secundários de oxidação) (DOMÍNGUEZ et al., 2019).

Figura 2: Esquematização do mecanismo da autoxidação lipídica:



Fonte: Ramalho; Jorge, 2006.

Os hidroperóxidos isolados não tem impacto sobre a qualidade dos alimentos. No entanto, são altamente instáveis e se degradam em outros

compostos como aldeídos, cetonas e álcoois, que são os responsáveis pelas alterações de sabor e odor (CHENG, 2016).

Os principais contribuintes para a decomposição de hidroperóxidos lipídicos em alimentos são o ferro heme, ligado à proteína cárnea, e o não heme, com reações envolvendo o íon ferroso (Fe^{+2}) ocorrendo muito mais rapidamente do que aqueles envolvendo íon férrico (Fe^{+3}) (ERICKSON, 2002).

3.3 FATORES QUE INFLUENCIAM A OXIDAÇÃO LIPÍDICA

Kanner (1994) elencou múltiplos fatores que podem afetar a extensão da oxidação lipídica no processamento de carnes, dentre eles: a composição e frescor da carne; as etapas do processamento da carne: desossa, corte, moagem, emulsificação, tratamento térmico; e adição de outros ingredientes como sal, nitrito, condimentos e antioxidantes.

Apesar de serem muitos os fatores que interferem na oxidação da carne, Domínguez et al. (2019) afirmam que os principais são o conteúdo de gordura e a composição dos ácidos graxos da carne, que são o substrato para o processo de oxidação.

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos com longas cadeias alifáticas que podem ser lineares ou ramificadas, saturadas ou insaturadas. O ácido graxo saturado é caracterizado pela ausência de duplas ligações em sua cadeia de hidrocarbonetos. Já os ácidos graxos que possuem apenas uma dupla ligação, são denominados monoinsaturados e, quando possuem duas ou mais duplas ligações, são chamados de poli-insaturados (VOLKMANN; JENSKE; KREMER, 2017).

Em relação à susceptibilidade à oxidação, o grau de insaturação desses ácidos graxos é mais relevante do que a sua quantidade em si, visto que as duplas ligações são sítios termodinamicamente favoráveis para o ataque dos radicais livres. Com isso, menos energia é necessária para remoção de um hidrogênio de um carbono em dupla ligação, do que de um metil carbono (AMARAL; SOLVA; LANNES, 2018).

Sabe-se que a energia de dissociação da ligação covalente carbono-hidrogênio em uma cadeia alifática é de 98 kcal/mol. Quando há um átomo de

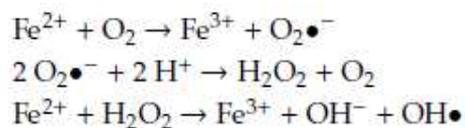
carbono adjacente a uma ligação dupla, a ligação covalente carbono-hidrogênio torna-se mais fraca, e sua energia de dissociação passa a ser de 89 kcal/mol. Quando a ligação covalente carbono-hidrogênio desse carbono é enfraquecida por duas ligações duplas, sua energia de dissociação de ligação é ainda menor, 80 kcal/mol. À medida que a energia de dissociação da ligação carbono-hidrogênio diminui, a abstração do hidrogênio torna-se mais fácil e a oxidação de lipídios, mais rápida (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Nesse sentido, a proporção de ácidos graxos presentes nas espécies de animais é o que explica os diferentes níveis de susceptibilidade à oxidação lipídica. A carne de frango, por exemplo, contém um percentual mais elevado de gorduras insaturadas e, conseqüentemente, uma taxa mais rápida de oxidação do que a carne suína e bovina (CHENG, 2016).

Nos produtos cárneos cujos processos de elaboração incluem a etapa de moagem da matéria-prima, ocorre um rompimento da estrutura do músculo e, conseqüentemente, a exposição dos lipídios à um ambiente pró-oxidante devido à liberação de ferro, presente na proteína heme (PEREIRA et al., 2017).

Kanner et al. (1988) explicam que metais de transição, dentre eles o ferro, atuam como catalisadores em diversas etapas das reações de oxidação de ácidos graxos insaturados, na presença de luz e oxigênio. Os íons metálicos passam a interagir com os aminoácidos e os nucleotídeos, formando substâncias reativas ao oxigênio, que são responsáveis pela catálise da oxidação lipídica (DOMÍNGUEZ et al., 2019; MORRISSEY et al., 1998). Esse processo é explicado pela reação de Fenton, demonstrada na figura 3:

Figura 3: Reação de formação de substâncias reativas ao oxigênio



Fonte: Morrissey et al., 1998.

Outros fatores relacionados ao aumento da susceptibilidade à oxidação da carne que passou por processos de espostejamento, corte, moagem e trituração são a exposição dos fosfolipídios da membrana celular e o aumento

da superfície de contato com o oxigênio (AMARAL; SOLVA; LANNES, 2018; PAGLARINI, 2015).

Além disso, a oxidação é favorecida tanto pelo aumento do tempo, quanto da temperatura. O aumento da temperatura favorece o contato entre o substrato e o agente oxidante, além de acelerar a decomposição dos hidroperóxidos, acelerando a etapa de propagação (DOMÍNGUEZ et al., 2019).

Temperaturas elevadas beneficiam a mobilidade das moléculas, devido ao fornecimento de energia às moléculas. Com isso, a diminuição da temperatura faz com que a difusão das moléculas envolvidas no processo de oxidação seja menor, reduzindo as taxas de reação (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; NEIDLEMAN, 1987).

Contudo, não só a elevação da temperatura, mas também variações desta durante o armazenamento de produtos congelados, podem promover a oxidação. Isso se deve ao fato de que com as flutuações da temperatura, ocorre a formação de cristas de gelo extracelulares, os quais ocasionam a ruptura das células, liberando compostos pró-oxidantes para o meio (DOMÍNGUEZ et al., 2019; FEINER, 2006).

O tempo de armazenamento dos produtos também tem influência sobre a extensão das reações de oxidação. Longos períodos de armazenamento promovem a liberação do ferro das heme-proteínas e aumenta a possibilidade de os radicais livres reagirem com os lipídios (DOMÍNGUEZ et al., 2019).

A interação da matriz cárnea com outros ingredientes da formulação é outro aspecto importante para controle da oxidação. Estudos relatam que o cloreto de sódio (NaCl) é capaz de ampliar o nível de oxidação lipídica (AMARAL; SOLVA; LANNES, 2018; PAGLARINI, 2015). Seu efeito pode estar associado à capacidade do NaCl de melhorar a atividade dos íons ferro, de liberar íons de ferro de macromoléculas como as proteínas heme e de promover a formação de metamioglobina (AMARAL; SOLVA; LANNES, 2018; KANNER; HAZAN; DOLL, 1988).

Existem diversos fatores que impactam a oxidação lipídica e proteica de carnes e produtos cárneos. Conhecê-los e controlá-los é a maneira mais eficaz de retardar a formação de odores e sabores indesejados e evitar a perda do valor nutricional desses produtos (CHENG, 2016).

3.4 IMPACTOS DA OXIDAÇÃO LIPÍDICA EM PRODUTOS CÁRNEOS

As reações de oxidação culminam na produção de substâncias potencialmente tóxicas, como malonaldeídos e óxidos de colesterol, e levam à perda do valor nutricional, decorrente da destruição de vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos insaturados (OLIVEIRA, 2011).

Além disso, o aquecimento de carnes propicia a formação de produtos da reação de Maillard que, ao reagir com produtos da oxidação lipídica (malonaldeídos), originam as aminas aromáticas heterocíclicas, substâncias com poder cancerígeno (GRAY; GOMAA; BUCKLEY, 1996; KANNER, 1994).

A oxidação lipídica também é responsável pela redução da qualidade dos produtos cárneos. Afeta diretamente a cor, a textura, o sabor e o aroma dos produtos, sendo esses critérios fundamentais para aceitabilidade dos consumidores (AMARAL; SOLVA; LANNES, 2018).

Gray, Goma e Buckley (1996) determinaram que em carnes cozidas e estocadas, as reações de oxidação causam *off-flavors*, como o sabor de requentado. Townsend e Bard (1971) apud Cava (2007) observaram uma maior instabilidade na cor de preparações cárneas decorrente da incorporação de gorduras com alto teor de peróxidos orgânicos.

Dessa forma, a oxidação lipídica restringe a vida útil de produtos que, em condições de armazenamento refrigerado ou congelado, teriam a deterioração microbiana reduzida e seu prazo de validade estendido (FAO, 1985).

Os impactos significativos da oxidação para a qualidade dos produtos cárneos, os inúmeros fatores que aceleram essas reações e a crescente demanda dos consumidores por produtos que estejam prontos para o consumo, mas que ofereçam sabor e aparência de frescos, representam grandes desafios para a indústria de alimentos (FIESP; ITAL, 2010; FONT-I-FURNOLS; GUERRERO, 2014). Nesse cenário, os antioxidantes se apresentam como uma alternativa eficaz para inibir ou retardar a deterioração oxidativa dos alimentos.

3.5 ANTIOXIDANTES

Antioxidantes são substâncias capazes de retardar ou de inibir a oxidação dos alimentos (OSWELL; THIPPAREDDI; PEGG, 2018). O seu emprego em produtos cárneos visa minimizar os impactos às propriedades sensoriais e nutricionais causados pelas reações de oxidação, resultando na manutenção da qualidade e prolongamento do prazo de validade dos produtos (KUMAR et al., 2015).

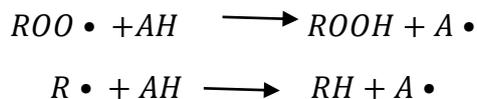
A Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 272, de 14 de março de 2019, estabelece os aditivos alimentares autorizados para uso em carnes e produtos cárneos, dentre eles os antioxidantes. Para industrializados frescos e congelados, por exemplo, é permitida a utilização de até 0,01 % do galato de propila (INS 310) e do butil hidroxianisol (BHA) (INS 320) e de até 0,03 % de tocoferóis (INS 307 b), calculados com base no teor de gordura do produto. Está autorizado também o uso do ácido ascórbico (INS 300), do ácido eritórbico (INS 315) e de seus sais, não havendo um limite máximo de aplicação para esses aditivos (BRASIL, 2019).

A escolha do antioxidante a ser empregado deve levar em consideração o seu mecanismo de ação, sua capacidade antioxidante e concentração efetiva, solubilidade, estabilidade térmica, custo, disponibilidade e viabilidade regulatória (OSWELL; THIPPAREDDI; PEGG, 2018).

3.6 MECANISMO DE AÇÃO DOS ANTIOXIDANTES

Os antioxidantes podem ser classificados em primários e secundários, de acordo com seu modo de ação. Os antioxidantes primários interrompem a reação em cadeia, doando elétrons ou hidrogênio aos radicais livres. Com isso, os radicais livres são inativados, tornando-se moléculas estáveis (CASAROTTO, 2013; RAMALHO; JORGE, 2006). A figura 4 demonstra esse mecanismo de ação:

Figura 4: Mecanismo de atuação dos antioxidantes primários



onde: $ROO \cdot$ e $R \cdot$ - radicais livres; AH – antioxidante com um átomo de hidrogênio ativo e $A \cdot$ - radical inerte.

Fonte: Ramalho; Jorge, 2006.

Os principais antioxidantes que apresentam esse mecanismo de ação são os polifenóis, que podem ser sintéticos como o butil-hidroxianisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), terc-butil-hidroquinona (TBHQ) e propilgalato (PG) ou naturais, como os tocoferóis (NAMIKI, 1990 apud RAMALHO; JORGE, 2006).

Os antioxidantes secundários, por outro lado, retardam a etapa de iniciação da autoxidação. Os mecanismos envolvidos nesse processo incluem a complexação de metais, o sequestro de oxigênio, a decomposição de hidroperóxidos para formar espécie não radicalar, a absorção da radiação ultravioleta ou a desativação de oxigênio singlete (ANGELO; JORGE, 2007).

Os removedores de oxigênio são compostos que capturam o oxigênio presente no meio, tornando-os estáveis e, portanto, indisponíveis para atuarem como propagadores da autoxidação. Os principais exemplos desse grupo de antioxidantes são o ácido ascórbico e o eritorbato de sódio (BAILEY; BAILEY, 1996 apud RAMALHO; JORGE, 2006).

Os antioxidantes biológicos removem o oxigênio ou compostos altamente reativos de um sistema alimentício. Os agentes quelantes como, por exemplo, o ácido cítrico e seus sais, são responsáveis por complexar íons metálicos, principalmente cobre e ferro, que atuam como catalisadores da oxidação lipídica (BAILEY; BAILEY, 1996 apud RAMALHO; JORGE, 2006).

Mesmo que os antioxidantes não consigam bloquear completamente a rancificação oxidativa, sua utilização permite retardar essa transformação, de forma que os produtos cárneos possam ainda ser consumidos mesmo após seu armazenamento por longos períodos (BOBBIO, 2001).

Estudo com extratos vegetais de diferentes espécies têm-se mostrado eficazes frente à conservação da qualidade em carnes e seus derivados (KAIPERS, 2017). Nesse sentido, pesquisas que busquem identificar compostos com capacidade antioxidante e sua aplicação em produtos cárneos têm sido altamente demandadas pela indústria.

3.7 ANTIOXIDANTES SINTÉTICOS

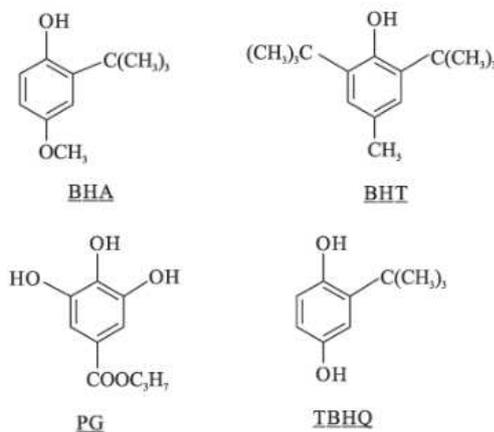
Os antioxidantes sintéticos mais utilizados na indústria de alimentos são os compostos fenólicos butil-hidroxianisol (BHA) (INS 320), butilhidroxi-tolueno (BHT) (INS 321), terc-butil-hidroquinona (TBHQ) (INS 319) e galato de propila (PG) (INS 310) (RAMALHO; JORGE, 2006).

A ação antioxidante desses compostos é resultante da sua estrutura fenólica (figura 5), a qual estabiliza radicais livres por meio da doação de um hidrogênio, cessando o mecanismo de oxidação. Ao doarem elétrons, essas moléculas se tornam radicais livres, porém não propagam ou iniciam reações oxidativas em cadeia, porque o radical livre formado a partir do antioxidante é estabilizado por ressonância do anel aromático, tornando-se inerte (RAMALHO; JORGE, 2006).

Ao doar um hidrogênio de seus grupos hidroxil, os antioxidantes se transformam em um radical fenólico, porém de baixa energia, com menor capacidade de atacar ácidos graxos insaturados. Isso ocorre porque esse radical é deslocalizado ao longo da estrutura do anel fenólico, estabilizando-o (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Os antioxidantes sintéticos, além de não catalisarem a oxidação de ácidos graxos insaturados com rapidez, também não reagem com facilidade com o oxigênio para formar hidroperóxidos instáveis do antioxidante, os quais poderiam se decompor em radicais livres de alta energia. Pelo contrário, eles tendem a reagir em reações de terminação radical-radical (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Figura 5: Estrutura fenólica dos antioxidantes sintéticos BHA, BHT, PG e TBHQ



Fonte: Ramalho; Jorge, 2006.

O BHA é mais efetivo na atenuação da oxidação em gorduras animais do que em óleos vegetais. É pouco estável quando submetido a elevadas temperaturas e insolúvel em água. Porém, é altamente solúvel em gorduras e eficaz no controle de oxidação de ácidos graxos de cadeia curta (RAMALHO; JORGE, 2006). O BHT age de forma similar ao BHA e ambos são sinergistas.

O propilgalato (PG) é um éster do 3,4,5-ácido-triidroxibenzóico, tem baixa eficácia antioxidante para alimentos que passam por processo de fritura, massas assadas e biscoitos preparados com gorduras e, em níveis elevados, pode atuar como pró-oxidante (PIRES, 2014). O PG é solúvel em gorduras e efetivo na preservação de gorduras poli-insaturadas, mas seu gosto amargo restringe a aplicação em alguns alimentos (NACZK; SHAHIDI, 2004).

O TBHQ é moderadamente solúvel em óleos e gorduras e não se complexa com íons de cobre e ferro. É considerado o antioxidante mais eficiente para óleos vegetais e para óleos de fritura, pois tem boa resistência ao calor e proporciona uma excelente estabilidade para os produtos acabados durante armazenamento (PAGLARINI, 2016; RAMALHO; JORGE, 2006; PIRES, 2014).

A concentração máxima permitida desses aditivos em produtos cárneos é determinada pela legislação e varia conforme a categoria de produtos e o seu teor de gorduras (BRASIL, 2019).

Embora potentes antioxidantes, estudos toxicológicos têm demonstrado a possibilidade de estes antioxidantes sintéticos apresentarem efeito

carcinogênico, quando utilizados em elevadas concentrações (KUMAR et al., 2015; NACZK; SHAHIDI, 2004; SEBRANEK et al., 2005).

Pesquisas relevaram que o BHA e o BHT induziram danos e mutações ao DNA do estômago, rim, bexiga e cérebro, em estudo com ratos. Essas substâncias foram capazes de alterar o funcionamento das células, levando à neoplasia, que é um tumor que ocorre pelo crescimento anormal de células (POLÔNIO; PERES, 2009; SOUZA et al., 2019).

Tendo em vista os indícios de problemas que podem ser provocados pelo consumo de antioxidantes sintéticos e a demanda dos consumidores por produtos naturais, pesquisas têm sido dirigidas no sentido de encontrar substâncias naturais que exibam essa funcionalidade, os quais permitirão substituir os sintéticos ou fazer associações entre eles, com intuito de diminuir sua quantidade nos alimentos (DEL RÉ; JORGE, 2012; RAMALHO; JORGE, 2006).

3.8 ANTIOXIDANTES NATURAIS

Antioxidantes naturais são os ingredientes obtidos a partir de fontes naturais e que exibem potencial antioxidante em sistemas alimentares. Esses antioxidantes podem ser encontrados em diferentes partes das plantas, como por exemplo, grãos, frutas, sementes, folhas e raízes.

Os antioxidantes naturais exibem um grande potencial para aplicação em produtos cárneos, pois além de eficazes na prevenção ou controle da oxidação, ainda apresentam boa aceitabilidade pelos consumidores.

A maior parte dos antioxidantes naturais são compostos fenólicos e alguns deles já demonstraram exibir propriedades antioxidantes iguais ou superiores à dos sintéticos BHA/BHT (ANGELO; JORGE, 2007; RAMALHO; JORGE, 2006).

3.8.1 Extrato de alecrim

O alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) é originário da Europa, é adaptável a solos secos, pobres e bem drenados e se desenvolve melhor no clima subtropical (DEL RÉ; JORGE, 2012).

