INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MATO GROSSO – CAMPUS BELA VISTA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS – NÍVEL MESTRADO

HAMBÚRGUER MISTO ADICIONADO DE *Rosmarinus officinalis*: CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL

MARCELA RIOS DE ARAÚJO

CUIABÁ – MT
AGOSTO/2015

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MATO GROSSO – CAMPUS BELA VISTA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS – NÍVEL MESTRADO

MARCELA RIOS DE ARAÚJO

HAMBÚRGUER MISTO ADICIONADO DE *Rosmarinus officinalis*: CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL

ORIENTADORA: PROFª. Drª. Rozilaine Aparecida Pelegrine Gomes de Faria. Dissertação apresentada à comissão avaliadora do programa de pós-graduação de ciência e tecnologia de alimentos na área de concentração em Qualidade de Alimentos, como requisito de obtenção para titulo de mestre para como parte obtenção do título de mestre.

CUIABÁ – MT

AGOSTO/ 2015

Divisão de Serviços Técnicos. Catalogação da Publicação na Fonte. IFMT Campus Cuiabá Bela Vista
Biblioteca Francisco de Aquino Bezerra

A663h

Araújo, Marcela Rios de.
Hambúrger misto adicionado de *Rosmarinus officinalis*: caracterização físico-química e sensorial / Marcela Rios de Araújo._ Cuiabá, 2015.
102f.

Orientadora: Profª. Drª Rozilaine Aparecida Pelegrine Gomes de Faria

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tenologia de Alimentos)_. Programa de Pós-graduação. Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Mato Grosso.

1. Malonaldeído – Dissertação. 2. Índice de aceitabilidade – Dissertação. 3. Atividade antioxidante - Dissertação. 4. Composição centesimal – Dissertação. I. Faria, Rozilaine Aparecida Pelegrine Campos de. II. Título.

IFMT CAMPUS CUIABÁ BELA VISTA CDU 637.521.44
CDD 664.07

“Assim como se vestem os lírios do campo, também me vestirei. Pois acima de mim todo poder, o mesmo que me formou, me trouxe e em mim permanece. ”

(Marcelane Rios)

Aos meus pais Victor Hugo e Marcelane ,ao meu esposo Alexandre por todo amor dedicação e carinho.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a DEUS, que sempre me deu forças e me guiou durante toda minha vida, sem Ele nada seria possível.

Aos meus pais, Victor Hugo e Marcelane, meus espelhos de vida, luta e perspicácia sem os quais a minha vida não teria sentido algum, por todo o apoio que me deram desde a ajuda com os custeios do meu mestrado até os mínimos detalhes e sinais de amor, conforto e incentivo.

Ao meu esposo, Alexandre por estar ao meu lado em todos os momentos, me incentivando e me apoiando.

Aos meus companheiros de análises Elaine Carvalho, Samira Patias, Leandro Alves, Erika Costa, Ananda Karla e Júlio Costa por terem me auxiliado em todas as etapas do projeto, sempre dispostos a ajudar, até mesmo nos sábados à tarde.

Aos meus queridos líderes da empresa BRF Luiz Antônio Rodrigues e Pablo Cuelho que, a todo momento, me incentivaram e nunca colocaram obstáculos para que eu realizasse este grande sonho.

À profª. Drª. Rozilaine que, além de orientadora, foi uma verdadeira mãe por saber transmitir, seus conhecimentos, com muita paciência e, quando necessário, pacientemente chamar atenção sempre com elegância, meu muito obrigado.

À profª. Drª Erika Cristina Rodrigues que esteve presente em todo o desenvolvimento e nos momentos difíceis dando-me injeções de ânimo e estímulo para seguir em frente.

Ao sítio Monjolinho por ter doado todas as ervas e à empresa BRF por ter cedido a estrutura e as matérias primas destinadas a fabricação dos hambúrgueres para o estudo.

À Universidade Federal de Mato Grosso, ao Instituto de física, na pessoa do professor Dr. Jorge Luiz B. Faria pelo auxílio com as análises Raman, ao Instituto de Química, na pessoa do professor Dr. Ricardo Dalla Villa e à mestranda de química Jaqueline da Silva Duarte pelo auxílio com as análises CG/MS.

Aos meus colegas de trabalho e mestrado, pelo companheirismo e união que nos fez seguir em frente mesmo nos momentos mais difíceis.