A atividade antioxidante dos extratos de alecrim é conferida essencialmente pela presença de compostos fenólicos, como os flavonoides, os ácidos fenólicos e os diterpenos fenólicos (epirosmanol, isorosmanol, rosmaridifenol, rosmariquinona e ácido rosmarico, ácido carnósico, ácido 12-metoxicarnosico e carnosol), sendo que 90 % de sua atividade antioxidante é decorrente do ácido carnósico, como demonstrado por (SHAHIDI; JANITHA; WANASUNDARA, 1992). Como o ácido carnósico é muito instável, se degrada facilmente, formando o carnosol (metil éster do ácido carnósico), que se degrada, por sua vez, em rosmanol, epirosmanol e 7-metilrosmanol, sendo que todas essas estruturas possuem capacidade antioxidante (JUSTO et al., 2008).

A aplicação do alecrim como antioxidante em alimentos tem sido bastante estudada e tem sido comprovado o seu potencial antioxidante em diversos produtos que são susceptíveis à oxidação, tais como maioneses, salsichas e diferentes tipos de carnes (CARVALHO et al., 2005; ESTÉVEZ; CAVA, 2006; LEE et al., 2005).

Bragagnolo, Danielsen e Skibsted (2005) analisaram o uso do extrato de alecrim como antioxidante em peito de frango, salgado, moído e tratado com alta pressão e comprovaram seu poder antioxidante ao verificar que a produção de compostos secundários de oxidação lipídica, foi significativamente menor nos peitos de frango tratados sob pressão com extrato de alecrim.

Estévez e Cava (2006) constataram o efeito do alecrim na prevenção contra oxidação em almôndegas pré-cozidas processadas com peito de frango durante estocagem refrigerada. Fernández-López et al. (2005) também obtiveram resultados positivos para o uso de extrato de alecrim em almôndegas cozidas.

Sebranek et al. (2005) avaliaram o uso de um extrato comercial de alecrim em embutidos suínos refrigerados, congelados e pré-cozidos, e concluíram que atividade antioxidante do extrato foi semelhante ou melhor do

que a de antioxidantes artificiais (BHA/BHT) em relação ao valor de TBARS e manutenção da coloração vermelha.

O uso do extrato de alecrim também se mostrou eficaz na prevenção da perda das qualidades sensoriais e microbiológicas de hambúrguer de carneiro, tendo sido considerado uma solução viável para produção de hambúrgueres com apelo mais saudável (FERNANDES et al., 2016).

A recomendação de aplicação dos extratos comerciais do alecrim depende da quantidade de atividade dos antioxidantes, mas em termos gerais, são utilizadas concentrações entre 200 e 1.000 mg/kg do produto processado (SHAHIDI; JANITHA; WANASUNDARA, 1992).

Com efeito, o extrato de alecrim tem sido considerado pela indústria na formulação de diversos produtos cárneos, como um ingrediente para controlar a oxidação dos lipídios. Porém, a alteração de sabor que produz nos alimentos é um fator limitante para a sua utilização (BENZAQUEM, 2012).

3.8.2 Extrato de semente de uva

A obtenção e aplicação de extrato de semente de uva está em acordo com o crescente interesse pela recuperação de compostos antioxidantes a partir de resíduos das indústrias de vinhos, sucos e destilados de uva. Além de fomentar práticas mais sustentáveis, esse tipo de aproveitamento reduz os custos com armazenamento e destinação de resíduos (SHIRAHIGUE et al., 2010).

O extrato de semente de uva é rico em compostos fenólicos. Como demonstrado por Yi et al. (2009) e Dalposso et al. (2021), existe uma correlação positiva entre o teor de compostos fenólicos e a atividade antioxidante do extrato. Por isso, o uso desse extrato como ingrediente funcional em alimentos é promissor.

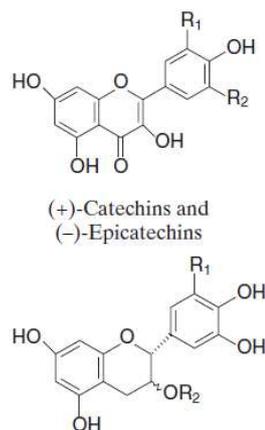
A composição fenólica do extrato pode variar conforme a espécie e grau de maturação da uva, o clima, tipo de solo e processamento ao qual é submetida (PALADE; CHEDEA, 2016; SCHWARTZ et al., 2020; SHIRAHIGUE et al., 2010).

As uvas Niágara e Isabel, por exemplo, são variedades de uvas rústica e de mesa comuns, bastante disseminadas na região sul do Brasil, devido à sua

adaptabilidade ao clima e ao solo, e moderada resistência à pragas e doenças fúngicas (SOARES et al., 2008). Shirahigue et al. (2010) analisaram o teor de catequinas e epicatequinas presentes nessas variedades de uva e observaram maior concentração desses compostos na uva Niagara. Ainda, Shinagawa et al. (2018), identificaram diferenças na atividade antioxidante de óleos de semente de uva provenientes de vinícolas localizadas em cidades no Rio Grande do Sul.

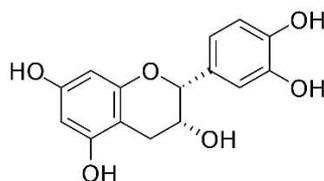
Contudo, de forma geral, dentre os compostos fenólicos das uvas, os mais abundantes são as catequinas, epicatequina e procianidinas, cujas estruturas moleculares estão apresentadas nas figuras 6 e 7. A catequina é geralmente a mais representativa nas cascas e sementes da uva, embora a epicatequina também esteja presente (FRANCO; CARBALLO; LORENZO, 2016).

Figura 6: Estruturas moleculares da catequina e epicatequina



Fonte: Namal Senanayake, 2013.

Figura 7: Estrutura molecular da procianidina



Fonte: Namal Senanayake, 2013.

A extração dos compostos fenólicos das sementes de uva pode ser alcançada utilizando soluções alcoólicas ou hidroalcoólicas. O solvente utilizado para extração influencia diretamente no grupo de compostos fenólicos extraídos, bem como no potencial antioxidante do extrato (PALADE; CHEDEA, 2016). Dalposso et al., (2021) determinaram que a condição para obtenção da maior atividade antioxidante e do maior conteúdo de *trans*-resveratrol, a partir de sementes de uvas Bordô (*Vitis labrusca*), foi pelo uso do solvente contendo frações de água, etanol e acetona.

A atividade antioxidante do extrato de semente de uva é decorrente da sua habilidade de inativar radicais livres, quelar metais e atuar em sinergia com outros antioxidantes (FRANCO; CARBALLO; LORENZO, 2016).

A adição do extrato de semente de uva aumentou a estabilidade oxidativa da carne de frango cozida durante o armazenamento, tendo sido verificada pelos autores uma atividade antioxidante similar à do BHT (SHIRAHIGUE et al., 2010).

O resíduo da produção de vinho tinto demonstrou elevada capacidade antioxidante e eficácia na prevenção da oxidação de hambúrgueres bovinos. O extrato apresentou a capacidade de inibir a formação dos compostos voláteis associados ao odor de ranço e foi considerado uma alternativa natural viável para extensão do *shelf-life* de produtos cárneos (GARCÍA-LOMILLO et al., 2017).

Lorenzo et al. (2013) indicaram que a semente da uva foi o antioxidante mais eficiente, superando a capacidade antioxidante dos sintéticos. O estudo revelou que o extrato da semente de uva pode ser utilizado na produção de linguiças curadas para melhorar sua qualidade e entregar produtos mais seguros para o consumidor.

Wang, Zhang e Ren (2018) aplicaram o extrato de semente de uva em bacon defumado e verificaram seu efeito como antioxidante natural e antimicrobiano. O uso do extrato retardou significativamente a oxidação de lipídios, tendo reduzido em 69,8% a formação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) após 2 meses de armazenamento.

A eficácia do extrato de semente de uva no controle da oxidação também foi comprovada em aperitivos de peixe, em um estudo conduzido por Guan et al. (2019). Os pesquisadores identificaram a catequina, epicatequina e

ácido rosmarínico no extrato e demonstraram sua eficiência na redução do odor de peixe e melhoria global do sabor do produto.

Diante disso, a investigação da capacidade do extrato de semente de uva de retardar processos oxidativos em produtos cárneos é promissora e está alinhada com a demanda dos consumidores por produtos mais saudáveis e com as premissas de sustentabilidade das empresas.

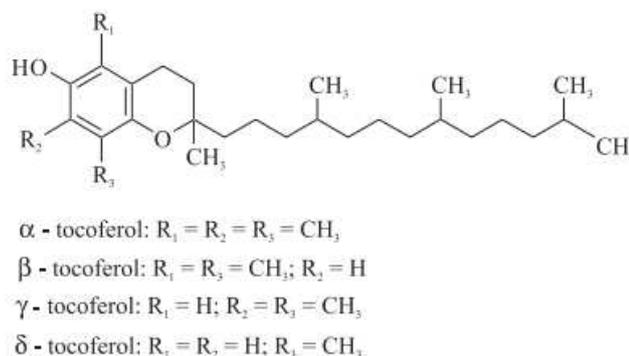
3.8.3 Mistura de tocoferóis

Os tocoferóis são um dos mais importantes antioxidantes fenólicos naturalmente presentes nos óleos vegetais e, mesmo em concentração muito baixa são capazes de melhorar a estabilidade lipídica dos ácidos graxos (BOROSKI et al., 2015; ALIZADEH et al., 2019). Os tocoferóis são sensíveis à luz, ao oxigênio e ao calor (BOROSKI et al., 2015).

A capacidade de doar hidrogênios aos radicais livres lipídicos e, com isso, retardar a peroxidação lipídica e a propagação em cadeia da reação, é o que confere a atividade antioxidante dos tocoferóis (BATISTA; COSTA; PINHEIRO-SANT'ANA, 2007; BOROSKI et al., 2015; ALIZADEH et al., 2019).

A descrição tocoferol é usada genericamente para os mono, di e trimetiltocóis que contém um anel 6-cromanol, com diferentes números de grupos metila nas posições 5-, 7- e 8- e uma cadeia lateral de 16 carbonos saturada ou insaturada. A nomenclatura desses compostos recebe o prefixo de α , β , γ , δ dependendo do número e da posição desse grupo metila ligado ao anel aromático, conforme visualizado na figura 8 (ERICKSON, 2002; RAMALHO; JORGE, 2006).

Figura 8: Molécula dos tocoferóis



Fonte: Ramalho; Jorge, 2006.

O α -tocoferol é o composto que apresenta maior atividade de vitamina E. Hoppe e Krennrich (2000) explicam que isso ocorre devido a uma diferenciação no metabolismo desses compostos no fígado, no qual uma proteína específica de transferência do α -tocoferol tem maior afinidade para se ligar a esse composto na forma natural do que aos outros isômeros ou à forma sintética, mesmo que o processo de absorção intestinal seja o mesmo.

Os tocoferóis são solúveis em gordura e altamente eficazes em produtos alimentícios. É importante destacar que a sua atividade antioxidante em alimentos decresce do composto δ para o α -tocoferol, isto é, o δ -tocoferol é o mais efetivo antioxidante, o β e γ -tocoferol têm atividade intermediária e o α -tocoferol apresenta a mais baixa atividade antioxidante (SIX apud ANGELO; JORGE, 2007).

Existem diversos estudos que demonstraram a efetividade dos tocoferóis na prevenção da oxidação de óleos vegetais (RAMALHO; JORGE, 2006). O emprego dos tocoferóis como suplemento para ração animal e seu impacto na estabilidade oxidativa da carne também já foi amplamente estudado (AMARAL; SOLVA; LANNES, 2018; GRAY; GOMAA; BUCKLEY, 1996). Apesar disso, a avaliação do efeito da adição desses compostos em produtos cárneos processados ainda foi pouco explorada.

A Resolução da Diretoria Colegiada - RDC 272, de 14 de março de 2019, que estabelece os aditivos alimentares autorizados para uso em carnes e produtos cárneos, suas respectivas funções, limites máximos e condições de uso, prevê a possibilidade de utilização do δ - α -tocoferol (INS 307a) e de

mistura concentrada de tocoferóis (INS 307b) como antioxidantes em produtos industrializados cárneos frescos, cozidos, conservas cárneas e mistas e em produtos cárneos desidratados (BRASIL, 2019).

Bertolin et al. (2011) avaliaram a prevenção da oxidação lipídica em charque por meio do emprego de tocoferóis e do BHT e concluíram que o antioxidante natural é uma alternativa viável para o retardamento da oxidação lipídica em charque e produtos similares.

Em salsichas a base de carnes de ave e suína, o δ -tocoferol proporcionou uma proteção antioxidante significativamente maior quando comparado às amostras sem antioxidante e demonstrou ser tão eficiente quanto os antioxidantes sintéticos BHA e BHT em retardar a oxidação (RESURRECCION; REYNOLDS, 1990).

Nesse sentido, considerando as comprovadas propriedades antioxidantes dos extratos de alecrim, semente de uva e dos tocoferóis, sua aplicação em produtos cárneos mostra-se uma alternativa promissora para substituição de antioxidantes químicos, tais como o BHA.

Como a habilidade dos antioxidantes de manter a estabilidade oxidativa é influenciada, dentre outros fatores, pela composição do produto cárneo, é importante conhecer as propriedades do substrato, as características dos extratos e seu mecanismo de ação, a interação entre os ingredientes da formulação e também garantir uma dispersão uniforme da quantidade de antioxidante aplicada, que é uma concentração baixa, conforme exigido pela legislação vigente.

Essa linha de pesquisa está sintonia com as tendências globais e às demandas dos consumidores, especialmente em relação aos fatores saudabilidade, qualidade e conveniência (ITAL, 2010).

3.9 LINGUIÇA FRESCAL

A linguiça frescal é um dos produtos cárneos fabricados em maior quantidade no Brasil, visto que sua elaboração não exige tecnologias avançadas, possibilitando seu processamento em estabelecimentos de pequeno a grande porte (OLIVEIRA et al., 2019; ROSSI, 2017).

Além disso, a linguiça frescal é um produto consumido por todas as classes socioeconômicas, devido ao baixo custo, facilidade do preparo pelo consumidor, versatilidade de apresentações (braseada, frita, assada) e ocasiões de consumo (churrasco, almoço, lanches) (ROSSI, 2017; CARVALHO et al., 2010).

A Instrução Normativa (IN) nº 4/2000 - Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Linguiça estabelece que a linguiça é o produto cárneo industrializado, obtido de carnes das diferentes espécies de animais de açougue e sal, podendo ser composta também por gordura, água, proteína vegetal e/ou animal, açúcares, aromas, especiarias e condimentos. Deve ser embutida em envoltório natural ou artificial e submetida ao processo tecnológico adequado. Na linguiça frescal é proibido o uso de carne mecanicamente separada (BRASIL, 2000).

As características físico-químicas exigidas pela legislação brasileira para as linguiças frescas são: teor mínimo de proteína 12 % e teores máximos de umidade, gordura e cálcio (base seca) de 70 %, 30 % e 0,1 %, respectivamente (BRASIL, 2000).

O processo de fabricação de linguiças frescas inclui as seguintes etapas: seleção das matérias-primas e ingredientes, moagem das carnes e gorduras, pesagem dos ingredientes, preparo da salmoura, preparo da massa, embutimento, pesagem, embalagem e congelamento (FEINER, 2006).

As linguiças frescas não passam por tratamento térmico prévio à comercialização. O processo térmico é realizado na casa do consumidor ou na cozinha do restaurante, onde normalmente o produto é assado, grelhado ou cozido (FEINER, 2006).

Apesar das linguiças serem congeladas nas indústrias, sua comercialização nos pontos de venda é, em sua maioria, na forma refrigerada e a granel. Quando vendidas congeladas, são comumente descongeladas à temperatura ambiente ou em refrigerador antes do preparo (FEINER, 2006).

Dadas as etapas do processo de fabricação das linguiças frescas, especialmente a moagem, mistura e embutimento, e a condição de armazenamento nos pontos de venda, em balcões expositores refrigerados, com elevada exposição à luz e ao oxigênio, a qualidade sensorial das linguiças frescas pode ser comprometida.

Os processos oxidativos ocasionam a formação de compostos que alteram o sabor e odor do produto, além de afetar a sua coloração. Esses parâmetros são critérios frequentemente levados em consideração no momento da decisão da compra pelos consumidores.

Dessa forma, é necessário que sejam adotadas medidas para controle da oxidação lipídica nas linguiças frescas. O emprego de antioxidantes é uma alternativa eficaz para controle da oxidação e extensão da vida de prateleira desse produto.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 AMOSTRAS

A semente de uva Niágara rosada (*Vitis labrusca*) foi fornecida por um produtor de vinho artesanal, do município de Toledo, Paraná, e são provenientes da colheita de 2020. As sementes foram separadas após passarem pelo processo de fermentação do vinho, foram secas e armazenadas à temperatura ambiente em embalagem plástica à vácuo.

O extrato de semente de uva foi obtido conforme metodologia descrita por Dalposso et al., (2021). As sementes de uva foram acondicionadas em congelador vertical a -20 °C antes da moagem, que foi realizada em moinho de facas, com peneiras de 20 mesh. Em seguida, foram pesados 10,0 gramas da amostra moída e foram adicionados 100,0 mL da solução de etanol, acetona e água destilada, nas proporções de 48%:14%:38% (v/v/v). Os erlenmeyers foram vedados com rolha para minimizar a perda de solventes, e posicionados na mesa agitadora orbital, ao abrigo da luz, à 45,0 °C, durante 4 horas, com agitação de 250 rpm, para extração dos compostos de interesse. Posteriormente, o extrato foi filtrado à vácuo, em papel qualitativo, e então, foi levado ao evaporador rotativo, à 45,0 °C, sob pressão de vácuo de 650 mmHg, para remoção dos solventes. Por fim, foi injetado gás nitrogênio no extrato até completa retirada do solvente residual e esse foi armazenado ao abrigo da luz, à -20,0 °C, até o momento das análises.

O extrato comercial de alecrim (GNutra) é composto pelo extrato natural de alecrim padronizado (3,5 %), óleo de girassol e propilenoglicol. A mistura de tocoferóis comercial (BTSA) apresenta o mix de tocoferóis (α , β , δ e γ -tocoferol) e óleo de soja em sua composição. O padrão sintético BHA (Danisco) é veiculado em óleo vegetal. Todos os antioxidantes foram fornecidos por uma empresa frigorífica situada no oeste do Paraná.

Os antioxidantes, as matérias-primas cárneas e os ingredientes utilizados na elaboração da linguiça frescal também foram cedidos pela empresa frigorífica.