Ao IFMT pelo fomento à pesquisa e a CNPQ e PIBIT pela bolsa.

MARCELA RIOS DE ARAUJO

HAMBÚRGUER MISTO ADICIONADO DE *Rosmarinus officinalis*: CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL

DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MATO GROSSO COMO PARTE DAS EXIGÊNCIAS DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM QUALIDADE DE ALIMENTOS

DATA DA DEFESA PÚBLICA: 26/08/2015

Profa. Dra. Rozilaine Aparecida Pelegrine Gomes de Faria

Orientadora

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Nágela Farias Magave Picanço Siqueira

(IFMT-Bela Vista)

Prof. Dr. Jorge Luiz Brito de Faria

(UFMT- Campus Cuiabá)

CUIABÁ-MT

AGOSTO/2015

RESUMO

Os hábitos alimentares da população tiveram alterações motivadas especialmente pelos processos de urbanização. Esse contexto tem favorecido, substancialmente, o consumo de produtos industrializados, principalmente os congelados. Desta forma, o hambúrguer se tornou um alimento popular devido à sua praticidade. Para minimizar a oxidação lipídica a indústria lança mão de antioxidantes que podem ser sintéticos ou naturais. Havendo vários estudos sobre ervas aromáticas na estabilidade oxidativa de alimentos. Assim, objetivou-se avaliar o efeito antioxidante de erva e óleo essencial de alecrim em hambúrguer misto. Todas as formulações dos hambúrgueres foram elaboradas em uma fábrica sifada e as análises de cor, TBARs e pH foram realizadas no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso. A caracterização do óleo essencial de alecrim foi feita através de CG/MS e espectroscopia Raman na Universidade Federal de Mato Grosso. Os componentes encontrados no óleo nas duas metodologias utilizadas foram: cânfora, eucaliptol e α-pineno. Na análise de pH foi observada diferença significativa nos tempos 45, 60 e 90 dias, sendo o T6 (eritornato de sódio a 0,1%) o que apresentou maior valor no tempo 90, já iniciando o processo de decomposição. Avaliando a análise de cor, o L* (luminosidade) obtivemos diferença significativa nos tempos de 45 e 60 dias. No tempo 45, os tratamentos que apresentaram menores valores foram T6 (eritorbato de sódio a 0,1%), T5 (BHT a 0,01%) e T3 (óleo essencial a 0,1%), já no tempo 60 foram T6 (eritorbato de sódio a 0,1%) e o T4 (erva seca a 0,05% e óleo essencial a 0,05%). Podendo assim dizer, que os antioxidantes sintéticos e os naturais que continham óleo essencial foram os que apresentaram menores valores e, consequentemente, os que tenderam mais para a cor escura. Na análise de TBARS, somente no tempo 60 houve diferença significativa, sendo os tratamentos T1 (erva seca a 0,1%), T2 (erva fresca a 0,1%), T6 (eritorbato de sódio a 0,1%) e T4 (erva seca a 0,05% e óleo essencial a 0,05%) os que apresentaram menores valores de oxidação. Para avaliar a aceitação do hambúrguer sensorialmente e sua caracterização físico química foi escolhido um dos tratamentos que apresentaram menor oxidação, o que continha erva fresca e o tratamento controle sem antioxidante para efeito de comparação. Foram realizadas as análises de pH, atividade de água, perda de peso por cozimento, força de cisalhamento, cor e teste de aceitação, utilizando a escala hedônica de nove pontos desses dois tratamentos denominados T1 (erva fresca a 0,1%) e T2 (controle). Não houve diferença significativa em nenhuma das análises. Conclui-se que, através dos valores de pH, cor e de TBARs os antioxidantes naturais compostos somente de ervas tanto seca como fresca proporcionaram estabilidade oxidativa do hambúrguer, podendo ser substituidos pelos sintéticos eritorbato de sódio e BHT e que utilizando somente erva fresca a 0,1% na formulação de hambúrguer não havera alteração sensorial na caracterização físico química do hambúrguer.

Palavras chave: *Rosmarinus officinalis*, malonaldeído, índice de aceitabilidade, atividade antioxidante, composição centesimal.

ABSTRAT

The eating habits of the population changed especially motivaded by the urbanization process. This context has substantially favored the consumption of manufactured products, principally frozen. Thus, the hamburger became a popular food due its practicality to prepare. To minimize lipid oxidation, the industry uses antioxidants that can be natural or synthetic. There are several studies about aromatic herbs working on the oxidative stabilization of foods. The objective was to evaluate the antioxidant effect of herb and rosemary essential oil in mixed hamburger. All formulations of the burgers were prepared in a factory controlled by a supervisor of the board of federal inspection and color test, TBARs and pH were carried out at the Federal Institute of Education, Science and Technology of Mato Grosso. The characterization of rosemary essential oil was made by GC / MS and Raman spectroscopy at the Federal University of Mato Grosso. The components found in oil in two methodologies were used: camphor, eucalyptol and α-pinene. The pH analysis resulted in significant difference in the times 45, 60 and 90 days, and the T6 (sodium eritornato 0.1%) presented the highest value in time 90 since starting the decomposition process. Evaluating the color test, the L * (brightness) obtained a significant difference in the times 45 and 60 days. At time 45 the treatments that had lower values were T6 (sodium erythorbate 0.1%), T5 (BHT 0.01%) and T3 (essential oil 0.1%), 60 were the time T6 (sodium erythorbate 0.1%) and T4 (dry herb 0.05% and 0.05% essential oil). Leading to conclue that the synthetic antioxidants and natural essential oil containing the lowest values were thus those that were more prone to dark color. In TBARS analysis, only at 60 that had a significant difference, wherein the treatments T1 (0.1% dry herb), T2 (fresh herb 0.1%), T6 (sodium erythorbate 0.1%) and T4 (dry herb 0.05% and 0.05% essential oil) which had lower values oxidation. To evaluate the acceptance of the burger sensory and chemical physical characterization was chosen one of the treatments that showed less oxidation, which contained fresh herb and treatment control without antioxidant for comparison. PH analysis was performed, water activity, weight loss for cooking, shear force, color and acceptance testing using the nine-point hedonic scale of these two treatments, called T1 (fresh herb 0.1%) and T2 (control). There was no significant difference in any of the analyzes. It concluded that through the pH, color and TBARS that natural antioxidants herbal both dry only as fresh provided oxidative stability of the hamburger, which can be substituted by synthetic sodium erythorbate and BHT and using only fresh herb 0 1% in hamburger formulation there is no sensory changes in the chemical and physical characterization of the burger.

Keyword: Rosmarinus officinalis, malondialdehyde, acceptability index, antioxidant activity, chemical composition.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1.	Estruturas do BHA e BHT.....	19
Figura 2.	Estrutura do eritorbato de sódio.....	19
Figura 3.	Mecanismo geral da autoxidação lipídica.....	27
Figura 4.	Reação do teste de TBA entre o ácido 2-tiobarbitúrico e o malonaldeído, formando o composto colorido, medido espectrofotometricamente a 532nm.....	33
Figura 5.	Reação química entre o BHT e o radical DPPH.....	35

CAPÍTULO 2

Figura 1.	Espectro raman do OE de alecrim com picos caracteristicos para cânfora (1), α-pineno (2) e eucaliptol (3).....	57
Figura 2.	Correlação entre as variáveis índice de vermelho (a*) e índice de amarelo (b*) aos 90 dias de armazenamento dos hambúrgueres mistos.....	65
Figura 3.	Correlação entre as variáveis pH e índice de tonalidade (h*) aos 90 dias de armazenamento dos hambúrgueres mistos.....	66

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Características químicas do hambúrguer cru..... 25

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Valores médios ± desvio padrão do pH das amostras de hambúrgueres em relação ao tempo de armazenamento..... 60

Tabela 2. Valores médios ± desvio padrão da luminosidade (L*), índice de vermelho (a*) e índice de amarelo (b*) das amostras de hambúrgueres em relação ao tempo de armazenamento..... 61

Tabela 3. Valores médios ± desvio padrão de índice de saturação (C*) e ângulo de tonalidade (h*) das amostras de hambúrgueres em relação aos tratamentos (T) e tempo de armazenamento..... 63

Tabela 4. Valores médios de TBARS expressos em mg de malonaldeído (MDA/Kg) de amostra em relação ao tempo de armazenamento dos hambúrgueres..... 64

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Formulações dos hambúrgueres para teste de aceitação..... 76