4.2 REAGENTES E PADRÕES

Metanol (Alphatec 99,5 % P.A.), acetona (Alphatec 99,5 % P.A.), butilhidroxianisol (IFF), éter de petróleo (Anidrol - P.A.) acetato de sódio (Alphatec 99% P.A), reagente Folin-Ciocalteu (Dinâmica), carbonato de sódio (Dinâmica), iso-octano (Dinâmica), ácido fosfórico (Merck), álcool etílico 99,5 % (Alphatec P.A), éter (Alphatec P.A), iodeto de potássio (Neon), ácido 2-tiobarbitúrico – TBA (Exodo P.A), ácido tricloroacético (Dinâmica P.A). Os padrões utilizados foram 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), (S)-6-metoxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico (Trolox), sulfato ferroso e ácido gálico, da marca Sigma-Aldrich.

4.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

4.3.1 Capacidade de captura do radical DPPH

A determinação da capacidade de captura do radical DPPH pelos extratos de alecrim e semente de uva, pela mistura de tocoferóis e pelo BHA foi realizada conforme modificações propostas por Boroski et al. (2015) ao método descrito por Bondet, Brand-Williams e Berset (1997).

O extrato de alecrim, o extrato de semente de uva, a mistura de tocoferóis e o BHA foram diluídos em metanol, perfazendo as concentrações de 25 mg/L, 2,5 mg/mL, 2,5 mg/mL e 0,25 mg/mL, respectivamente. Foram pipetados 50 µL dessas soluções em tubos de ensaio e acrescentados 3,0 mL de solução metanólica de DPPH (0,1192 mmol/L). Os tubos foram agitados em vórtex e mantidos em repouso, ao abrigo da luz, por 30 minutos. Em seguida, foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro UV-VIS (PG Instruments Ltda, Modelo T 80+), no comprimento de onda de 517 nm. As análises foram conduzidas em triplicata e os resultados foram calculados a partir de uma curva padrão ($R^2 = 0,9977$) de Trolox (0 a 1500 µmol/L) e expressos em µmol de equivalente Trolox por grama de extrato (µmol ET/g extrato).

4.3.2 Teor de compostos fenólicos totais

A determinação do teor de compostos fenólicos totais foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu, especificado por Singleton e Rossi (1965) com adaptações. Inicialmente, foram preparadas soluções metanólicas dos extratos de alecrim e uva, da mistura de tocoferóis e do BHA, nas concentrações de 25 mg/mL, 2,5 mg/mL, 2,5 mg/mL e 1,5 mg/mL, respectivamente. O reagente Folin-Ciocalteu foi diluído em água milli-Q, na proporção de 1:1 (v/v) e foi preparada também uma solução saturada de carbonato de sódio. As soluções finais foram preparadas adicionando 250 µL dos extratos, 250 µL do reagente Folin-Ciocalteu, 500 µL da solução de carbonato de sódio e 4,0 mL de água milli-Q. Os tubos de ensaio foram agitados em vórtex e mantidos em repouso, na ausência de luz, por 25 minutos, em temperatura ambiente. Em seguida, foram centrifugados por 10 minutos a 3000 rpm e as soluções foram lidas em espectrofotômetro UV-VIS (PG Instruments Ltda, Modelo T 80+) a 725 nm, em triplicata. Os resultados foram calculados por meio da curva padrão ($R^2 = 0,9992$) de ácido gálico (0 a 200 mg/L) e expressos em mg de equivalente ácido gálico por grama de extrato (mg EAG/g de extrato).

4.3.3 Poder de redução pelo método FRAP (Ferric Reducing Ability Power)

A avaliação do poder de redução pelo método FRAP foi conduzido conforme metodologia proposta por Benzie e Strain (1996) e adaptada por Dalposso (2018). O reagente FRAP foi elaborado a partir da mistura de 100 mL de solução tampão de acetato de sódio (300 mmol/L), 10 mL de solução 2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazina (TPTZ – 10 mmol/L) e 10 mL da solução de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (20 mmol/L). Foram adicionados aos tubos de ensaio 3 mL do reagente FRAP, pré-aquecido a 37,0 °C, 100 µL das soluções dos antioxidantes, previamente preparadas em água milli-Q (extrato de alecrim – 10 mg/mL, extrato de semente de uva – 1,0 mg/mL, mistura de tocoferóis – 1,0 mg/mL e BHA – 0,5 mg/mL) e 300 µL de água milli-Q. A solução resultante foi homogeneizada em vórtex e mantida em banho-maria a 37,0 °C por um período de 40 minutos. Finalmente, foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro UV-

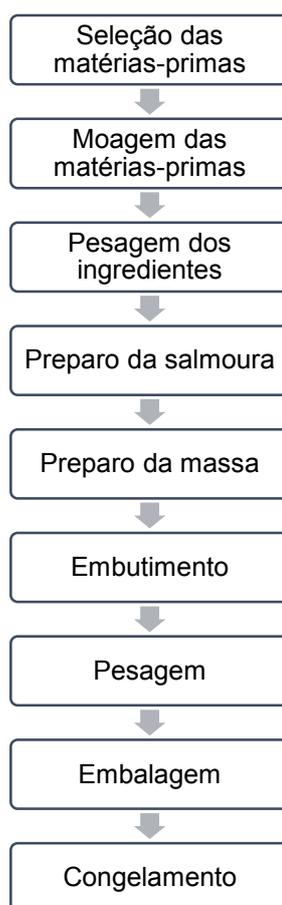
VIS (PG Instruments Ltda, Modelo T 80+), no comprimento de onda de 593 nm, em triplicata. Foi construída uma curva padrão a partir de concentrações conhecidas de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0 a 1500 $\mu\text{mol/L}$, $R^2 = 0,9917$) e os resultados foram expressos em μmol de equivalente sulfato ferroso/grama de extrato ($\mu\text{mol EFeSO}_4/\text{g extrato}$).

4.4 PREPARO DAS LINGUIÇAS FRESCAIS

O pernil e o toucinho suínos foram armazenados em câmara de resfriamento (4,0 °C) até o momento do uso, 6 dias após a data do abate. A matéria-prima cárnea e o toucinho foram moídos em moedor e transferidos para o misturador de pás, onde foi adicionada a salmoura, na temperatura de 4,0 °C, previamente preparada com água, sal, açúcar, condimentos, aditivos e os antioxidantes BHA, extrato de semente de uva ou mistura de tocoferóis, nas concentrações de 0,01 %, 0,027 % e 0,024 %, respectivamente. As concentrações dos antioxidantes foram definidas com base nos resultados de teor de compostos fenólicos e nos limites máximos previstos na legislação para cada composto. Também foi preparada uma amostra controle, sem adição de antioxidantes.

A massa foi homogeneizada por 2 minutos e embutida em tripa natural, em gomos de aproximadamente 100 gramas. As linguiças foram embaladas em sacos plásticos transparentes de polietileno de baixa densidade, sem barreira à luz e permeável à gases, selados em seladora manual, e armazenadas à -12,0 °C até o início das análises. A figura 9 apresenta o fluxograma do processo de fabricação das linguiças. Previamente à realização das análises, as amostras foram retiradas das tripas após o descongelamento.

Figura 9: Processo de produção de linguiças frescas



Fonte: Autoria própria.

4.5 CARACTERIZAÇÃO DAS LINGUIÇAS FRESCAIS

As análises de caracterização do teor de umidade, proteínas, lipídios e cinzas das amostras de linguiças frescas foram conduzidas de acordo com as metodologias descritas em ISO 1442 (1997), ISO 1871 (2009), AOAC (2019), e ISO 936 (1998), respectivamente. A análise do pH foi realizada utilizando um pHmetro manual com eletrodo de penetração. Foram medidos três pontos em cada amostra de teste no tempo zero, sendo o resultado a média das três medidas.

4.6 MONITORAMENTO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA

O monitoramento da estabilidade oxidativa foi conduzido com as amostras em geladeira, à temperatura de 4,0 °C, nos tempos 0, 4, 7, 11 e 15 dias, sob incidência de luz. A iluminação foi gerada por um refletor de LED JC-FL02 ECO de 20 W, da marca JNG, que gerou um fluxo luminoso de 1400 lm sobre as amostras.

4.6.1 Rancidez qualitativa

Para avaliação qualitativa da rancidez das amostras com 0, 4, 7, 11 e 15 dias de vida de prateleira, foram preparadas soluções de floroglucina em éter à 0,1 % e uma solução de éter de petróleo e éter etílico, nas proporções de 1:1. Uma amostra de 100g de linguiça foi pesada e misturada à 200 mL da solução de éteres para extração da gordura. O extrato foi filtrado em papel filtro com 10g de sulfato de sódio para cada 300 mL de extrato. O solvente foi evaporado em banho-maria. Em seguida, foram pipetados 5 mL da gordura e adicionados 5 mL de ácido clorídrico e agitado por 30 segundos. Foram, então, adicionados 5 mL de da solução de floroglucina em éter e agitado por 30 segundos. A amostra permaneceu em repouso por 10 minutos e avaliou-se a formação de coloração rósea/avermelhada na camada inferior (ADOLFO LUTZ, 2008). Os resultados foram expressos como positivo ou negativo para a formação de coloração rósea/avermelhada.

4.6.2 Índice de peróxidos

As amostras com 0, 4, 7, 11 e 15 dias de vida de prateleira foram homogeneizadas e pesados 100 g para extração de gordura. Em seguida, foram adicionados 200 mL de éter de petróleo e agitado. Após 20 minutos, o sobrenadante foi coletado, filtrado em papel filtro e o excesso de solvente foi evaporado em banho maria.

Foram pesados 5,0 g das amostras em frasco erlenmeyer e adicionou-se 50 mL da solução de ácido acético e iso-octano previamente preparada,

agitando até completa dissolução. Na sequência, foi adicionado 0,5 mL de solução saturada de iodeto de potássio e agitado por 1 minuto ao abrigo da luz. Após repouso adicionou 100 mL de água destilada e iniciou-se a titulação com a solução tiossulfato de sódio 0,01 mol/L até mudar a coloração amarelo alanjada para amarela claro e adicionou-se 0,5 mL da solução indicadora de amido a 1% e seguiu-se a titulação com tiossulfato até o completo desaparecimento da coloração violeta. O procedimento foi executado conforme metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), com adaptações. Os resultados foram calculados conforme equação 1:

$$\text{Índice de peróxidos} \left(\frac{mEq}{kg} \right) = \frac{(A-B) \times N \times f \times 1000}{P} \quad (1)$$

A = número de mL da solução de tiossulfato de sódio 0,01 mol/L gasto na titulação da amostra;

B = número de mL da solução de tiossulfato de sódio 0,01 mol/L gasto na titulação do branco;

N = normalidade da solução de tiossulfato de sódio;

f = fator da solução de tiossulfato de sódio;

P = número de gramas da amostra.

4.6.3 Índice de acidez

As amostras com 0, 4, 7, 11 e 15 dias de vida de prateleira, foram homogeneizadas e amostras de 5,0 g foram pesadas e transferidas para erlenmeyeres de 125 mL. Adicionou-se 50 mL da solução de éter-álcool (2:1) previamente preparada e manteve-se em agitação por 2 horas. A solução foi filtrada em papel filtro e foram adicionadas duas gotas do indicador de fenolftaleína 1 %. Em seguida, titulou-se com solução de hidróxido de potássio 0,1 mol/L até o aparecimento da coloração rósea persistente por 30 segundos, conforme metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), com adaptações. Os resultados foram calculados conforme equação 2.

$$\% \text{ Acidez} = \frac{V \times M \times F \times 100}{P} \quad (2)$$

V = volume de NaOH gasto na titulação;
M = molaridade da solução de NaOH utilizada na titulação;
F = fator de correção da solução da NaOH;
P = peso em gramas da amostra.

4.6.4 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

O monitoramento de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico foi realizado de acordo com os procedimentos estabelecidos por Raharjo, Sofos e Schmidt (1992) e modificado por Wang et al. (2006). As análises foram conduzidas nos tempos 0, 4, 7, 11 e 15 dias, em triplicata.

Foram pesados 5 g de cada amostra e misturados com 0,5 mL de BHT (diterc-butil metil fenol) 0,5 %. Na sequência, foram adicionados 18 mL de TCA (ácido tricloroacético) 5 % e homogeneizado. As amostras foram, então, centrifugadas por 10 minutos à 3000 rpm e o sobrenadante foi filtrado.

Foram retirados 2 mL da solução filtrada, onde adicionou-se 2 mL de TBA (ácido 2-tiobarbitúrico) 0,08 M e a reação foi conduzida em banho-maria à 100 °C por 15 minutos. Após o resfriamento da solução, as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico foram medidas em espectrofotômetro UV-VIS (PG Instruments Ltda, Modelo T 80+), a 531 nm.

Uma curva padrão foi construída a partir de concentrações conhecidas do 1,1,3,3-tetraetoxipropano – TEP (0 a 60,0 µmol/L) e os resultados foram expressos como mg de malonaldeído/kg amostra.

4.6.5 Perfil de ácidos graxos

A extração dos lipídios foi realizada conforme método proposto por Bligh e Dyer (1959). Dos pacotes de linguiça frescal expostos à luz durante armazenamento resfriado à 4,0 °C, foram retirados gomos de linguiça para realização das análises em cada tempo (0, 4, 7, 11 e 15 dias). A massa da linguiça foi removida da tripa e homogeneizada. Em seguida, foram separadas

amostras com massa entre 2,0 e 2,5 g. As amostras foram, então, transferidas para béqueres, onde foram adicionados 10 mL de clorofórmio, 20 mL de metanol e 10 mL de água destilada. Os béqueres foram tampados com papel parafilme e as amostras agitadas por 30 minutos em mesa agitadora. Depois, foram adicionados 10 mL de clorofórmio e 10 mL de solução de sulfato de sódio 1,5 %. Os béqueres foram novamente tampados e agitados por mais 2 minutos. Em seguida, foram deixados em descanso até que ocorresse a separação das fases. A camada superior foi descartada com o auxílio de uma pipeta Pasteur. Da camada inferior, foram retirados 15 mL e transferidos para tubo de centrífuga com tampa contendo aproximadamente 1 g de sulfato de sódio anidro. A solução foi agitada em vórtex por 1 minuto e filtrada em papel filtro. Uma alíquota de 5 ml foi retirada do filtrado e colocada em um béquer, o qual foi levado à estufa com temperatura de 105,0 °C por 45 minutos para evaporação completa do solvente.

A saponificação e transesterificação dos ácidos graxos foi realizada conforme metodologia de Hartman e Lago (1973), adaptado por Maia e Rodrigues-Amaya (1993).

Foram pesados cerca de 0,05 g da amostra em tubo de centrífuga e adicionados 4 mL da solução metanólica de hidróxido de potássio 0,5 M. O tubo foi fechado, agitado por 30 segundos em agitador tipo vórtex e levado ao banho-maria com temperatura entre 65,0 e 70,0 °C, por 5 minutos. Depois, o tubo foi resfriado rapidamente sob água corrente. Na sequência, foram adicionados 5 mL de solução esterificante, agitado por 30 segundos e aquecido novamente em banho-maria com temperatura entre 65,0 e 70,0 °C por mais 5 minutos.

Para o preparo da solução de esterificação foram pesados 24,0 g de cloreto de amônio e transferidos para um balão de fundo chato. Utilizando banho de gelo e capela de exaustão, foram adicionados cuidadosamente 36 mL de ácido sulfúrico concentrado e 720 mL de metanol. Foram utilizadas pérolas de vidro, condensador e chapa de aquecimento. A solução foi deixada sob refluxo até completa dissolução dos sais.

Posteriormente, o tubo foi resfriado sob água corrente. Em seguida, foram adicionados 4 mL de solução saturada de cloreto de sódio e agitado em vórtex por 30 segundos. Foram, então, adicionados 5 mL de éter de petróleo e

agitado novamente por 30 segundos. O tubo foi deixado em descanso até completa separação das fases. A fase superior foi transferida para vial com tampa.

Por último, os ésteres metílicos de ácidos graxos foram analisados em cromatógrafo gasoso (PerkinElmer, modelo Clarus 680), acoplado com detector de ionização de chama (CG-FID) e coluna capilar supelco SP 2560 (100 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,2 mm de recobrimento de filme). A coluna foi programada a uma temperatura de 110 °C até 215 °C a 5,0 °C/min. O fluxo do gás de arraste foi de 1 mL/min, foi utilizada chama composta por ar sintético e hidrogênio na proporção de 350:35 mL/min, com volume de injeção de 1 µL e a razão de divisão da amostra (Split) foi de 1:100, com temperatura do injetor de 250,0 °C e do detector a 280,0 °C. As leituras foram realizadas em duplicata.

Os picos foram identificados por comparação individual de tempo de retenção com os tempos obtidos para o mix de padrão contendo ésteres metílicos de ácidos graxos e suas áreas foram determinadas pelo software 5.51 da Workstation.

As áreas obtidas para cada pico foram calculadas em termos da área total de amostra, para expressar o resultado de teor de ácidos graxos em percentual, conforme a equação 3:

$$\% \text{ Composição de ácidos graxos} = \frac{\text{Área de cada ácido graxo}}{\text{Área total}} \quad (3)$$

4.6.6 Termogravimetria

As curvas termogravimétricas das amostras de linguiça frescal sem antioxidante e com adição de BHA, mistura de tocoferóis e extrato de semente de uva foram obtidas em um analisador térmico simultâneo (STA) 6000 - PerkinElmer. Os testes não isotérmicos foram realizados utilizando amostras de aproximadamente 10 mg, em cadinho de alumina, com atmosfera de oxigênio, fluxo de 20 ml/min, com razão de aquecimento de 10 °C/min, variando de 50 a 550 °C.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov & Liliefors. Em seguida, para os dados normais, foi conduzido o teste de Tukey e, para os dados não normais, foi realizado o teste de Kruskal-Wallis, ambos com nível de significância de 5%, por meio do programa Statistica versão 10.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante dos extratos vegetais e do composto sintético BHA foi avaliada pelas metodologias de capacidade de captura do radical DPPH, pelo teor de compostos fenólicos totais e pelo poder de redução do íon férrico. A tabela 1 apresenta os resultados para atividade antioxidante.

Tabela 1: Resultados obtidos para atividade antioxidante dos extratos naturais e do BHA

Análises	Extrato de alecrim	Mistura de tocoferóis	Extrato de semente de uva	BHA
DPPH ($\mu\text{mol ET/g amostra}$)	$33,36 \pm 0,10^a$	$472,89 \pm 10,42^b$	$275,71 \pm 2,03^b$	$1271,00 \pm 183,58^c$
Compostos Fenólicos (mg EAG/g amostra)	$4,10 \pm 0,19^a$	$30,48 \pm 0,13^b$	$27,40 \pm 0,25^c$	$72,68 \pm 1,14^d$
FRAP ($\mu\text{mol EFeSO}_4/\text{g amostra}$)	$125,82 \pm 3,15^a$	$1065,25 \pm 11,01^b$	$665,87 \pm 6,92^c$	$1446,11 \pm 41,68^d$

Médias \pm desvio padrão, seguidas de letras iguais em uma mesma linha, não diferem significativamente ($p < 0,05$) entre si pelo teste de Tukey. Análises realizadas em triplicatas. Fonte: autoria própria.