Tabela 2. Resultados das análises físico-químicas..... 80

Tabela 3. Resultado da análise objetiva de cor 81

Tabela 4. Notas de aceitação sensorial de hambúrgueres com erva fresca e controle..... 82

LISTA DE ABREVIAÇÕES

BHA	Butil hidroxianisol
TBHQ	Terc-butil hidroquinona
GP	Ácido gálico
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
SVS/MS	Secretaria de Vigilância em Saúde
IDA	Ingestão Diária Aceitável
FAO	Food and Agriculture Organization
WHO	Food Chemicals Codex
OE	Óleo essencial
UV	Ultra violeta
pH	Potencial Hidrogeniônico
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazina
RSA	Atividade antioxidante
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
MDA	Malonaldeído
MA	Malonaldeído
mg	Miligrama
TMP	1,1,3,3-tetrametoxipropano
TEP	1,1,3,3-tetraetoxipropano
TCA	Ácido tricloroacético
CG/MS	Cromatógrafo gasoso

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1: CONSIDERAÇÕES INICIAIS
1. INTRODUÇÃO 14
2. REVISÃO DE LITERATURA 16
2.1 Tendência na Alimentação **16**
2.2 Aditivos **16**
2.3. Antioxidantes **17**
2.4 Ervas aromáticas **21**
2.4.1 Alecrim 22
2.4.2 Óleo essencial 23
2.6 Qualidade da carne 24
2.6.1 Hambúrguer 24
2.6.2 Oxidação lipídica 25
2.6.2.1 Mecanismo da oxidação lipídica 26
2.6.3 Cor da Carne 28
2.6.4 Potencial Hidrogeniônico (pH) 30
2.7 Métodos de avaliação da atividade antioxidante 31
2.7.1 TBA (Ácido 2-tiobarbitúrico) e Malonadeído 32
2.7.2 Método do sequestro do radical liver DPPH 34
2.8 Avaliação sensorial 35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 37
CAPÍTULO 2 51
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE HAMBÚRGUER MISTO COM A UTILIZAÇÃO DE *ROSMARINUS OFFICINALIS* 52
Resumo 52
Abstract 53
1. Introdução 53
2. Material e Método 54
2.1 Delineamento e modelo experimental 54
2.2 Parâmetros físico químicos 55
2.3 Análise dos dados 56
3. Resultado e Discussão 56
3.1 pH e análise de cor em hambúrguer 59
3.2 Análise da atividade antioxidante 63
4. Conclusão 66

Referências **66**
CAPÍTULO 3 ..... **72**
CAPÍTULO 3: AVALIAÇÃO DA ACEITAÇÃO DE HAMBÚRGUER MISTO ADICIONADO DE ERVA FRESCA DE ALECRIM **73**
RESUMO **73**
ABSTRACT **73**
1. Introdução **74**
2. Material e Método **75**
2.1 Delineamento e modelo experimental 75
2.3 Elaboração dos hambúrgueres 75
2.4 Caracterização físico química dos hambúrgueres 76
2.5 Atividade de água (aw) 77
2.6 Potencial hidrogeniônico (pH) 77
2.7 Análise de cor 77
2.8 Perda de peso por cozimento e força de cisalhamento 77
2.9 Avaliação sensorial 78
2.10 Análise estatística 78
3. Resultado e Discussão **79**
3.1 Caracterização físico química dos hambúrgueres 79
3.2 Análise de cor 80
3.3 Análise sensorial 81
4. Conclusão **82**
Referências **82**
APÊNDICE **86**

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO

A oxidação dos constituintes lipídicos é uma reação importante que limita a vida de prateleira de vários alimentos, sendo um dos mecanismos primários da deterioração da qualidade de produtos alimentícios, especialmente de carnes (BRAGAGNOLO; MARIUTTI, 2009). Este fenômeno causa desvalorização comercial e leva a indústria de produtos cárneos a adotar medidas que o limitem, pois este processo de oxidação também chamado de rancificação acarreta alterações sensoriais nos produtos, tais como, alterações na cor, desenvolvimento de sabor e aroma indesejáveis tornando o alimento impróprio para o consumo, além de provocar alterações que afetam a qualidade nutricional do produto através da formação de compostos mutagênicos e carcinogênicos.

Com a finalidade de inibir ou retardar a oxidação lipídica de óleos, gorduras e alimentos gordurosos, são empregados compostos químicos conhecidos como antioxidantes. Os antioxidantes são um conjunto de substâncias formadas por vitaminas, minerais, pigmentos naturais e outros compostos vegetais e, ainda enzimas que bloqueiam o efeito danoso dos radicais livres, responsáveis pela oxidação lipídica. Eles podem ser sintéticos ou naturais e, para serem utilizados em alimentos, não devem causar efeitos fisiológicos negativos, produzir cores, odores nem sabores anômalos (ORDÓÑEZ, 2005).

Todavia, a adição de antioxidantes sintéticos começou a ser restringida nos últimos anos, devido à diminuição da aceitação pelo consumidor e pelos efeitos danosos à saúde humana. As pesquisas têm se dirigido no sentido de encontrar produtos naturais com atividade antioxidante, os quais permitirão substituir os sintéticos ou fazer associações entre eles (ORDÓÑEZ, 2005).

Devido à crescente demanda pela utilização dos antioxidantes naturais em nível industrial, a presença de compostos fenólicos em plantas tem sido muito estudada pelo fato destes inibirem a oxidação lipídica. Tais subsâncias exibem grande quantidade de propriedades fisiológicas (como antialergênica, antiarteriogênica, anti-inflamatória, antimicrobiana, antitrombótica e vasodilatadora), mas o principal efeito dos compostos fenólicos tem sido atribuído à sua ação antioxidante em alimentos (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006), contudo há necessidade de buscar a melhor forma de utilização das especiarias para esta finalidade, haja visto que os extratos e óleos essenciais elaborados até então têm apresentado bons resultados quanto à atividade antioxidante.

Propriedades antioxidantes nas ervas de *Rosmarinus officinalis* (alecrim) justificam a utilização dessa espécie no presente trabalho, por possuírem em sua composição química a presença de óleos essenciais ricos em terpenos e ácidos fenólicos. Diante do exposto, nesta pesquisa objetivou-se avaliar o efeito antioxidante de erva e óleo essencial de alecrim em hambúrguer misto e avaliar sensorialmente o melhor tratamento.

Desta forma, considerando os aspectos citados anteriormente, fica demonstrada a necessidade da realização do presente estudo, com o objetivo de avaliar a atividade antioxidante de erva e óleo essencial de alecrim aplicado em hambúrguer mistos, onde o tema foi tratado nos capítulos; 2 e 3 da presente dissertação. O Capítulo 2 apresenta a avaliação da atividade antioxidante de hambúrguer misto com a utilização de alecrim e foi redigido de acordo com as normas para publicação do Boletim Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos (**CEPPA).** O capítulo 3 apresenta a avaliação da aceitação de hambúrguer misto adicionado de erva fresca de alecrim e foi redigido de acordo com as normas do boletim para publicação **CEPPA .**

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Tendência na Alimentação

Segundo estudo realizado pelo Brazil Food Trends 2020, as recentes exigências e as princiais tendências dos consumidores mundiais de alimentos, com base em uma análise de relatórios estratégicos produzidos por institutos de referência, agrupadas em cinco categorias: sensorialidade e prazer, saudabilidade e bem-estar, conveniência e praticidade, confiabilidade e qualidade, sustentabilidade e ética. Neste contexto os alimentos industrializados, principalmente os congelados são fortes aliados dos consumidores, uma vez que, entre outras vantagens, representam maior praticidade. (SÃO PAULO, 2010).

A redução de ingredientes sintéticos por especiarias tem sido alvo de estudos e preocupação por parte da comunidade acadêmica, havendo várias pesquisas que visam substituir e/ou reduzir ingredientes sintéticos por naturais devido à nova tendência dos consumidores. Kufner, (2010) avaliou o uso do extrato aquoso de manjerona em linguiça frescal em substituição ao eritorbato, Mariutti, (2009) avaliou o efeito da adição de sálvia e alho em carne de frango substituindo antioxidantes sintéticos, Piedade (2007) utilizou ervas aromáticas em filés de sardinha processada, pesquisas estas que auxiliam as indústrias alimentícias já que de acordo com Airton Vialta, vice-diretor do Instituto de Tecnologia de Alimentos (Ital), as grandes inovações ocorrem principalmente na área de formulação de ingredientes e aditivos, alimentos funcionais, transgênicos e embalagens. Os novos aromas, corantes, amidos modificados, enzimas e moléculas, criados pela indústria de ingredientes e aditivos, assim como os micro-organismos probióticos, antioxidantes e outros componentes que caracterizam a maioria das inovações em alimentos (GOUVEIA, 2006).