Houve diferença significativa entre os resultados de capacidade antioxidante do extrato de alecrim, da mistura de tocoferóis, do extrato de semente de uva e do BHA em todas as metodologias aplicadas, com exceção da mistura de tocoferóis e extrato de semente de uva na técnica de captura do radical DPPH.

As diferenças nas atividades antioxidantes dos extratos estão relacionadas às concentrações de compostos fenólicos totais e também pode ser explicada pelas diferentes classes de fenólicos que podem estar presentes nos extratos, visto que a atividade antioxidante é dependente da quantidade e da posição das hidroxilas na molécula (FUKUMOTO; MAZZA, 2000).

Ainda, os diferentes métodos empregados para obtenção dos extratos comerciais contribuem para a recuperação de variados compostos provenientes das matérias-primas naturais. Por isso, é necessário utilizar vários métodos para conhecer a capacidade antioxidante dos extratos estudados, que são ricos em compostos fenólicos com diferentes estruturas moleculares e que reagem de formas distintas dependendo da técnica utilizada para avaliação.

O extrato de alecrim foi o antioxidante natural que apresentou a menor capacidade de captura do radical DPPH (33,36 $\mu\text{mol ET/g}$ amostra) e de redução do ferro (125,82 $\mu\text{mol EFeSO}_4/\text{g}$ amostra), tendo apresentado resultados significativamente menores ($p < 0,05$) do que todos os outros antioxidantes. Esses resultados podem ser explicados pelo baixo teor de compostos fenólicos totais contidos nesta amostra (4,10 mg EAG/ g amostra), que são as substâncias responsáveis pela ação antioxidante.

O extrato de alecrim analisado apresentou resultados diferentes daqueles alcançados por Martínez et al (2019), que encontraram 88,76 % de atividade quelante do radical DPPH e 73,43 mg EAG/g amostra para o FRAP em amostras de extrato de alecrim, com teor de compostos fenólicos totais de 35,95 mg EAG/g e com lecitina como emulsificante. Saini et al (2020) obtiveram 136,66 \pm 7,41 mg EAG/g amostra para o teor de compostos fenólicos, FRAP 32,17 \pm 1,12 mg EAG/g amostra e 40,76 \pm 2,81 $\mu\text{g/ml}$ para a capacidade de captura do radical DPPH ao avaliar o extrato de alecrim bruto, produzido a partir da moagem das folhas, extração com solvente (70 % etanol) e concentração do extrato. Pereira et al. (2017) determinaram o teor de compostos fenólicos de 40,15 \pm 0,15 mg EAG/g amostra e 127,33 \pm 0,12 para o método de DPPH ($\mu\text{g/mL}$) EC50 para o extrato bruto, obtido a partir da extração das folhas moídas, com solvente 80 % de etanol (v/v).

Os resultados para o teor de compostos fenólicos totais obtidos nesse trabalho são menores do que os encontrados pelos autores acima citados, mas apesar disso, a capacidade de redução do íon férrico foi maior. Essa variação nos resultados das análises de potencial antioxidante pode ser explicada por concentrações diferentes do ácido rosmarínico e diterpenos (ácido carnósico e carnosol) presentes em cada extrato analisado, que pode ser decorrente das condições de solo e climáticas, onde o alecrim foi cultivado, bem como condições pós-colheita. Ainda, os métodos de extração e concentrações dos

solventes utilizados podem impactar na separação dos compostos ativos da planta (DEL RÉ; JORGE, 2012). De fato, observa-se uma variabilidade grande entre os resultados de teor de compostos fenólicos totais nos trabalhos publicados.

Além disso, o extrato de alecrim comercial passa por etapas de purificação, que visam remover compostos flavorizantes como os monoterpenos, que podem impactar no perfil sensorial dos produtos (AMARAL; SOLVA; LANNES, 2018; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Com isso, pode haver a perda de alguns compostos bioativos, quando comparados aos extratos brutos.

Ademais, para aplicações industriais, o extrato é veiculado em óleo vegetal e, por isso, estima-se que seja necessário trabalhar com uma concentração maior do extrato puro para obtenção de resultados mais expressivos.

Os resultados obtidos evidenciaram ainda que, depois do padrão sintético BHA, a mistura de tocoferóis foi a que apresentou o maior teor de compostos fenólicos e os melhores resultados para as análises de DPPH e FRAP, seguida do extrato de semente de uva. Um fator que pode ter ocasionado o melhor desempenho da mistura de tocoferóis e do extrato de semente de uva em termos de atividade antioxidante frente ao extrato de alecrim comercial, é que ambos são extratos brutos, não tendo passado por etapas de purificação. Estévez (2021) enfatizou que materiais vegetais e seus extratos brutos apresentam ação antioxidante mais expressiva e consistente do que extratos processados. O autor explica que esses materiais brutos contêm uma mistura complexa de compostos bioativos naturalmente presentes nas fontes naturais, que atuam por meio de diferentes mecanismos, resultando em um efeito protetivo biológico mais eficiente na matriz cárnea.

Embora o teor de compostos fenólicos dos tocoferóis e do extrato de semente de uva sejam próximos, a atividade antioxidante dos tocoferóis pelo método FRAP foi cerca de duas vezes maior do que a do extrato de semente de uva. Não houve diferença significativa entre as amostras para a análise de DPPH.

Sabe-se que a amostra de mistura de tocoferóis comercial analisada foi produzida a partir da destilação do óleo de soja e apresenta cerca de 82 %

desse óleo em sua composição. Shahidi, Janitha e Wanasundara (1992) indicaram que o óleo de soja contém, além dos tocoferóis, outros compostos fenólicos que possuem atividade antioxidante, dentre eles, os ácidos vanílico, cafeico, ferúlico e cumárico, o que pode explicar a maior atividade antioxidante dessa mistura frente ao extrato de semente de uva.

Paula et al. (2021) avaliaram o teor de compostos fenólicos do óleo de soja e obtiveram o resultado de 29,14 mg EAG/g óleo, o qual corrobora o valor de compostos fenólicos encontrado nesse estudo para a mistura de tocoferóis, que foi de 30,48 mg EAG/g extrato.

Pereira et al. (2017) avaliaram também a atividade antioxidante do α -tocoferol comercial, que apresentou $61,22 \pm 0,06 \mu\text{g/mL}$ para o método de DPPH EC_{50} e $1328,80 \pm 22,09 \mu\text{mol Fe}^{+2}/\text{g}$ para o FRAP, resultado similar ao obtido para o mix de tocoferóis analisado nesse estudo. As variações podem estar relacionadas à composição dos ingredientes comerciais, como concentração e composição dos tocoferóis e veículo utilizado.

Os resultados obtidos para o extrato de semente de uva, por sua vez, diferem daqueles obtidos por Dalposso et al. (2021) – compostos fenólicos de 179,97 mg EAG/ g extrato, FRAP 3449,33 $\mu\text{mol EFeSO}_4/ \text{g}$ extrato e DPPH 1144,00 $\mu\text{mol TE/g}$ extrato-; por Casarotto (2013) – compostos fenólicos de 9670,1 mg EAG/L extrato e 83,3 % de inibição do DPPH-; e, por Shirahigue et al. (2010) – compostos fenólicos de 430,55 mg EAG/100 g extrato. As diferenças entre os resultados obtidos nos diversos trabalhos podem ser explicadas pelas variedades de uvas analisadas serem diferentes (Bordô, Merlot, Isabel e Niágara), bem como processos distintos de fermentação do vinho adotados pelos produtores. Além disso, o método adotado para obtenção dos extratos pode impactar na eficiência da extração dos compostos ativos (CASAROTTO, 2013; DALPOSSO et al., 2021). Ainda, durante o armazenamento das amostras, pode ocorrer a degradação dos compostos antioxidantes presentes nas sementes de uva, resultando na redução da atividade antioxidante (CARVALHO, 2020).

Por fim, pode-se afirmar que o extrato de alecrim demonstrou a menor capacidade antioxidante, quando comparado aos demais antioxidantes, nos métodos avaliados. Portanto, não foi utilizado nos estudos posteriores. Ademais, dada a pureza do aditivo sintético, foi verificada diferença significativa

entre os resultados de DPPH, compostos fenólicos e FRAP do extrato de semente de uva e da mistura de tocoferóis em relação ao BHA. Contudo, esses extratos naturais demonstraram resultados promissores e, dessa forma, optou-se por aplicá-los em linguiças frescas e estudar sua eficiência contra a oxidação lipídica, em comparação com o sintético. Para tanto, partiu-se da concentração máxima permitida de BHA em produtos cárneos, igualando-se o teor de compostos fenólicos totais aos dos antioxidantes naturais.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS LINGUIÇAS FRESCAIS

Os resultados das análises de composição centesimal (umidade, proteínas, lipídios e cinzas) das amostras de linguiças frescas podem ser observados na tabela 2.

Tabela 2: Média da composição centesimal das amostras de linguiças frescas

Amostras	Umidade (%)	Gordura (%)	Proteína (%)	Cinzas (%)
Controle	69,57 ± 0,3 ^a	10,43 ± 0,25 ^a	17,24 ± 0,42 ^a	2,84 ± 0,12 ^{ab}
BHA	69,20 ± 0,36 ^a	10,00 ± 0,61 ^a	17,44 ± 0,43 ^a	2,93 ± 0,19 ^b
Mistura de tocoferóis	69,63 ± 1,01 ^a	10,30 ± 0,82 ^a	17,80 ± 0,87 ^a	2,91 ± 0,18 ^b
Extrato de semente uva	70,00 ± 0,06 ^a	9,53 ± 0,35 ^a	17,50 ± 0,32 ^a	2,49 ± 0,12 ^a

Médias dos resultados de composição centesimal ± desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa a $p > 0,05$ avaliada pelo Teste de Tukey. Fonte: autoria própria.

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) de Linguiças estabelece que as linguiças frescas devem conter um teor mínimo de proteína de 12 % e teores máximos de umidade e gordura de 70 % e 30 % respectivamente (BRASIL, 2000). Sendo assim, as amostras de linguiça elaboradas para avaliação da estabilidade oxidativa pelo uso de antioxidantes sintético e natural estão de acordo com o previsto pela legislação vigente.

A adição dos extratos naturais e do BHA não interferiu nos principais parâmetros de composição das linguiças frescas, previstos no RTIQ, visto que

não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre os resultados das amostras para umidade, gordura e proteínas.

Em contrapartida, o teor de cinzas das amostras tratadas com o extrato de semente de uva diferiu significativamente ($p < 0,05$) do resultado exibido pelas amostras em que foram aplicados o BHA e a mistura de tocoferóis, sendo o menor percentual dentre eles.

A tabela 3 apresenta os resultados de pH das amostras de linguiça determinados no tempo zero.

Tabela 3: Média de pH das amostras de linguiças frescas

Amostras	pH
Controle	6,19 ^a
BHA	6,19 ^a
Mistura de tocoferóis	6,22 ^a
Extrato de semente uva	6,21 ^a

Letras iguais indicam que não há diferença significativa a $p > 0,05$ no teste de Tukey. Fonte: autoria própria.

Os valores de pH obtidos para as amostras adicionadas dos diferentes antioxidantes não apresentaram diferença significativa, evidenciando que os antioxidantes não influenciaram no pH das linguiças frescas. Os valores de pH em torno 6,20 estão próximos ao pH da carne e similares aos valores encontrados por Pires (2014), que variaram de 5,97 a 6,03.

5.3 MONITORAMENTO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA

A oxidação lipídica é uma das principais causas de deterioração da qualidade da carne e de produtos cárneos (DOMÍNGUEZ et al., 2019). Por isso, o emprego de ingredientes que reduzam a velocidade dessas reações e o monitoramento do estado de oxidação dos lipídios é essencial para garantir a qualidade dos produtos comercializados.

Existem diversos métodos disponíveis para acompanhamento da estabilidade oxidativa de alimentos, sendo que cada um fornece informações

sobre uma etapa do processo oxidativo e podem estar relacionados a avaliação dos substratos lipídicos ou dos produtos de oxidação, à condições aplicadas ao sistema, dentre outros fatores (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

Nesse estudo, a estabilidade oxidativa das linguiças frescas foi avaliada por meio das técnicas de rancidez qualitativa, índice de peróxidos, índice de acidez, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), acompanhamento do perfil de ácidos graxos e termogravimetria.

5.3.1 Rancidez qualitativa

As amostras com os diferentes tratamentos foram avaliadas qualitativamente pelo método de rancidez oxidativa nos tempos 0, 4, 7, 11 e 15 dias de armazenamento resfriado (4,0 °C), sob incidência de luz.

As análises apresentaram resultado negativo, ou seja, em nenhum dos pontos avaliados houve a formação da coloração rósea/avermelhada característica da reação de Kreis.

Nessa técnica, o floroglucinol reage em meio ácido com os produtos de oxidação dos triglicerídeos (epoxialdeídos ou os seus acetais), resultando em composto de coloração rósea/avermelhado, cuja intensidade é proporcional à oxidação (ADOLFO LUTZ, 2008; SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

Os resultados negativos podem estar relacionados à formação de diferentes produtos de oxidação lipídica ou ainda à sua reação com outros compostos presentes no meio, como outros aditivos alimentares.

5.3.2 Índice de peróxidos

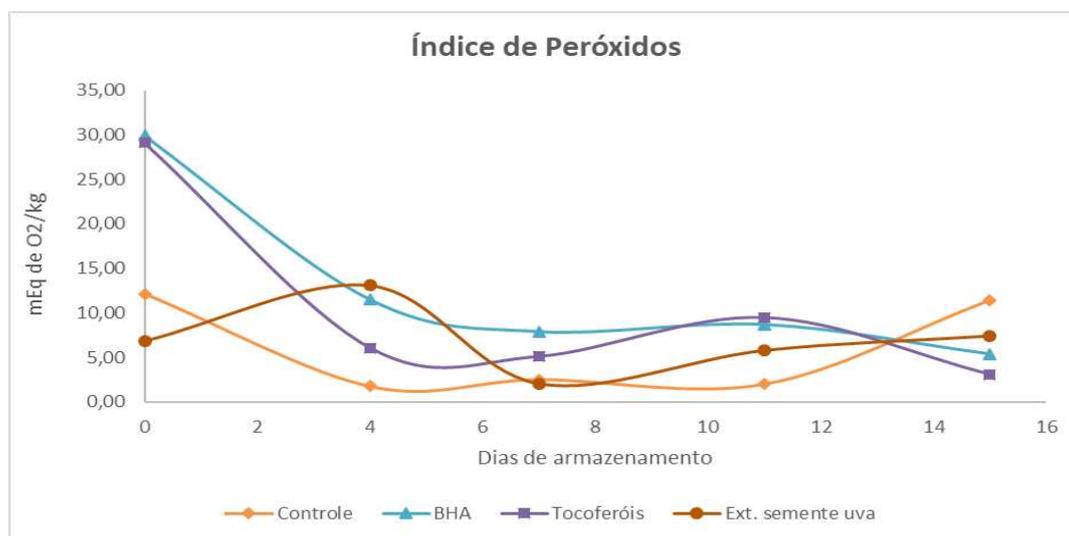
As amostras de linguiça frescal controle (sem adição de antioxidantes), com BHA, com mistura de tocoferóis e com o extrato de semente de uva foram analisadas nos tempos 0, 4, 7, 11 e 15 dias de armazenamento resfriado (4,0 °C), sob incidência de luz, para determinar o índice de peróxidos. Os resultados estão expressos na tabela 4 e na figura 10.

Tabela 4: Média dos índices de peróxidos durante o estudo de *shelf-life*

Amostra	Tempo de armazenamento (dias) a 4,0 °C				
	0	4	7	11	15
Controle	12,10 ^{aA} ± 0,17	1,75 ^{aB} ± 0,15	2,50 ^{bAB} ± 0,0	2,00 ^{aAB} ± 0,40	11,40 ^{dAB} ± 0,0
BHA	29,90 ^{bA} ± 3,40	11,50 ^{cAB} ± 0,00	7,90 ^{dAB} ± 0,0	8,70 ^{cAB} ± 1,70	5,40 ^{bB} ± 0,0
Mistura de tocoferóis	29,10 ^{bA} ± 2,60	6,05 ^{bAB} ± 0,05	5,10 ^{cAB} ± 0,0	9,47 ^{cAB} ± 0,50	3,07 ^{aB} ± 0,06
Extrato de semente de uva	6,85 ^{aA} ± 0,75	13,10 ^{cAB} ± 2,20	2,03 ^{aAC} ± 0,06	5,80 ^{bA} ± 0,00	7,43 ^{cA} ± 0,02

Médias ± desvio padrão, seguidas de letras iguais em uma mesma coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey. Letras maiúsculas diferentes em uma mesma linha indicam diferença estatística pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). Letras minúsculas diferentes em uma mesma coluna indicam diferença estatística pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). Análises realizadas em triplicatas. Fonte: autoria própria.

Figura 10: Médias do índice de peróxidos ao longo do período avaliado



Fonte: Autoria própria, 2022.

A formação dos hidroperóxidos se dá a partir de um complexo processo em que os ácidos graxos insaturados reagem com o oxigênio molecular por meio de iniciadores, que formam radicais livres. Na etapa de propagação, ocorre uma série de reações em cadeia, por interações lipídio-lipídio resultando em uma ampliação da formação de radicais. O radical peroxi extrai um

hidrogênio de um lipídio adjacente, formando um hidroperóxido (AMARAL; SOLVA; LANNES, 2018). Esses, por sua vez, são altamente instáveis e se decompõem em outros compostos como aldeídos, cetonas e álcoois, que são os responsáveis pelas alterações de sabor e odor (CHENG, 2016).

Os principais contribuintes para a decomposição de hidroperóxidos lipídicos em alimentos são o ferro heme e não heme (ERICKSON, 2002). O ferro heme está presente nas linguças frescas e é liberado durante o processo de corte e moagem da carne, podendo, portanto, agir como acelerador da decomposição dos hidroperóxidos. O íon ferro reage com os hidroperóxidos, doando um elétron e, conseqüentemente, ocasionando a sua fragmentação em radicais livres.

Como essas são reações de alta complexidade e podem ser impactadas por diversos fatores como presença de luz, oxigênio e íons metálicos, podem ocorrer variações nos resultados do índice de peróxido, como as observadas nesse trabalho. Os índices de peróxidos maiores no início do estudo indicam que as reações de oxidação possivelmente já haviam iniciado nas etapas anteriores, de obtenção da matéria-prima e fabricação da linguça.

Entre o quarto e o décimo primeiro dia de armazenamento das amostras, houve uma certa estabilidade nos resultados de índice de peróxidos, indicando um equilíbrio entre as taxas de formação e decomposição dos peróxidos, com pequenos aumentos e decréscimos dos valores para peróxidos, com exceção da amostra contendo extrato de semente de uva, que apresentou variações representativas entre os tempos 4 e 7 dias.

Casarotto (2013) explica que o incremento do índice de peróxido deve-se, provavelmente, a uma taxa de formação de peróxidos superior à de degradação. Já a queda nos teores de peróxidos está relacionada à decomposição dos hidroperóxidos em outros compostos (FEINER, 2006). Durante o período avaliado (0 a 15 dias), foi verificada uma redução significativa, de cerca de 80 %, no índice de peróxidos para as amostras com BHA e tocoferóis.

Bertolin et al. (2011) acompanharam o índice de peróxidos para amostras de charques adicionadas de antioxidantes naturais e também observaram posterior redução dos peróxidos, evidenciando a degradação destes em produtos secundários da oxidação, como aldeídos, cetonas e

álcoois. Naquele estudo, o antioxidante sintético BHT (adição de 0,01 %) foi o que apresentou o maior poder de inibição da formação de peróxidos e, dentre os naturais, o α -tocoferol (adição de 0,03 %), foi o que apresentou menor capacidade de inibição.

Analogamente, Casarotto (2013) verificou o aumento seguido do decréscimo do índice de peróxido em salsichas ao longo do período avaliado. A autora observou que os antioxidantes naturais (extrato de resíduos de uva e cervejaria) apresentaram menores índices de peróxidos somente em períodos específicos de vida de prateleira, assim como nesse trabalho.

Nos tempos 4, 7 e 15 dias, a amostra com mistura de tocoferóis apresentou índices de peróxidos significativamente ($p < 0,05$) menores do que a amostra contendo o BHA. Sendo assim, pode-se inferir que a mistura de tocoferóis apresentou um efeito antioxidante importante nas etapas iniciais da oxidação lipídica.

5.3.3 Índice de acidez

Sabe-se que os ácidos graxos na forma livre podem ocasionar situações indesejadas nos alimentos, pois são responsáveis pela produção de odores desagradáveis (por exemplo, ácidos graxos de cadeia longa que geram sabor de sabão), redução da estabilidade oxidativa, e podem levar à formação de espuma (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Por isso, foram conduzidas análises de índice de acidez nos tempos 0, 4, 7, 11 e 15 dias de armazenamento resfriado das amostras de linguiça frescal. Os resultados estão expressos na tabela 5.

Tabela 5: Médias dos resultados de índice de acidez (%) nas amostras de linguiça frescal

Amostra	Tempo de armazenamento (dias) a 4,0 °C				
	0	4	7	11	15
Controle	5,06 ^{ba} ± 0,11	4,00 ^{aAB} ± 1,01	4,83 ^{ca} ± 0,0	4,49 ^{ab} ± 0,86	4,85 ^{aA} ± 0,12
BHA	4,08 ^{abA} ± 0,88	4,76 ^{aA} ± 0,63	4,62 ^{ba} ± 0,12	4,47 ^{aA} ± 0,44	4,92 ^{aA} ± 0,12
Mistura de tocoferóis	4,31 ^{aA} ± 0,59	4,44 ^{aAC} ± 0,32	5,47 ^{dBD} ± 0,0	4,72 ^{aC} ± 0,27	5,34 ^{bd} ± 0,01
Extrato de semente de uva	4,56 ^{abA} ± 0,22	4,25 ^{aA} ± 0,35	3,97 ^{ab} ± 0,0	4,06 ^{ab} ± 0,12	6,74 ^{cC} ± 0,12

Médias ± desvio padrão, seguidas de letras minúsculas iguais em uma mesma coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras maiúsculas diferentes em uma mesma linha indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Análises realizadas em triplicatas. Fonte: autoria própria.

Os resultados de índice de acidez ao final do período avaliado variaram entre 4,85 e 6,74 % para as amostras de linguiça frescal controle e com inclusão de antioxidantes à formulação. Kaipers (2017) encontrou valores similares de acidez após 15 dias de armazenamento de linguiças coloniais adicionadas de extrato de alecrim e eritorbato de sódio, com a acidez variando de 3,5 a 6,0 %.

Verificou-se um aumento no índice de acidez entre o tempo 0 e o 15º dia de estudo de vida prateleira para as amostras contendo a mistura de tocoferóis e o extrato de semente de uva. Da mesma forma, Singh et al. (2018) verificaram que o período de armazenamento resultou em aumento significativo de ácidos graxos livres quando comparado do tempo inicial ao 12º dia de armazenamento em amostras de fatias de vitela de búfalo tratadas com extrato de semente de uva (adição de 0,1 - 0,2 %).

Esse aumento no índice de acidez é explicado pelo avanço das reações de rancidez hidrolítica, que aumenta o teor de ácidos graxos livres no alimento. A rancidez hidrolítica é resultado da hidrólise da ligação éster por enzimas lipase ou agentes químicos (ácidos/bases) que, na presença de umidade, rompem a ligação éster dos lipídios, liberando ácidos graxos, que podem ser saturados e insaturados (FIB, 2014).

A hidrólise de triacilgliceróis também pode ocorrer em elevadas temperaturas e em valores extremos de pH, porém, no caso desse estudo, as amostras de linguiça não passaram por tratamento térmico e apresentaram pH próximo ao pH da carne.

A tendência de aumento do índice de acidez está relacionada, portanto, ao rompimento das estruturas celulares, mecanismos de controle bioquímico e a liberação e ativação das lipases ao entrarem em contato com substratos lipídicos, durante os processos de obtenção da matéria-prima e fabricação das linguiças (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Além disso, o incremento no teor de acidez dos alimentos pode estar relacionado à produção de ácidos, que são produtos secundários da oxidação lipídica. É sabido que a presença de ácidos graxos livres provenientes de triacilgliceróis acelera as reações de oxidação lipídica (ERICKSON, 2002).

Considerando que a linguiça frescal é um produto adicionado de água para solubilização e dispersão dos demais ingredientes da sua formulação, que sua matéria-prima passa por processo de moagem - que rompe as estruturas celulares, liberando as enzimas para o meio-, e que esse é um produto que não passa por tratamento térmico na indústria para inativação enzimática, a adoção de medidas para controle da rancidez hidrolítica e para minimizar as reações posteriores de oxidação dos ácidos graxos insaturados, se torna ainda mais relevante.

O antioxidante sintético BHA evidenciou elevada capacidade de controle desses fatores que levam ao aumento do teor de acidez nos alimentos, pois os índices de acidez dessa amostra não exibiram diferença significativa ao longo do período avaliado, tendo variado de 4,08 a 4,92 %.

Em contrapartida, os extratos naturais não foram tão eficientes quanto o BHA na redução da velocidade dessas reações e ainda foi observado um efeito pró-oxidante do extrato de semente de uva, o qual apresentou o maior teor de acidez entre todas as amostras (6,74 %), no último ponto de análise.

Carvalho (2020) também identificou um efeito pró-oxidante do extrato de uva bordô em óleos, aumentando os índices de acidez em um dos pontos avaliados. O autor atribuiu o aumento da acidez do óleo à composição do extrato. Palade e Chedea (2016) afirmaram que os fatores que influenciam a ação pró-oxidante das catequinas são a concentração e o tempo de contato e

que os extratos de semente de uva podem apresentar atividade pró-oxidante, dependendo das características estruturais, da concentração utilizada, do pH e de interações com outros componentes da matriz alimentar, como por exemplo, metais e a enzima lipoxigenase.

Estévez (2021) e Elias e Decker (2017) indicaram que dosagens altas podem provocar uma ação pró-oxidante em antioxidantes naturais e sintéticos. Os autores relataram também que existe uma relação entre as concentrações de metais e quelantes da matriz com o efeito pró ou antioxidante. O EDTA, por exemplo, atua como pró-oxidante quando a taxa EDTA/ferro é menor do que um e, exibe um efeito antioxidante quando essa mesma razão tem um valor maior do que um.

Ainda, o efeito pró-oxidante evidenciado na amostra contendo o extrato de semente de uva pode estar relacionado ao aumento da solubilidade dos íons metálicos nos lipídios, ocasionado pela redução da sua polaridade ao se ligarem ao antioxidante (ELIAS; DECKER, 2017).

5.3.4 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A reação dos produtos de decomposição dos hidroperóxidos com o ácido tiobarbitúrico (TBA) é uma das metodologias mais utilizadas para avaliação da estabilidade oxidativa de produtos cárneos (FEINER, 2006; SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

O valor TBA equivale aos miligramas de malonaldeído por quilograma de amostra e tem uma correlação direta com o estado de ranço da amostra. Valores de TBA entre 0,4-0,6 mg de malonaldeído por quilograma de amostra já indicam a presença de rancidez (FEINER, 2006).

A tabela 6 apresenta os resultados de TBARS para as amostras com os diferentes tratamentos durante os 15 dias de armazenamento resfriado, sob incidência de luz.

Tabela 6: Médias das quantidades de malonaldeídos (mg por kg de amostra) para TBARS

Amostra	Tempo de armazenamento (dias) a 4,0 °C				
	0	4	7	11	15
Controle	0,000 ^a ± 0,000	0,112 ^a ± 0,005	0,361 ^b ± 0,004	0,767 ^b ± 0,001	1,319 ^b ± 0,001
BHA	0,039 ^b ± 0,002	0,147 ^a ± 0,004	0,242 ^a ± 0,003	0,473 ^a ± 0,004	0,053 ^a ± 0,006
Mistura de tocoferóis	0,000 ^a ± 0,000	0,259 ^c ± 0,006	0,277 ^a ± 0,001	0,441 ^a ± 0,001	0,256 ^a ± 0,002
Extrato de semente de uva	0,000 ^a ± 0,000	0,203 ^b ± 0,003	0,708 ^c ± 0,002	1,598 ^c ± 0,005	2,740 ^c ± 0,046

Médias ± desvio padrão, seguidas de letras iguais na mesma coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). Análises realizadas em triplicatas. Fonte: autoria própria.

Os resultados para análise de TBARS evidenciam um aumento das quantidades de malonaldeídos (MDA) por kg de amostra em todos os tratamentos até o 11º dia de armazenamento resfriado. Observou-se que esse aumento foi mais expressivo nas amostras controle e com adição do extrato de semente de uva.

O aumento dos valores de TBARS ao longo do tempo é decorrente do processo de oxidação que se inicia ainda no momento da obtenção da matéria-prima e se estende durante as etapas de elaboração da linguiça frescal, que incluem moagem, mistura e embutimento. Os malonaldeídos são produtos secundários de oxidação, sendo os principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poli-insaturados (OSAWA; FELÍCIO; GONÇALVES, 2005). Por isso, não estão presentes nas etapas iniciais de avaliação e sua quantidade aumenta conforme o tempo de reação.

A partir do 2º ponto de análise (4 dias), verificou-se uma diferença significativa entre os resultados da amostra contendo o extrato de semente de uva e as demais. O extrato de semente de uva demonstrou um efeito pró-oxidante a partir da metade da vida de prateleira (7 dias), dado que a quantidade de MDA presentes nessa amostra foi significativamente ($p < 0,05$) maior do que nos outros tratamentos, sendo 2 vezes maior do que a quantidade medida na amostra controle.

Esses resultados reforçam aqueles obtidos nas análises de acidez e sugerem que na concentração de 0,027 % o extrato de semente de uva pode

apresentar atividade pró-oxidante para linguiças frescas e esse efeito pode estar relacionado à ação das catequinas e interações com íons metálicos presentes na matriz cárnea.

Entre o 11º e o 15º dia de estudo verificou-se um decréscimo nos valores de TBARS nas amostras contendo o BHA e a mistura de tocoferóis. Isso se deve ao fato de que os malonaldeídos podem sofrer reações e serem oxidados à outras moléculas, as quais não reagem com o ácido tiobarbitúrico (LIU et al., 2010). Osawa, Felício e Gonçalves (2005) e Pereira et al. (2017) explicaram também que os malonaldeídos podem se ligar às proteínas cárneas, produzindo compostos estáveis e, dessa forma, não são identificados pelo método.

Bragagnolo, Danielsen e Skibsted (2005) obtiveram resultados similares, tendo verificado a redução dos compostos secundários da oxidação lipídica em peito de frango e justificaram tal efeito à taxa de reação desses compostos com as proteínas da carne ter se tornado maior do que a sua taxa de formação.

No 11º dia de análises, os valores de TBARS obtidos para as amostras controle e com extrato de semente de uva já superaram as quantidades estabelecidos por Estévez e Cava (2006) e Feiner (2006) como limiar para identificação de rancidez. Contudo, as amostras contendo BHA e a mistura de tocoferóis permaneceram estáveis com 11 dias, com valores de TBARS muito próximos de 0,4 mg MDA/kg de amostra. Nesse sentido, entende-se que tanto o BHA quanto a mistura de tocoferóis foram capazes de postergar a vida de prateleira das linguiças frescas armazenadas à 4,0 °C, sob incidência de luz.

Em estudo similar, Casarotto (2013) avaliou a estabilidade oxidativa de salsichas adicionadas de extratos de resíduos de cevada (adição de 5 %) e de vinificação (adição de 0,6 – 0,7 %) e armazenadas à 4,0 °C, ao abrigo da luz, por meio da análise de TBARS. A autora concluiu que esses extratos foram eficientes em retardar a oxidação lipídica até 30 dias de vida de prateleira.

Cava (2007) relatou o aumento dos valores de TBARS em linguiça frescal de porco embaladas com permeabilidade ao oxigênio durante o tempo de estocagem, tendo os valores ficado abaixo de 1,0 mg de MDA/Kg de massa por até 168 h de estocagem.

Resurreccion e Reynolds (1990) concluíram que os tocoferóis e o extrato de alecrim (adição de 0,1% em relação ao teor de gorduras) foram tão

eficientes quando o BHA/BHT (adição de 0,02% em relação ao teor de gorduras) em prevenir a oxidação em salsichas frankfurters, estocadas durante 4, 11 e 18 dias, por meio da análise de TBARS.

Haak, Raes e Smet, (2009) avaliaram a estabilidade oxidativa de hambúrgueres de porco, por meio da análise de TBARS, e concluíram que o uso de extrato de alecrim, extrato de chá verde e ascorbil palmitato inibiram igualmente a oxidação dos hambúrgueres congelados. Estévez e Cava (2006) determinaram que a ação antioxidante do óleo essencial de alecrim é dependente da concentração adicionada e das características das salsichas, sendo a concentração de 600 ppm a que inibiu de forma mais efetiva o desenvolvimento da oxidação de lipídios e proteínas.

Considerando que não houve diferença significativa entre os resultados de TBARS para as amostras tratadas com BHA e mistura de tocoferóis a partir do 7º dia de shelf-life das linguiças frescas, pode-se concluir que esse antioxidante natural tem eficiência comparável à do BHA no controle da oxidação lipídica. Outrossim, como ambas as amostras exibiram teores de TBARS significativamente ($p < 0,05$) menores do que a amostra controle, entende-se a mistura de tocoferóis pode ser empregada como alternativa para atendimento do prazo de vida de prateleira dessa categoria de produtos cárneos e, inclusive, substituir o aditivo sintético em suas formulações.

5.3.5 Perfil de ácidos graxos

A configuração do conjunto de ácidos graxos presentes na carne define aspectos sensoriais de sabor, textura, ponto de fusão e susceptibilidade à oxidação dos produtos cárneos, sendo que a presença de cadeias insaturadas nos triglicerídeos aumenta a predisposição à oxidação (SILVA, BORGES, FERREIRA, 1999; SOUZA, MATSUSHITA, VISENTAINER, 1998).

A análise do perfil de ácidos graxos, por conseguinte, pode ser utilizada para o monitoramento da oxidação lipídica em alimentos. Por meio dessa técnica, avaliam-se as alterações ou o decréscimo do teor de ácidos graxos insaturados presentes na amostra, os quais são substrato para as reações de oxidação.

As amostras de linguiça adicionadas dos antioxidantes sintético e naturais foram analisadas nos tempos 0, 4, 7, 11 e 15 dias de armazenamento resfriado (4,0 °C), sob incidência de luz, e os resultados estão expressos nas tabelas 7 e 8. Dentre todos os ácidos graxos mapeados nas amostras de linguiça, a tabela 8 detalha o comportamento dos principais ácidos graxos verificados nas amostras analisadas.

Tabela 7: Média do % de composição de ácidos graxos presentes nas formulações de linguiça frescal adicionadas de antioxidante natural e sintético

% Composição de ácidos graxos	Amostras	Tempo de armazenamento (dias) a 4,0 °C				
		0	4	7	11	15
Gorduras Monoinsaturadas	Controle	41,48 ± 0,44 ^{aA}	41,90 ± 0,05 ^{acA}	42,80 ± 0,08 ^{bA}	41,41 ± 0,14 ^{aA}	42,41 ± 0,21 ^{cbA}
	BHA	32,48 ± 0,60 ^{aB}	40,35 ± 0,02 ^{bB}	41,05 ± 0,96 ^{bcB}	44,21 ± 0,10 ^{dB}	42,93 ± 1,50 ^{cdA}
	Mistura de tocoferóis	43,65 ± 1,82 ^{aA}	41,58 ± 0,01 ^{aC}	41,56 ± 0,04 ^{aAB}	43,19 ± 0,13 ^{aC}	42,23 ± 0,37 ^{aA}
	Extrato de semente de uva	40,90 ± 2,03 ^{aA}	43,12 ± 0,01 ^{aD}	42,12 ± 0,15 ^{aAB}	42,05 ± 0,11 ^{aD}	42,87 ± 0,31 ^{aA}
Gorduras Poli-insaturadas	Controle	23,52 ± 0,76 ^{acA}	20,43 ± 0,08 ^{bA}	22,70 ± 0,31 ^{aA}	24,04 ± 0,13 ^{cA}	23,37 ± 0,11 ^{acA}
	BHA	19,79 ± 0,03 ^{aAB}	22,39 ± 0,02 ^{bB}	24,23 ± 0,68 ^{cB}	15,74 ± 0,20 ^{dB}	16,59 ± 1,27 ^{dB}
	Mistura de tocoferóis	16,33 ± 3,31 ^{acB}	21,89 ± 0,04 ^{abC}	24,35 ± 0,73 ^{bB}	16,31 ± 0,26 ^{cC}	21,77 ± 3,16 ^{bcA}
	Extrato de semente de uva	17,85 ± 0,92 ^{aB}	18,39 ± 0,01 ^{aD}	23,66 ± 0,33 ^{bAB}	23,87 ± 0,13 ^{bA}	22,93 ± 0,19 ^{bA}
Gorduras Saturadas	Controle	34,93 ± 0,31 ^{aA}	37,52 ± 0,03 ^{bA}	34,46 ± 0,28 ^{acA}	34,36 ± 0,25 ^{acA}	34,09 ± 0,15 ^{cA}
	BHA	47,39 ± 0,63 ^{aB}	37,16 ± 0,00 ^{bB}	34,63 ± 1,50 ^{cA}	39,95 ± 0,25 ^{dB}	40,39 ± 1,12 ^{dB}
	Mistura de tocoferóis	39,73 ± 1,66 ^{acAC}	36,43 ± 0,03 ^{abC}	34,00 ± 0,72 ^{bA}	40,41 ± 0,16 ^{aB}	35,91 ± 2,80 ^{bcA}
	Extrato de semente de uva	41,13 ± 0,06 ^{aC}	38,40 ± 0,01 ^{aD}	34,12 ± 0,24 ^{bA}	33,98 ± 0,11 ^{bA}	34,12 ± 0,24 ^{bA}

Médias ± desvio padrão, seguidas de letras minúsculas iguais na mesma linha, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). Letras maiúsculas iguais na mesma coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). Análises realizadas em duplicatas. Fonte: autoria própria.