Outra tendência são os alimentos semi-prontos, chamados "do freezer ao forno", uma vez que se deseja cada vez mais reduzir o tempo gasto com o preparo de refeições. Nesse contexto entram os insumos da indústria química de ingredientes, com destaque para a indústria de aromas e antioxidantes (GOUVEIA, 2006).

2.2 Aditivos

Conforme a Portaria n° 540 – Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS/MS), de 27 de outubro de 1997, aditivo alimentar é qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem o propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenagem, transporte ou manipulação de um alimento. Ao agregar-se poderá resultar em que o próprio aditivo ou seus derivados se convertam em um componente de tal alimento. Esta definição não inclui os contaminantes ou substâncias nutritivas que sejam incorporadas ao alimento para manter ou melhorar suas propriedades nutricionais.

Os aditivos podem ser classificados em diretos, quando são adicionados ao alimento com um propósito específico, a exemplo dos fosfatos e dos polifosfatos que são aditivos que desempenham a ação de estabilizantes em embutidos cárneos, os realçadores de sabor que potencializam o sabor dos alimentos, os antioxidantes que são aditivos utilizados com a função de retardar o aparecimento de alterações oxidativas no alimento, muitos deles são identificados no rótulo dos produtos. Os aditivos indiretos, normalmente, convertem-se em parte do alimento, mesmo que em quantidades insignificantes (POPOLIM, 2004).

Segundo a Portaria SVS/MS n 540/97, o emprego de aditivos justifica-se por razões tecnológicas, sanitárias, nutricionais ou sensoriais sempre que forem utilizados aditivos autorizados em concentrações tais que sua ingestão diária não supere os valores de Ingestão Diária Aceitável (IDA) recomendados, da mesma forma devem atender às exigências de pureza estabelecidas pela Food and Agriculture Organization (FAO) e Word Health Organization (WHO) ou pelo Food Chemicals Codex.

O uso de aditivos é proibido quando houver evidências ou suspeita de que eles não são seguros para o consumo humano; interferir sensível e desfavoravelmente no valor nutritivo do alimento; servir para encobrir falhas no processamento e/ou nas técnicas de manipulação; encobrir alteração ou adulteração da matéria prima ou do produto já elaborado ou quando induzir o consumidor ao erro, engano ou confusão (BRASIL, 1997).

Entre as 23 classes funcionais de aditivos alimentares, algumas atuam mantendo os alimentos frescos e seguros, evitando a deterioração pelo alongamento da vida útil, como os conservadores e antioxidantes. Outras, aportam ou aprimoram as propriedades sensoriais, como os corantes, aromatizantes, edulcorantes, acidulantes, estabilizantes, emulsificantes, espessantes, umectantes, antiumectantes, espumíferos etc (GAVA et. al., 2008).

2.3. Antioxidantes

Com a finalidade de inibir ou retardar a oxidação lipídica de óleos, gorduras e alimentos gordurosos, são empregados compostos químicos conhecidos como antioxidantes (RAMALHO; JORGE, 2006). Considerando que a oxidação lipídica ocorre através de um mecanismo de reação em cadeia de radicais livres, os antioxidantes podem ser classificados de acordo com seu modo de atuação em primários e secundários (REISCHE et al., 2002).

Devido à crescente preocupação com a saúde há uma tendência cada vez maior de consumo de produtos naturais e uso de condimentos, como antioxidantes naturais, que tem sido objeto de estudo em diversas matrizes como hambúrgueres, almôndegas, embutidos, desidratados e cortes marinados (MARIUTTI, 2008).

A determinação de novas fontes de antioxidantes naturais e o isolamento de compostos vegetais de sementes, frutas, folhas e raízes têm sido observado em

trabalhos e estudos de diversos pesquisadores e cientistas nos últimos anos (RACANICCI et al., 2004).

Das centenas de compostos que têm sido propostos para inibir a deterioração oxidativa, somente alguns podem ser usados em produtos para consumo humano. Na seleção de antioxidantes, são desejáveis propriedades como a eficácia em baixas concentrações, ausência de efeitos indesejáveis nas características sensoriais (cor, odor, sabor) do alimento, compatibilidade com o alimento, fácil aplicação, estabilidade nas condições de processo, armazenamento e não podem ser tóxicos. Além disso, deve-se considerar também fatores como a legislação vigente e o custo na escolha e utilização do antioxidante em escala industrial (RAMALHO; JORGE, 2006).