Tabela 8: Resultados do monitoramento dos principais ácidos graxos presentes nas amostras de linguiça fresca ao longo do *shelf-life*

Ácidos graxos (%)	Amostras	Tempo de armazenamento (dias) a 4,0 °C				
		0	4	7	11	15
C14:0 (Ácido mirístico)	Controle	1,26 ± 0,01 ^{aA}	1,26 ± 0,02 ^{aA}	1,24 ± 0,0 ^{abA}	1,21 ± 0,01 ^{bA}	1,23 ± 0,02 ^{abAB}
	BHA	2,21 ± 0,01 ^{aB}	1,78 ± 0,18 ^{bB}	1,25 ± 0,01 ^{cA}	1,37 ± 0,01 ^{cb}	1,38 ± 0,14 ^{cA}
	Mistura de tocoferóis	1,32 ± 0,02 ^{aA}	1,26 ± 0,04 ^{bA}	1,16 ± 0,01 ^{cb}	1,34 ± 0,01 ^{aC}	1,17 ± 0,01 ^{cb}
	Extrato de semente de uva	2,52 ± 0,36 ^{aB}	1,31 ± 0,02 ^{abA}	1,20 ± 0,01 ^{bc}	1,21 ± 0,01 ^{abA}	1,24 ± 0,0 ^{abAB}
C16:0 (Ácido palmítico)	Controle	21,92 ± 0,27 ^{aA}	22,88 ± 0,28 ^{bAB}	22,12 ± 0,19 ^{aA}	21,62 ± 0,07 ^{aA}	21,85 ± 0,3 ^{aA}
	BHA	39,76 ± 0,06 ^{aB}	32,70 ± 3,23 ^{bB}	21,65 ± 0,56 ^{cA}	24,81 ± 0,05 ^{cb}	24,24 ± 2,64 ^{bA}
	Mistura de tocoferóis	24,07 ± 0,06 ^{aA}	22,60 ± 0,02 ^{bA}	21,40 ± 0,28 ^{cA}	24,97 ± 0,11 ^{dB}	21,84 ± 0,25 ^{cA}
	Extrato de semente de uva	45,28 ± 6,53 ^{aB}	23,52 ± 0,34 ^{abAB}	21,55 ± 0,19 ^{bA}	21,72 ± 0,10 ^{abA}	22,17 ± 0,04 ^{abA}
C16:1 (Ácido palmitoleico)	Controle	1,95 ± 0,02 ^{aA}	1,92 ± 0,02 ^{aA}	2,27 ± 0,02 ^{bA}	1,94 ± 0,00 ^{aA}	2,00 ± 0,01 ^{cA}
	BHA	3,63 ± 0,01 ^{aB}	1,63 ± 0,02 ^{bB}	1,95 ± 0,03 ^{bcB}	2,25 ± 0,01 ^{cdB}	2,36 ± 0,30 ^{dA}
	Mistura de tocoferóis	2,06 ± 0,02 ^{aA}	2,02 ± 0,00 ^{abC}	2,00 ± 0,03 ^{bB}	2,06 ± 0,01 ^{aC}	2,06 ± 0,02 ^{aA}
	Extrato de semente de uva	3,86 ± 0,56 ^{aB}	2,03 ± 0,03 ^{bc}	2,09 ± 0,01 ^{abC}	2,14 ± 0,01 ^{abD}	2,12 ± 0,0 ^{abA}

C18:0 (Ácido esteárico)	Controle	10,59 ± 0,19 ^{aA}	11,66 ± 0,15 ^{bAB}	9,91 ± 0,07 ^{cA}	10,43 ± 0,02 ^{aA}	10,50 ± 0,30 ^{aA}
	BHA	19,16 ± 0,14 ^{aB}	16,32 ± 1,61 ^{bB}	10,21 ± 0,50 ^{cA}	11,72 ± 0,04 ^{cB}	12,14 ± 0,26 ^{cB}
	Mistura de tocoferóis	11,82 ± 0,05 ^{aA}	11,39 ± 0,11 ^{bA}	10,29 ± 0,25 ^{cA}	12,40 ± 0,12 ^{dC}	10,46 ± 0,17 ^{cA}
	Extrato de semente de uva	22,48 ± 3,30 ^{aB}	11,57 ± 0,16 ^{abAB}	10,04 ± 0,09 ^{abA}	9,93 ± 0,03 ^{bD}	10,25 ± 0,09 ^{abA}
C18:1C (Ácido oleico)	Controle	40,53 ± 1,59 ^{aA}	38,72 ± 0,49 ^{aA}	40,09 ± 0,09 ^{aA}	39,01 ± 0,10 ^{aA}	39,92 ± 0,08 ^{aB}
	BHA	40,54 ± 0,05 ^{aA}	40,37 ± 0,21 ^{aB}	38,70 ± 0,97 ^{bB}	40,98 ± 0,15 ^{aB}	40,73 ± 0,24 ^{aA}
	Mistura de tocoferóis	39,9 ± 0,11 ^{adA}	39,68 ± 0,14 ^{abdAB}	38,96 ± 0,04 ^{bcAB}	40,22 ± 0,16 ^{dC}	39,10 ± 0,62 ^{acB}
	Extrato de semente de uva	40,99 ± 0,73 ^{aA}	39,51 ± 0,55 ^{bAB}	39,49 ± 0,19 ^{bAB}	39,70 ± 0,18 ^{bD}	39,98 ± 0,25 ^{baAB}
C18:2C (Ácido linoleico)	Controle	21,37 ± 0,32 ^{aA}	17,51 ± 0,22 ^{bAC}	19,55 ± 0,19 ^{cA}	20,76 ± 0,09 ^{aA}	19,72 ± 0,5 ^{cA}
	BHA	23,54 ± 0,16 ^{aA}	29,37 ± 2,89 ^{bB}	20,42 ± 0,74 ^{adA}	13,34 ± 0,31 ^{cB}	17,47 ± 2,33 ^{cdA}
	Mistura de tocoferóis	15,96 ± 0,39 ^{aB}	20,05 ± 0,22 ^{bA}	20,41 ± 0,11 ^{bA}	14,05 ± 0,01 ^{cC}	20,02 ± 0,28 ^{bA}
	Extrato de semente de uva	23,03 ± 2,28 ^{aA}	15,64 ± 0,22 ^{bC}	20,42 ± 0,11 ^{acA}	20,55 ± 0,07 ^{acA}	19,78 ± 0,08 ^{cA}
C18:3C (Ácido linolênico)	Controle	0,13 ± 0,01 ^{aA}	0,88 ± 0,01 ^{bA}	1,14 ± 0,01 ^{cA}	1,20 ± 0,0 ^{dA}	1,16 ± 0,04 ^{cdA}
	BHA	0,98 ± 0,01 ^{aB}	1,63 ± 0,16 ^{bB}	1,19 ± 0,05 ^{adAB}	0,50 ± 0,02 ^{cB}	1,29 ± 0,14 ^{dA}
	Mistura de tocoferóis	0,72 ± 0,04 ^{aC}	1,18 ± 0,06 ^{bC}	1,23 ± 0,02 ^{bB}	0,55 ± 0,01 ^{cC}	1,16 ± 0,01 ^{bA}
	Extrato de semente de uva	1,27 ± 0,19 ^{aD}	0,77 ± 0,02 ^{bA}	1,21 ± 0,03 ^{aAB}	1,19 ± 0,01 ^{aA}	1,14 ± 0,00 ^{aA}

Médias ± desvio padrão, seguidas de letras minúsculas iguais na mesma linha, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey Kruskal-Wallis e comparações múltiplas ($p > 0,05$). Letras maiúsculas iguais na mesma coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ou Kruskal-Wallis e comparações múltiplas ($p > 0,05$). Análises realizadas em duplicatas. Fonte: autoria própria.

Analisando o % de composição dos grupos de ácidos graxos (Tabela 7) no tempo 0, pode-se verificar que o teor de ácidos graxos monoinsaturados variou entre 32,48 e 43,65 %, de poli-insaturados entre 16,33 a 23,52 % e de saturados, entre 34,93 e 47,39 %, nas amostras de linguiça frescal. Esses valores são coerentes com os obtidos por Bragagnolo e Rodriguez-Amaya (2002), que encontraram 42 % de gordura monoinsaturada, 25 % de poli-insaturada e 33 % de saturadas em pernil suíno. Os autores analisaram também toucinho suíno, que é o outro tipo de matéria-prima utilizado na produção das linguiças frescas, e verificaram um teor de gorduras monoinsaturadas de 46 %, 25 % de poli-insaturadas e 33 % de saturadas. Paglarini (2015) estudou o perfil de ácidos graxos em carne suína e estabeleceu que 45 % dos ácidos graxos presentes eram monoinsaturados, 19,5 % poli-insaturados e 33 % eram saturados. Os resultados obtidos nesse estudo também são similares aos encontrados por Figueiredo (2010) para carne suína: 51,5 % de ácidos graxos monoinsaturados, 11 % de poli-insaturados e 37,5 % de saturados. Kaipers (2017), por sua vez, analisou o perfil de ácidos graxos em linguiça colonial adicionada de extrato de alecrim e eritorbato de sódio e observou que os ácidos graxos monoinsaturados predominaram com 39,0 %, seguido dos ácidos graxos saturados com 34,0 % e ácidos graxos poli-insaturados com 26,0 %, respectivamente.

Embora a composição de ácidos graxos em carne suína e produtos cárneos seja semelhante entre os estudos, variações são esperadas porquanto essa composição está diretamente relacionada à genética, idade e alimentação do animal, bem como à formulação empregada (BRAGAGNOLO; RODRIGUEZ-AMAYA, 2002).

Os mesmos estudos supracitados corroboram os principais ácidos graxos encontrados nas linguiças frescas com as diferentes formulações analisadas nesse trabalho (Tabela 8). Dentre os 36 ácidos graxos mapeados nas amostras, os principais foram: C14:0, C16:0, C16:1, C18:0, C18:1C, C18:2C e o C18:3C, sendo os majoritariamente presentes o C18:1, C16:0, C18:2, C18:0, em ordem decrescente de proporção.

Nesse sentido, tendo em vista a composição de ácidos graxos e o processo de obtenção da linguiça frescal, esse produto está predisposto a sofrer oxidação por mecanismos de radicais livres.

Sabe-se que a propensão oxidação lipídica aumenta significativamente com o aumento do número de duplas ligações, ou seja, ácidos graxos poli-insaturados oxidam mais rapidamente do que monoinsaturados, pois menos energia é necessária para remover um hidrogênio de uma dupla ligação do que de um metil-carbono (AMARAL; SOLVA; LANNES, 2018).

Analisando o comportamento individual dos ácidos graxos presentes em maior proporção nas amostras, verifica-se que houve uma redução de 7,72 % do C18:2 na amostra controle (21,37 – 19,72 %), 25,79 % na amostra com BHA (23,54 – 17,47 %) e 14,11 % na amostra adicionada do extrato de semente de uva (23,03 – 19,78 %), entre o primeiro e o último dia avaliados. Por outro lado, nesse mesmo período, para a amostra contendo a mistura de tocoferóis, foi verificado um aumento de 25,44 % no teor do C18:2 (15,96 – 20,02 %). Entende-se que esse crescimento está relacionado à heterogeneidade da amostra, comprovado pela diferença significativa entre o teor do C18:2 para esse tratamento, quando comparado aos demais, no tempo 0. Porém, quando avaliado o teor de C18:2 entre os dias 4 e 15, não foi evidenciada diferença significativa nessa mesma amostra (20,05 – 20,02 %). Esse resultado sugere um efeito protetivo da mistura de tocoferóis superior ao exibido pelo antioxidante sintético; ou seja, a adição da mistura de tocoferóis proporcionou maior estabilidade ao sistema do que o BHA.

O teor de C18:1, por sua vez, manteve-se constante ao longo do período avaliado, independente do tratamento. A amostra controle iniciou o estudo com o percentual de 40,53 % do C18:1C e, após 15 dias de vida de prateleira, apresentou 39,92 % desse ácido graxo. Para a linguiça adicionada do BHA, os resultados inicial e final foram 40,54 % e 40,73 %. Para a mistura de tocoferóis, 39,9 % e 39,10 %; e, para o extrato de semente de uva, 40,99 % no tempo 0 e 39,98 % no tempo 15 dias.

A partir da interpretação dos resultados para os ácidos graxos C18:1 e C18:2, pode-se verificar que a degradação do C18:2 aconteceu de maneira mais intensa do que no C18:1. Esse efeito é explicado pelo número de insaturações presentes nas moléculas, visto que presença de duplas ligações enfraquece a ligação covalente carbono-hidrogênio, reduzindo a energia de dissociação da ligação (SCHAICH, 2017). Damodarn, Parkin e Fennema (2010) explicam que a energia de dissociação da ligação covalente carbono-

hidrogênio em uma cadeia alifática é de 98 kcal/mol, mas que, se existe um dupla ligação na molécula, a ligação covalente carbono-hidrogênio do átomo de carbono adjacente à ela é reduzida para 89 kcal/mol. A energia de dissociação de ligação é ainda mais enfraquecida quando há a presença de duas duplas ligações, passando a ser de 80 kcal/mol. Dessa forma, a medida que a energia de dissociação da ligação carbono-hidrogênio diminui, a remoção do hidrogênio é facilitada, aumentando a velocidade da oxidação lipídica.

Em relação ao C16:0, foram notadas reduções no % desse ácido graxo entre os tempos 0 e 15 dias para os 3 tratamentos com antioxidantes. Um comportamento similar foi observado para o C18:0. Esse comportamento difere do evidenciado por Wójciak, Karwowska e Dolatowski (2015) ao avaliarem amostras de linguças fermentadas não curadas após 21 e 180 dias de armazenamento resfriado. Os autores verificaram estabilidade no teor desses mesmos ácidos graxos ao longo do período avaliado. Analogamente, em estudo com lombo suíno cru tratado com antioxidantes cúrcuma e eritorbato de sódio, Figueiredo (2010) observou que não houve alteração no conteúdo de ácidos graxos saturados ao longo de 120 dias de estocagem, para os tratamentos estudados. Bobbio (2001) explica que reações de oxidação não são esperadas em ácidos graxos saturados, pois neste caso, a formação de um radical livre é energeticamente desfavorável. Isso se deve ao fato de que as ligações covalentes carbono-hidrogênio apresentam alta energia de dissociação, reduzindo, com isso, a velocidade de degradação dos ácidos graxos saturados (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

As variações observadas nos resultados e a dificuldade para acompanhar as transformações químicas durante o *shelf-life* pela determinação do teor de ácidos graxos monoinsaturados, poli-insaturados e saturados podem estar relacionados com a matriz cárnea e a distribuição dos lipídios nessa matriz. Os lipídios podem, por exemplo, estar dispersos na matriz e, conseqüentemente, mais expostos à oxidação, ou estarem estabilizados por proteínas da carne. Ainda, a forma como outros componentes como enzimas, oxigênio, íons metálicos e água estão distribuídos na matriz (compartimentada ou descontínua), podem retardar ou promover a oxidação lipídica (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

Em adição, a linguiça frescal é um produto heterogêneo, um embutido produzido a partir de carne e de gordura moídas, adicionados de ingredientes, e envolto em tripa natural ou artificial. Dessa forma, mesmo que a massa seja misturada em equipamento específico, durante o processo de embutimento, pode ocorrer a distribuição das matérias-primas de maneira não homogênea e, com isso, é possível que em alguns gomos haja uma maior quantidade de gordura triturada (maior área de contato com oxigênio e enzimas) ou gordura “mole” (com menor ponto de fusão), e estes estarão mais propensos à oxidação.

Somado a esses fatores, Silva, Borges e Ferreira (1999) e Shahidi e Wanasundara (1992), ressaltam a dificuldade de acompanhar a estabilidade oxidativa por esse método, devido ao processo de extração quantitativa das gorduras presentes nas amostras e perdas durante a derivatização.

Posto isto, é importante avaliar o grau de oxidação de produtos cárneos por diferentes métodos analíticos, que sejam complementares. Assim, é possível acompanhar as modificações que se verificam ao nível dos substratos (ácidos graxos), produtos primários (peróxidos) e secundários de oxidação (malonaldeídos, perda de massa), como foi realizado nesse trabalho.

5.3.6 Termogravimetria

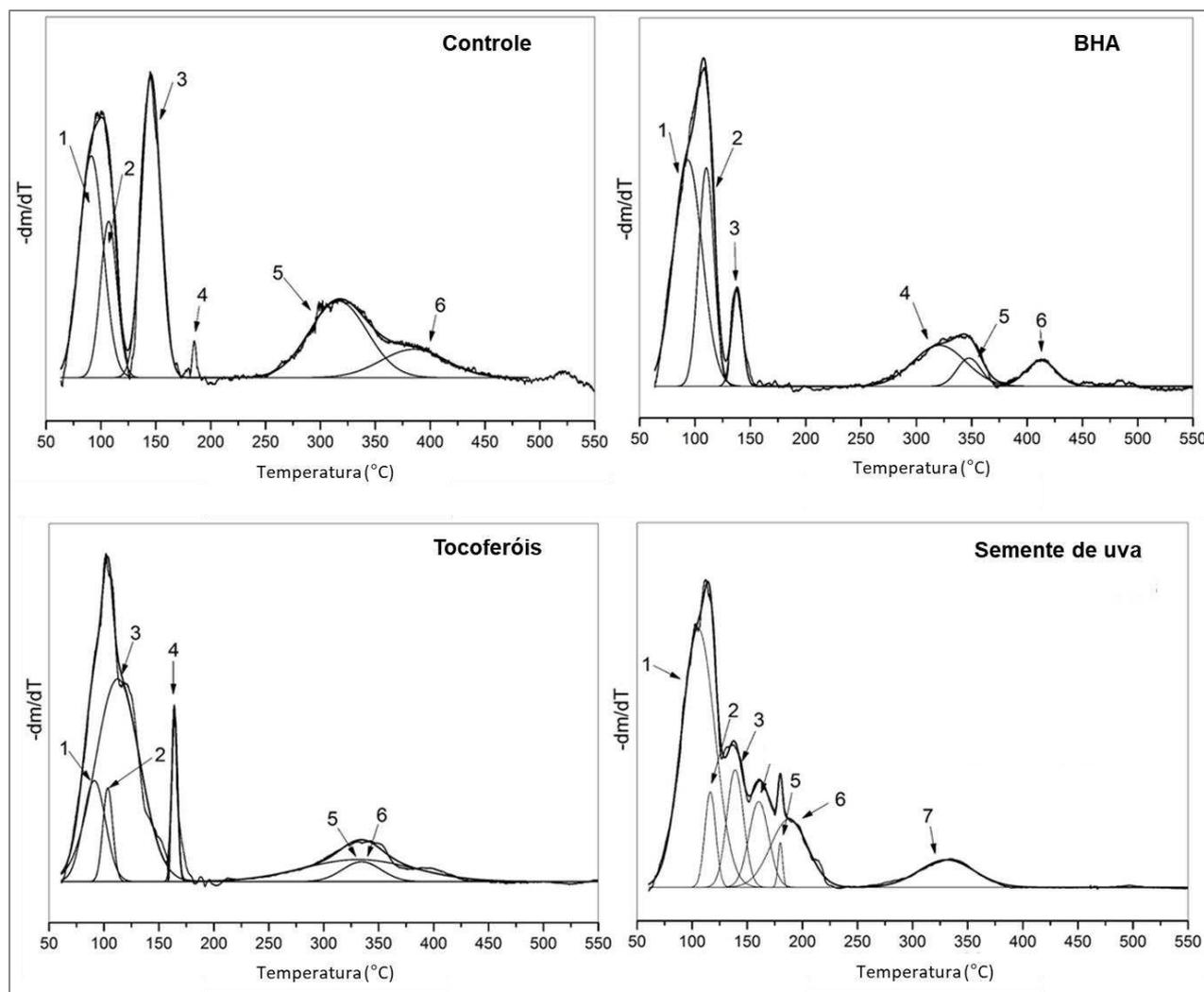
A termogravimetria é definida pela Confederação Internacional de Análises Térmicas e Calorimetria como uma análise térmica em que se monitora a massa de uma amostra em função do tempo (à uma temperatura constante) ou da variação da temperatura, em uma atmosfera específica (LEVER et al., 2014). Esse método possibilita avaliar a variação na massa de uma amostra que passou por processos de evaporação, decomposição e oxidação, dentre outros efeitos que a variação da temperatura pode ocasionar (BROWN, 1988).

Essa técnica pode ser utilizada para estudar substâncias puras ou misturas e permite avaliar a decomposição térmica desses compostos à sua forma volátil (BALLOTE et al., 2018). Essa metodologia é empregada também para entender o comportamento térmico das amostras em função da

temperatura e sua capacidade de resistir, por um determinado tempo, ao estresse oxidativo induzido por temperaturas elevadas e atmosfera oxidante (GENNARO et al., 1998; MARINHO, 2012).

As curvas obtidas nas análises termogravimétricas efetuadas nas amostras de linguiça frescal controle e com a adição dos antioxidantes são apresentados na Figura 11.

Figura 11: Análise termogravimétrica em amostras de linguiça frescal com adição de antioxidantes



Nas amostras controle e com adição da mistura de tocoferóis, os picos 1, 2, 3 e 4 indicam a evaporação da água e, os picos 5 e 6, a oxidação da gordura. Na amostra contendo BHA, a perda de água é indicada pelos picos 1 a 3, e a gordura, pelos picos 4, 5 e 6. Na amostra adicionada do extrato de semente de uva, os picos 1 a 5 representam a perda de umidade, enquanto os picos 6 e 7, a de gordura. Fonte: autoria própria.

A tabela 9 ilustra os intervalos de temperaturas em que ocorrem as perdas de massa nas linguiças frescas e seus respectivos percentuais de perda de massa.

Tabela 9: Eventos térmicos identificados na análise termogravimétrica das linguiças frescas

Amostra	Etapas	Temperaturas (°C)	Perda de massa (%)
Controle	1	91,0 – 107,0	23,99
	2	107,0 – 145,0	11,69
	3	145,0 – 185,0	25,89
	4	185,0 – 318,0	0,80
	5	318,0 – 389,0	20,02
	6	389,0 – 550,0	8,43
	RM	-	9,19
BHA	1	93,0 – 110,0	41,34
	2	110,0 – 137,0	21,46
	3	137,0 – 319,0	6,63
	4	319,0 – 348,0	13,72
	5	348,0 – 413,0	4,31
	6	413,0 – 550,0	4,96
	RM	-	7,59
Mistura de tocoferóis	1	91,0 – 103,0	12,73
	2	103,0 – 111,0	5,14
	3	111,0 – 163,0	50,64
	4	163,0 – 331,0	5,10
	5	331,0 – 335,0	4,29
	6	335,0 – 550,0	13,93
	RM	-	8,20
Extrato de semente de uva	1	105,0 – 116,0	44,94
	2	116,0 – 138,0	5,41
	3	138,0 – 161,0	10,25
	4	161,0 – 180,0	8,86
	5	180,0 – 188,0	1,05
	6	188,0 – 332,0	13,13
	7	332,0 – 550,0	7,92
RM	-	8,45	

Os picos obtidos nas análises são referenciados pelos números 1 a 7 e a massa residual pela sigla RM.

Fonte: autoria própria.

A partir da análise das curvas termogravimétricas e dos percentuais de perda de massa em cada etapa, é possível inferir que a decomposição térmica das amostras de linguiça frescal aconteceram em três estágios principais, desidratação, degradação da gordura e carbonização da massa residual. Chen et al. (2017) e Lazzarotto et al. (2014) também identificaram essas etapas ao avaliarem por termogravimetria resíduos de plantas oleagionosas e resina de pinus.

Na amostra controle, a perda de massa que ocorreu nas 4 primeiras faixas de temperatura trabalhadas, representadas nos picos iniciais (1 – 4), soma 62,37 %, que é um resultado próximo ao teor de umidade previamente determinado nessa amostra (69,57 %). Na amostra contendo BHA, os 3 primeiros picos indicam uma perda de água de 69,43 %, reafirmando o teor de umidade determinado nessa amostra, que foi de 69,2 %. De maneira análoga, a amostra tratada com a mistura de tocoferóis exibiu uma perda inicial de massa de 73,61 % e o teor de umidade obtido havia sido 69,63 %. Por fim, as 5 primeiras etapas da análise termogravimétrica da amostra contendo o extrato de semente uva indicaram uma diferença de massa de 70,51 %, similar aos 70,0 % de umidade anteriormente mensurados nessa mesma amostra. Variações discretas entre o teor de umidade e o percentual de perda de massa nas etapas iniciais podem estar relacionados à heterogeneidade dos gomos de linguiça, intrínseco ao processo de fabricação, e à liberação de alguns compostos voláteis de menor peso molecular já nas etapas iniciais da análise.

No segundo estágio, ocorre a degradação dos ácidos graxos livres e triacilgliceróis, levando a formação de outros compostos, os quais serão degradados nas etapas seguintes. Nessa fase, o aumento da temperatura provoca o início das reações de oxidação, uma vez que a temperatura é um dos catalisadores lipídicos da autoxidação. Com isso, amostras ricas em ácidos graxos insaturados sofrerão reações oxidativas, levando a produção de peróxidos, os quais são instáveis e se decompõe em compostos secundários voláteis, como aldeídos (GENNARO et al., 1998; MARINHO, 2012).

Além disso, a composição e características dos ácidos graxos, especialmente comprimento da cadeia e número de insaturações, determinam propriedades como a temperatura de ebulição e volatilidade dos compostos. Quanto maior a cadeia carbônica, maior o número de interações

intermoleculares e, por conseguinte, maior a energia necessária para a mudança de estado. No que se refere ao grau de insaturação, normalmente, quanto mais insaturações, menor a estabilidade térmica da amostra, devido à menor temperatura de ebulição dos ácidos graxos insaturados, quando comparada aos seus equivalentes saturados (OLIVEIRA, 2010).

Ballote et al. (2018) explicaram que na etapa de degradação das gorduras, o primeiro pico é atribuído aos ácidos graxos presentes na amostra e o segundo representa os produtos de oxidação. Sendo assim, é possível determinar em qual temperatura foi verificada a maior taxa de perda de massa dos ésteres metílicos de ácidos graxos e dos produtos de oxidação. A diferença entre essas temperaturas permite a diferenciação desses compostos.

Em consonância, Chen et al. (2017) esclareceram que a presença de mais de uma zona de redução da massa durante o segundo estágio de degradação podem também ser atribuídas à liberação e combustão de diferentes componentes da matriz da amostra, como por exemplo, as proteínas.

Apesar disso, em alguns casos pode ocorrer a sobreposição dos picos. Esse efeito está relacionado à formação de compostos que se decompõem em faixas de temperaturas próximas, e por isso, podem ser considerados como etapas de decomposição únicas (MARINHO, 2012).

Para a amostra controle, as temperaturas onde foram verificadas as maiores taxas de perda de massa para ácidos graxos e produtos de oxidação foram 318,0 °C e 390,0 °C, respectivamente. Para a amostra contendo BHA, foram verificados 3 picos de degradação, cujas temperaturas que levaram à máxima perda de massa foram 320,0 °C (pico 4), 350,0 °C (pico 5) e 415,0 °C (pico 6). A amostra contendo a mistura de tocoferóis, por sua vez, exibiu a temperatura de 338,0 °C para ambos os picos de degradação. Por último, as temperaturas verificadas para a linguiça adicionada do extrato de semente de uva foram 190,0 °C para os ácidos graxos (pico 6) e 335,0 °C (pico 7) para os produtos de oxidação.

Sendo assim, pode-se concluir que a degradação dos ácidos graxos presentes na amostra contendo extrato de semente de uva e, conseqüentemente, a perda de massa pela formação de compostos secundários mais voláteis, iniciou mais rapidamente e em temperaturas

menores do que nas demais amostras. Por outro lado, a amostra contendo tocoferol foi capaz de retardar esse processo, tendo atingido a maior taxa de perda de massa somente aos 338,0 °C. Esse fenômeno está associado à capacidade do antioxidante de estabilizar radicais livres gerados a partir do estímulo da temperatura, impedindo que eles ataquem as duplas ligações dos ácidos graxos insaturados presentes na linguiça e, conseqüentemente, evitando a formação dos compostos voláteis, produtos das reações de oxidação, que culminam na perda de massa.

Em termos de perda de massa total nas etapas de degradação das gorduras, a amostra controle apresentou a maior perda, 28,45 %. Todas as amostras adicionadas de antioxidantes performaram melhor do que a controle, tendo exibido os percentuais de perda total de 22,99 %, 18,22 % e 21,05 % para BHA, mistura de tocoferóis e extrato de semente de uva, respectivamente.

Ademais, Marinho (2012) e Gennaro et al., (1998) elucidaram que existe uma relação direta entre as temperaturas de início de decomposição térmica e/ou volatilização dos compostos e o tempo de vida útil estimado para as amostras. Quanto maiores essas temperaturas, maiores os tempos de vida útil previstos para as amostras. As curvas obtidas nas análises termogravimétricas permitem a identificação das temperaturas iniciais de degradação das gorduras, que foram de 238,0 °C, 250,0 °C, 285,0 °C e 250,0 °C para as amostras controle, com adição de BHA, mistura de tocoferóis e extrato de semente de uva, respectivamente. Sendo assim, pode-se concluir que todos os antioxidantes demonstraram capacidade de aumentar o *shelf-life* presumido da linguiça frescal, em comparação com a amostra controle.

Por fim, o último estágio exibido nas curvas termogravimétricas refere-se à carbonização da massa residual ou de impurezas existentes nas amostras. A amostra controle apresentou o maior percentual de perda de massa residual, com 9,19 %; em seguida, a amostra com extrato de semente de uva com 8,45 %, depois a linguiça adicionada de tocoferóis, com 8,20 % e a amostra com a adição de BHA, com 7,59 %. Esse parâmetro expressa a perda de massa correspondente à proporção de carbono residual das amostras (BROWN, 1988).

Em conclusão, a análise termogravimétrica permitiu estimar a resistência das amostras à oxidação e, indiretamente, a ação antioxidante dos extratos

naturais adicionados. Os resultados obtidos evidenciaram a efetividade dos antioxidantes no aumento da estabilidade oxidativa da linguiça frescal, com destaque para a mistura de tocoferóis. Portanto, corroboram a viabilidade do seu uso em substituição ao antioxidante sintético BHA, com o objetivo de maximizar a vida de prateleira de linguiças frescas.

6. CONCLUSÕES

As reações de oxidação lipídica têm um impacto significativo na qualidade e prazo de validade dos produtos cárneos. Por isso, o emprego de antioxidantes nas formulações se apresenta como uma alternativa para aumentar a estabilidade oxidativa dos produtos, promovendo a manutenção dos seus atributos sensoriais por um período maior.

A partir desse estudo foi possível analisar a capacidade antioxidante de extratos naturais e comparar sua efetividade ao padrão sintético BHA, no controle da oxidação lipídica em linguiças frescas.

A atividade antioxidante foi determinada por meio das metodologias de compostos fenólicos, sequestro do radical DPPH e FRAP. Dentre os extratos naturais, os resultados obtidos evidenciaram maior potencial antioxidante para a mistura de tocoferóis, seguida do extrato de semente de uva. O extrato de alecrim apresentou menor capacidade antioxidante nos três métodos avaliados e, por isso, não foi considerado nos estudos posteriores.

O extrato de semente de uva e a mistura de tocoferóis foram aplicados em linguiça fresca para avaliação do seu impacto sob a estabilidade oxidativa do produto cárneo. A amostra com mistura de tocoferóis apresentou índices de peróxidos significativamente ($p < 0,05$) menores do que a amostra contendo o BHA nos tempos 4, 7 e 15 dias, indicando um efeito antioxidante importante nas etapas iniciais da oxidação lipídica.

O índice de acidez indicou um efeito pró-oxidante do extrato de semente de uva, que apresentou um teor de acidez significativamente ($p < 0,05$) maior do que nas demais amostras, no último ponto de análise.

Os resultados de TBARS evidenciaram a evolução das reações de oxidação durante o período avaliado e confirmaram o efeito pró-oxidante do extrato de semente de uva. Os resultados demonstraram ainda que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os resultados de TBARS para as amostras tratadas com BHA e mistura de tocoferóis a partir do 7º dia de *shelf-life* das linguiças frescas, sugerindo que esse antioxidante natural tem eficiência comparável à do BHA no controle da oxidação lipídica.

A análise de perfil de ácidos graxos permitiu a identificação de 36 ácidos graxos nas amostras de linguiça. Dentre eles, os que apresentaram a maior

concentração foram o C18:1, C16:0, C18:2, C18:0, em ordem decrescente de proporção. Com essa técnica foi possível confirmar o efeito protetivo da mistura de tocoferóis, pois não foi evidenciada diferença significativa entre o teor de C18:2 nos dias 4 e 15, na amostra contendo esse antioxidante natural. Além disso, comprovou-se o impacto do grau de insaturações na velocidade e extensão da oxidação lipídica ao comparar os resultados obtidos para o C18:2 e o C18:1, no período avaliado.

Por fim, a termogravimetria permitiu a detecção de três estágios principais de decomposição térmica das amostras do embutido cárneo: desidratação, degradação da gordura e carbonização da massa residual. Na etapa de degradação da gordura, a amostra controle apresentou maior perda de massa total, seguida da amostra contendo BHA, extrato de semente de uva e, por último, a mistura de tocoferóis.

Em conclusão, os resultados obtidos nesse trabalho evidenciaram a efetividade da mistura de tocoferóis no aumento da estabilidade oxidativa da linguiça frescal. Por conseguinte, comprovaram a viabilidade da substituição do antioxidante sintético BHA pela fonte natural, com o objetivo de maximizar a vida de prateleira de linguiças frescas.

REFERÊNCIAS

- AMARAL, A. B.; SOLVA, M. V. DA; LANNES, S. C. D. S. Lipid oxidation in meat: Mechanisms and protective factors - a review. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 38, n. 1, p. 1–15, dez. 2018.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos - Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 66, n. 1, p. 1–9, abr. 2007.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS INTERNATIONAL (AOAC). Fat (Crude) in Meat and Meat Products Solvent Extraction Method. Meat and Meat Product. **Official Method 991.36**. Rockville: AOAC, 2019.
- BALLOTE, L.D.; HERNÁNDEZ, K. G.; VEGA-LIZAMA, E. T.; RUIZ-GÓMEZ, M. A.; MALDONADO, L.; HERNÁNDEZ, E. Thermogravimetric approach for assessing the oxidation level of a biodiesel sample. **Química Nova**, São Paulo, v. 41, n. 5, p. 492–496, fev. 2018.
- BATISTA, E. DA S.; COSTA, A. G. V.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Adição da vitamina E aos alimentos: implicações para os alimentos e para a saúde humana. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 20, n. 5, p. 525–535, set. 2007.
- BENZAQUEM, T. **Antioxidantes naturais: Produtos estáveis e com rótulos limpos**. Food Ingredients Brasil. 2012. Disponível em: < <https://revista-fi.com/artigos/conservantes/antioxidantes-naturais-produtos-estaveis-e-com-rotulos-limpos>. Acessado em 13/02/2022.
- BENZIE I.F.F.; STRAIN J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as measure of antioxidant power: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 239, p. 70-76, fev. 1996.
- BERGER, K. G.; HAMILTON, R. J. **Developments in Oils and Fats**; 1. ed.; Londres: Chapman & Hall, 1995.
- BERTOLIN, T. E.; MARGARITES, A. C. F.; GIACOMELLI, B.; FRUETTI, A.; HORST, C.; TEIXEIRA, D. M. F. Ficocianina, tocoferol e ácido ascórbico na prevenção da oxidação lipídica em charque. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 14, n. 04, p. 301–307, out/dez. 2011.
- BLIGH, E.G. AND DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, v. 37, n. 8, p. 911 – 917, ago. 1959.
- BOBBIO, P.A.; BOBBIO, F.O. **Química do processamento de alimentos**. São Paulo: Varela, 2001.
- BOROSKI, M., VISENTAINER, J. V., COTTICA, S. M., MORAIS, D. R. **Antioxidantes: princípios e métodos analíticos**. Curitiba: Appris, 2015.
- BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS, W.; BERSSET, C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. **LWT - Food Science and Technology**, Campinas, v. 30, n. 06, p. 609-615, set. 1997.
- BRAGAGNOLO, N.; DANIELSEN, B.; SKIBSTED, L. H. Effect of rosemary on lipid oxidation in pressure-processed, minced chicken breast during refrigerated

storage and subsequent heat treatment. **European Food Research and Technology**, v. 221, n. 5, p. 610–615, out. 2005.

BRAGAGNOLO, N.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Teores de colesterol, lipídios totais e ácidos graxos em cortes de carne suína. **LWT - Food Science and Technology**, Campinas, v. 22, n. 1. p. 98-104, jan/mai. 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento (MAPA). **Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Linguiça**. Brasília: MAPA, Diário Geral da União, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 272, de 14 de março de 2019**. Brasília: ANVISA, Diário Oficial da União, 2019.

BROWN, M. E. **Introduction to thermal analysis: techniques and applications**. Nova Iorque: Chapman and Hall, 1988.

CARVALHO, M. T. **Estabilidade oxidativa de óleo de soja suplementado com extrato de uva bordô**. 2020. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Processos Químicos e Biotecnológicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, 2020.