Os antioxidantes primários são compostos fenólicos que promovem a remoção ou inativação dos radicais livres formados durante a iniciação ou propagação da reação, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia. Os principais e mais conhecidos antioxidantes deste grupo são os polifenóis e tocoferóis, que são naturais e também podem ser classificados como antioxidantes biológicos (RAMALHO e JORGE, 2006).

Antioxidantes secundários ou preventivos são capazes de controlar a oxidação através de diferentes mecanismos: quelante de metais, inativador de oxigênio singlete, seqüestrador de oxigênio triplete e inativador de sensibilizadores no estado excitado. Os carotenóides são uma classe de compostos que possuem capacidade antioxidante, embora sejam considerados excelentes inativadores de oxigênio singlete, eles podem atuar também na quebra da cadeia de reação durante a peroxidação lipídica (BREWER, 2011).

Compostos antioxidantes podem estar naturalmente presentes nos alimentos ou serem adicionados a eles. Os antioxidantes endógenos ocorrem no alimento como uma forma de defesa dos tecidos ao estresse oxidativo ou a agentes oxidantes externos, sendo incluídos nesta definição os compostos fenólicos, os tocoferóis, os carotenoides, o ácido ascórbico, peptídeos e as enzimas antioxidantes (BREWER, 2011). Antioxidantes exógenos sintéticos são adicionados aos alimentos com o intuito de reforçar a proteção contra oxidação lipídica, uma vez que o processamento pode causar a inativação dos antioxidantes naturalmente presentes (DECKER; MEI, 1996).

Os principais antioxidantes sintéticos utilizados em alimentos são os sais de ácido ascórbico e eritórbico e os compostos fenólicos butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), terc-butil hidroquinona (TBHQ) e ésteres do ácido gálico (GP) (CAPITAN et al., 2009).

A atividade antioxidante do BHA, BHT, TBHQ e GP deve-se à presença de anel fenólico na molécula, sendo as hidroxilas capazes de doar um átomo de hidrogênio ao radical livre e assim desativa-lo. O BHA é altamente solúvel em óleos e gorduras e bastante estável ao calor, o que impede sua inativação durante etapas do processamento de alimentos, como o cozimento, pasteurização e fritura. O BHT apresenta propriedades semelhantes às do BHA (Figura 1), contudo sua atividade

antioxidante é inferior devido à presença de dois grupos butil, que causam impedimento estérico à hidroxila (POKORNY; YANISHLIEVA; GORDON, 2008).

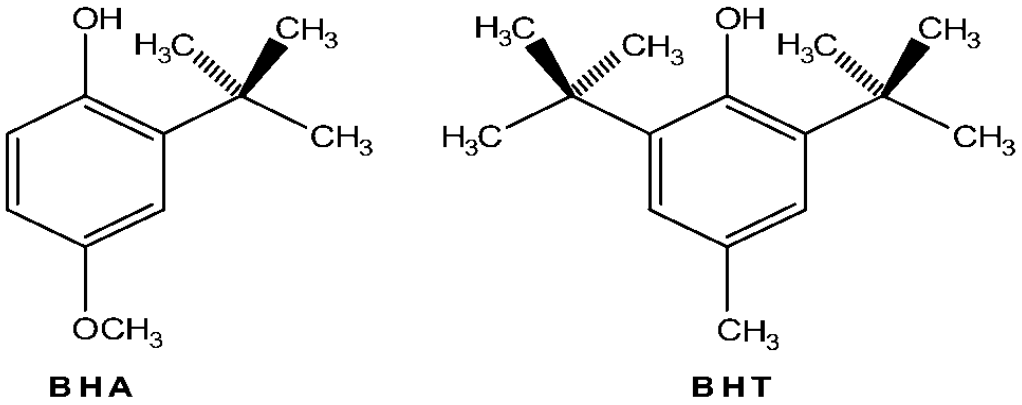

Figura 1: Estruturas do BHA e BHT.