CARVALHO, R. N. Supercritical fluid extraction from rosemary (*Rosmarinus officinalis*): Kinetic data, extract's global yield, composition, and antioxidant activity. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 35, n. 3, p. 197–204, jan. 2005.

CARVALHO, C. C. P. de; LOPES FILHO, F.; HOFFMANN, F. L.; ROMANELLI, P. F. Histórico e aspectos tecnológicos do processamento da linguíça cuiabana. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 69, n. 3, p. 428-433, jul/set. 2010.

CASAROTTO, J. **Uso de antioxidantes naturais na preservação do estado oxidativo de salsichas**. 2013. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

CAVA, G. DA C. **Efeito da adição de extrato de alecrim e alho em pó nos parâmetros de cor e oxidação lipídica de produto cárneo emulsionado à base de frango**. 2007. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2007.

CHEN, J.; WANG, Y.; LANG, X.; REN, X.; FAN, S. Comparative evaluation of thermal oxidative decomposition for oil-plant residues via thermogravimetric analysis: Thermal conversion characteristics, kinetics, and thermodynamics. **Bioresource Technology**, v. 243, p. 37–46, nov. 2017.

CHENG, J. H. Lipid Oxidation in Meat. **Journal of Nutrition & Food Sciences**, v. 06, n. 03, p. 12–14, abr. 2016.

COTTICA, S.M.; AMADO, D. A. V.; AGUIAR, S. C.; BOEING, J. S.; FRANCO, S. L.; ZEOULA, L. M.; VISENTAINER, J. V. Antioxidant activity and lipid oxidation in milk from cows with soybean oil and propolis extract added to their feed. **LWT - Food Science and Technology**, v. 39, n. 2, p. 467–474, abr/jun. 2019.

DALPOSSO, P. V. **Caracterização química e potencial antioxidante de produtos e subprodutos de uva**. 2018. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-Graduação em Processos Químicos e Biotecnológicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, 2018.

DALPOSSO, P. V.; AGUIAR, C. M.; TORQUETO, A. S.; TIUMAN, T. S.; MARTIN, C. A.; ZARA, R. F.; COTTICA, S. M. Optimization of antioxidant extraction and characterization of oil obtained by pressing cold from *Vitis labrusca* seeds. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 2061, n. 01, p. 1–10, fev. 2021.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. Porto Alegre: Artmed, 2010.

DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: Aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 14, n. 2, p. 389–399, abr. 2012.

DOMÍNGUEZ, R.; PATEIRO, M.; GAGAOUA, M.; BARBA, F.J.; ZHANG, W.; LORENZO, J.M. A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. **Antioxidants**, v. 8, n. 10, p. 1–31, set. 2019.

ERICKSON, M. C. Lipid Oxidation of Muscle Foods. In: AKOH, C.C.; MIN, D. B. (Ed.). **Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology**. 2. ed. Nova Iorque: Marcel Dekker, Inc., 2002.

ESTÉVEZ, M.; CAVA, R. Effectiveness of rosemary essential oil as an inhibitor of lipid and protein oxidation: Contradictory effects in different types of frankfurters. **Meat Science**, v. 72, n. 2, p. 348–355, fev. 2006.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). **Assessment and Management of Seafood Safety and Quality: Current practices and emerging issues**. Rome: FAO, 2014.

FEINER, G. **Meat products handbook: Practical science and technology**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2006.

FERNANDES, R. P. P.; TRINDADE, M.A.; LORENZO, J.M.; MUNEKATA, P.E.S.; MELO, M.P. Effects of oregano extract on oxidative, microbiological and sensory stability of sheep burgers packed in modified atmosphere. **Food Control**, v. 63, n.1, p. 65–75, mai. 2016.

FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; ZHI, J. N.; ALESON-CARBONELL, L.; PÉREZ-ALVAREZ, J. A; KURI, V. Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: Application in beef meatballs. **Meat Science**, v. 69, n. 3, p. 371–380, mar. 2005.

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

FIESP; ITAL. **Brasil Food Trends 2020**. Brasil Food Trends, p. 1–176, 2010.

FONT-I-FURNOLS, M.; GUERRERO, L. Consumer preference, behavior and perception about meat and meat products: An overview. **Meat Science**, v. 98, n. 3, p. 361–371, nov. 2014.

FIB (Food Ingredients Brazil). Os tipos e os efeitos da rancidez oxidativa. **Revista Food Ingredients Brasil**, v. 29, p. 38–45, 2014.

FRANCO, D.; CARBALLO, J.; LORENZO, J. M. The use of grape seed extract on meat products: a review. In: Lorenzo Rodríguez, J.M.; Ruiz, D. F. (Ed.). **Grape seeds: nutrient content, antioxidant properties and health benefits**. Nova lorque: Nova Science Publishers, Inc., 2016.

FUKUMOTO, L. R.; MAZZA, G. Assessing antioxidant and pro-oxidant activities of phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 8, p. 3597–3604, jun. 2000.

GARCÍA-LOMILLO, J.; SAN JOSE, M. L. G.; GARCIA, R. P.; HERAS, M. O. RODRÍGUEZ, P. M. Antioxidant effect of seasonings derived from wine pomace on lipid oxidation in refrigerated and frozen beef patties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 77, p. 85–91, abr. 2017.

GENNARO, L.; BOCCA, A. P.; MODESTI, D.; MASELLA, R.; CONI, E. Effect of Biophenols on Olive Oil Stability Evaluated by Thermogravimetric Analysis. **J. Agric. Food Chem.**, v. 46, n. 11, p. 4465–4469, nov. 1998.

GRAY, J. I.; GOMAA, E. A.; BUCKLEY, D. J. Oxidative quality and shelf life of meats. **Meat Science**, v. 43, S. 1, n. 1, p. 111–123, 1996.

GUAN, W.; REN, X.; LI, Y.; MAO, L. The beneficial effects of grape seed, sage and oregano extracts on the quality and volatile flavor component of hair tail fish balls during cold storage at 4 °C. **LWT - Food Science and Technology**, v. 101, p. 25–31, mar. 2019.

HAAK, L.; RAES, K.; DE SMET, S. Effect of plant phenolics, tocopherol and ascorbic acid on oxidative stability of pork patties. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 8, p. 1360–1365, mar. 2009.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v. 22, n. 6, p. 474-476, jul. 1973.

HOPPE, P. P.; KRENNRICH, G. Bioavailability and potency of natural-source and all-racemic α -tocopherol in the human: A dispute. **European Journal of Nutrition**, v. 39, n. 5, p. 183–193, jul. 2000.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: IAL, 2008.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). Food and feed products - General guidelines for the determination of nitrogen by the Kjeldahl method. **International Standard - Method ISO 1871**. Genebra: ISO, 2009.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). Meat and Meat Products - Determination of moisture content (Reference method). **International Standard - Method ISO 1442**. Genebra: ISO, 1997.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). Meat and meat products — Determination of total ash. **International Standard - Method ISO 936**. Genebra: ISO, 1998.

JUSTO, O. R.; MORAES, A. M.; BARRETO, G. P. M.; MERCADANTE, A. Z.; ROSA, P. T. V. Evaluation of the antioxidant potential of plant extracts obtained

by supercritical fluid extraction. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 7, p. 1699–1705, set. 2008.

KAIPERS, K. F. C. **Efeito do extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) como antioxidante em linguiça colonial**. 2017. Dissertação (Mestrado) - Mestrado Profissionalizante em Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2017.

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

KANNER, J.; HAZAN, B.; DOLL, L. Catalytic “Free” Iron Ions in Muscle Foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 36, n. 3, p. 412–415, mai. 1988.

KUMAR, Y.; YADAV, D.N.; AHMAD, T.; NARSAIAH, K. Recent Trends in the Use of Natural Antioxidants for Meat and Meat Products. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, n. 6, p. 796–812, ago. 2015.

LAZZAROTTO, M.; RUIZ, H. Z.; LAZZAROTTO, S. R. S.; SCHNITZLER, E.; MORAES, M. L. T.; CAMBUIM, J.; SANTOS, W.; AGUIAR, A. V. Use of thermogravimetry analysis to quantify total volatile fraction in pine resin. *In*: Congresso Brasileiro de Análise Térmica e Calorimetria. 2014, Serra Negra.

LEE, J. W.; PARK, K. S.; KIM, J. G.; OH, S. H.; LEE, Y. S.; KIM, J. H. BYUN, M. W. Combined effects of gamma irradiation and rosemary extract on the shelf-life of a ready-to-eat hamburger steak. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 72, n. 1, p. 49–56, jan. 2005.

LEVER, T.; HAINES, P.; ROUQUEROL, J.; CHARLESLEY, E. L.; VAN ECKEREN, P.; BURLETT, D. J. ICTAC nomenclature of thermal analysis (IUPAC Recommendations 2014). **Pure and Applied Chemistry**, v. 86, n. 4, p. 545–553, 2014.

LIU, F.; DAI, R.; ZHU, J.; LI, X. Optimizing color and lipid stability of beef patties with a mixture design incorporating with tea catechins, carnosine, and α -tocopherol. **Journal of Food Engineering**, v. 98, n. 2, p. 170–177, mai. 2010.

LORENZO, J. M.; GONZÁLES-RODRÍGUEZ, R. M.; SÁNCHEZ, M.; AMADO, I. R.; FRANCO, D. Effects of natural (grape seed and chestnut extract) and synthetic antioxidants (butylatedhydroxytoluene, BHT) on the physical, chemical, microbiological and sensory characteristics of dry cured sausage “chorizo”. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 611–620, nov. 2013.

MAIA, E.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Avaliação de um método simples e econômico para a metilação de ácidos graxos com lipídios de diversas espécies de peixe. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 53, n. 1-2, p. 27-35, dez. 1993.

MARINHO, R. B. **Estudo da estabilidade termo-oxidativa de biodiesel por rancimat, petrooxy e termogravimetria**. 2012. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2012.

MARTÍNEZ, L.; CASTILLO, J.; ROS, G.; NIETO, G. Antioxidant and antimicrobial activity of rosemary, pomegranate and olive extracts in fish patties. **Antioxidants**, v. 8, n. 4, p. 1–16, abr. 2019.

MORRISSEY, P. A.; SHEEHY, P. J. A.; GALVIN, K.; KERRYH, J. P.; BUCKLEYH, D. J. Lipid stability in meat and meat products. **Meat Science**, v. 49, n. 1, p. 73-86, 1998.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography**, v. 1054, n. 1–2, p. 95–111, out. 2004.

OLIVEIRA, L. E. **Análise térmica dos biodiesel obtidos por rota enzimática e suas respectivas matérias-primas**. 2010. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2010.

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**. 2011. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

OLIVEIRA, R. R.; LAGE, M. E.; NETO, O. J. S.; SALES, M. C. Antioxidantes naturais em produtos cárneos. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia (PUBVET)**, v. 6, n. 10, p. 1-32, 2012.

OLIVEIRA, A. Q. D. C.; COSTA, D.P.B; PAULA, C. L. B.; SOARES, W. P.; SANTIAGO, D. M. Avaliação higiênico-sanitária e nutricional de linguiça tipo frescal com adição de cerveja. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 5, n. 3, p. 26-32, abr. 2019.

OSAWA, C. C.; GONÇALVES, L. A. G; RAGAZZI, S. Titulação potenciométrica aplicada na determinação de ácidos graxos livres de óleos e gorduras comestíveis. **Química Nova**, v. 29, n. 3, p. 593–599, fev. 2006.

OSAWA, C. C.; FELÍCIO, P. E. DE; GONÇALVES, L. A. G. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 655–663, fev. 2005.

OSWELL, N. J.; THIPPAREDDI, H.; PEGG, R. B. Practical use of natural antioxidants in meat products in the U.S.: A review. **Meat Science**, v. 145, p. 469–479, nov. 2018.

PAGLARINI, C. S. **Utilização de extratos comerciais derivados de plantas em produtos cárneos: avaliação da atividade antioxidante**. 2015. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2015.

PALADE, L.M; CHEDEA, V. S. Antioxidant/Pro-oxidant action of polyphenols from grape seeds. In: J. M. Lorenzo Rodríguez e D. F. Ruiz (Ed). **Grape Seeds: Nutrient Content, Antioxidant Properties and Health Benefits**. 1. ed. Nova Iorque: Nova Science Publishers, Inc, 2016.

PAULA, M. M.; SILVA, C.; DROJINSKI, A. A; SILVA, A. R.; BARÃO, C. D.; FILHO, L.C. Valorização de óleos vegetais pela incorporação de compostos bioativos presentes em resíduos agroindustriais. *In*: Encontro anual de iniciação

científica. 2021, Maringá. Maringá: Centro de Tecnologia de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá, 2021. p. 1-5.

PEREIRA, D.; PEREIRA, D.; PINHEIRO, R. S.; HELDT, L. F. S.; MOURA, C.; BIANCHIN, M.; ALMEIDA, J.F.; REIS, A.S.; RIBEIRO, I.S.; HAMINIUK, C.W.I.; CARPES, S.T. Rosemary as a natural antioxidant to prevent oxidation in chicken burgers. **LWT - Food Science and Technology**, Campinas, v. 37, n. 1, p. 17–23, dez. 2017.

PIRES, M. A. **Avaliação da capacidade antioxidante de extratos comerciais de alecrim e chá verde e sua influência na estabilidade de hambúrguer de frango durante armazenamento congelado**. 2014. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2014.

POLÔNIO, M. L. T.; PERES, F. Consumo de aditivos alimentares e efeitos à saúde: desafios para a saúde pública brasileira. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 25, n. 8, p. 1653-1666, ago. 2009.

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. **J. Agri. Food Chem.**, v. 40, n. 11, p. 2182-2185, nov. 1992.

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

RESURRECCION, A. V. A.; REYNOLDS, A. E. Evaluation of Natural Antioxidants in Frankfurters Containing Chicken and Pork. **Journal of Food Science**, v. 55, n. 3, p. 629–631, mai. 1990.

RODRIGUES, G.M. **Determinação de índices de acidez e peróxido em azeite de oliva extra virgem acondicionado em embalagens plásticas sob diferentes exposições à luz**. 2016. Instituto de Ciências e Tecnologia de São Paulo, Barretos, 2016.

SAINI, A.; PANDEY, A.; SHARMA, S.; SURADKAR, U.S.; AMBEDKAR, Y.R.; MEENA, P.; RAMAN, R.; GURJAR, A.S. Assessment of antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and Betal (*Piper betel*) leaves extract combination. **The Pharma Innovation**, v. 9, n. 5, p. 377–380, abr. 2020.

SCHAICH, K.M. Rethinking lipid oxidation. In: AKOH, C.C, ed. **Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology**. 4. ed. New York: Marcel Dekker, 2002.

SCHWARTZ, C. G. K.; JESUS, J. L. L.; RAMOS, F. A. P.; MEZALIRA, T. S.; FERREIRA, R. G.; OTUTUMI, L. K.; SOARES, A. A. Compostos bioativos do bagaço de uva (*Vitis vinífera*): seus benefícios e perspectivas para o desenvolvimento sustentável. In: CORDEIRO, C. A. M. **Tecnologia de alimentos: tópicos físico, químicos e biológicos**. Guarujá: Científica, 2020.

SEBRANEK, J. G.; SEWALT, V.J.H.; ROBBINS, K.L.; HOUSER, T.A. Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. **Meat Science**, v. 69, n. 2, p. 289–296, fev. 2005.

- SHAHIDI, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D. Phenolic Antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 32, n. 1, p. 67–103, set. 1992.
- SHINAGAWA, F. B.; SANTANA, F. C.; ARAUJO, E.; PURGATTO, E.; MANCINI-FILHO, J. Chemical composition of cold pressed Brazilian grape seed oil. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 38, n. 1, p. 164-171, jan/mar. 2018.
- SHIRAHIGUE, L. D.; PLATA-OVIEDO, M.; ALENCAR, S.M.; BISMARA, M.A.; D'ARCE, R.; VIEIRA, T.M.F.S.; OLDONI, T.L.C.; CONTRERAS-CASTILLO, C.J. Wine industry residue as antioxidant in cooked chicken meat. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 45, n. 5, p. 863–870, jan. 2010.
- 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**, v. 22, n. 1, p. 94- 103, abr. 1999.
- SINGH, P. K.; AHLAWAT, S.S.; SHARMA, D.P.; JAIRATH, G.; PATHERA, A. Effect of grape seed extract on storage stability of buffalo veal slices at refrigeration temperature ($4 \pm 1^\circ\text{C}$). **Journal of Food Safety**, v. 38, n. 5, p. 1–10, mai. 2018.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetric of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p.144-158, jan.1965.
- SOARES, M.; WELTER, L.; KUSKOSKI, E. M.; GONZAGA, L.; FETT, R. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca das uvas Niágara e Isabel. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 30, n. 1, p. 59-64, mar. 2008.
- SOUZA, N. E. DE; MATSUSHITA, M.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos: Estrutura, Classificação, Nutrição e Saúde. **Arquivos do Mudi**, v. 2, n. 2, p. 102-107, mar. 1998.
- SOUZA, B. A.; PIAS, K. K. S.; BRAZ, N. G.; BEZERRA, A. S. Aditivos alimentares: aspectos tecnológicos e impactos na saúde humana. **Revista Contexto & Saúde**, v. 19, n. 36, p. 5–13, jan/jul. 2019.
- VISENTAINER, J. V., FRANCO, M., R., B. **Ácidos Graxos em Óleos e Gorduras: Identificação e Quantificação**. Maringá: EDUEM, 2012.
- VOLKMANN, G. C. DE M.; JENSKE, G.; KREMER, L. C. Determinação de ácidos graxos em alimentos por cromatografia gasosa. Freitag Laboratórios, ago. 2017. Disponível em: < <http://freitag.com.br/files/uploads/2017/08/Artigo-Gabriely-Grace-e-Lais.pdf>>. Acesso em: 24 set. 2022.
- WANG, B.; PACE, R.D.; DESSAI, A.P.; BOVELL-BENJAMIN, A.; PHILLIPS, B. Modified extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values in meat with increased specificity and simplicity. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 8, p. 2833–2836, jul. 2006.
- WANG, X.; ZHANG, Y.; REN, H. Effects of grape seed extract on lipid oxidation, biogenic amine formation and microbiological quality in Chinese traditional smoke-cured bacon during storage. **Journal of Food Safety**, v. 38, n. 2, p. 1–8, jan. 2018.

WÓJCIAK, K. M. KARWOWSKA, M. DOLATOWSKI, Z.J. Fatty acid profile, color and lipid oxidation of organic fermented sausage during chilling storage as influenced by acid whey and probiotic strains addition. **Food Science and Technology. Sci. Agric.** v. 72, n. 2, p.124-131, mar/abr. 2015.

YI, C.; SHI, J.; KRAMER, J.; XUE, S.; JIANG, Y.; ZHANG, M.; MAD, Y.; POHORLY, J. Fatty acid composition and phenolic antioxidants of winemaking pomace powder. **Food Chemistry**, v. 114, n. 2, p. 570–576, mai. 2009.