O ácido eritórbico e o eritorbato de sódio (Figura 2) são estereoisômeros do ácido ascórbico e ascorbato de sódio, capazes de impedir a oxidação através do mecanismo de desativação de oxigênio singlete, doação de átomos de hidrogênio e como agente redutor (REISCHE, 2002).

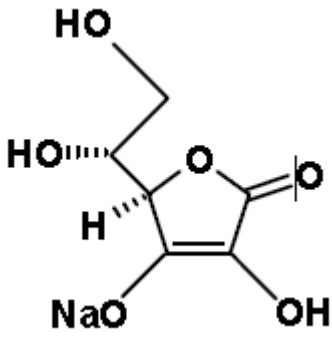

Figura 2: Estrutura do eritorbato de sódio.

Em decorrência dos efeitos deletérios ao organismo humano, uso e o limite do emprego dos antioxidantes nos alimentos passaram a ser regulamentados. No Brasil a Instrução Normativa nº 51, de 29 de dezembro de 2006 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), limita o uso de BHA, do BHT e do GP em 0,1 g/kg

em produtos cárneos industrializados frescos embutidos ou não embutidos, enquanto a concentração do eritorbato de sódio não é limitada (BRASIL, 2006).

Antioxidantes naturais presentes em alimentos e em outros materiais biológicos têm atraído considerável interesse nas últimas duas décadas devido à sua presumida segurança, potencial nutricional e efeitos terapêuticos. Alimentos ricos em antioxidantes têm sido apresentados como tendo papel essencial na prevenção de doenças cardiovasculares, câncer e doenças neurodegenerativas, onde as mais conhecidas são as doenças de Parkinson e Ahlzeimer e problemas causados pelo envelhecimento das células (GÓMEZ, 2003; GENENA, 2005).

O termo antioxidante natural é geralmente empregado para definir antioxidantes que ocorrem naturalmente e que podem ser extraídos de plantas ou tecidos animais (POKORNY; YANISHLIEVA; GORDON, 2008). As propriedades antioxidantes naturais encontradas em algumas frutas, ervas e condimentos estão relacionadas com a presença de compostos fenólicos (LEJA et al, 2007). Muitas das propriedades benéficas nos alimentos de origem vegetal estão associadas à atividade antioxidante e às propriedades nutritivas destes compostos (MARTINEZ-VALVERDE; PERIAGO; ROS, 2000).

Os principais antioxidantes naturais usados em alimentos são o ácido ascórbico, os carotenoides e os compostos fenólicos (tocoferóis, flavonoides e ácidos fenólicos) (BREWER, 2011). Os carotenoides, presentes em alimentos possuem pigmentação amarela, laranja ou vermelha (tomate, abóbora, pimentão, laranja), precursores da vitamina A e o licopeno, ambos parecem apresentar ação protetora contra o câncer; a vitamina E que é a principal vitamina antioxidante transportada na corrente sanguínea pela fase líquida das lipoproteínas, é um componente dos óleos vegetais encontrada na natureza e protege os lipídios da peroxidaçao; e a vitamina C (ácido ascórbico) bastante consumida em grandes doses pelos seres humanos e adicionada a muitos produtos alimentares para inibir a formação de metabólitos nitrosos carcinogênicos (MORAES; COLLA, 2006).

Os antioxidantes mais utilizados na indústria alimentícia são: os tocoferóis, ácidos fenólicos e extratos de plantas como Alecrim e Sálvia (BENZAQUEM, 2015). Estudos preliminares demonstraram que alguns extratos de ervas são tão eficientes quanto os antioxidantes sintéticos (HERNÁNDEZ et al., 2009).

O interesse pelos antioxidantes naturais teve início na década de 80 diante da comprovação de efeitos maléficos causados por doses elevadas de BHT, BHA e TBHQ sobre o peso do fígado e marcado aumento do retículo endoplasmático, entre outras (DURÁN; PADILLA, 1993). Como consequência, ênfase foi dada à identificação e purificação de novos compostos com atividade antioxidante, provenientes de fontes naturais, que pudessem atuar sozinhos ou sinergicamente com outros aditivos, como alternativa para prevenir a deterioração oxidativa de alimentos e limitar o uso dos antioxidantes sintéticos (POKORNÝ, 1991). Os antioxidantes não se tornam radicais livres pela doação de elétrons, pois eles são estáveis em qualquer forma, por isso são

definidos como substâncias capazes de quelar ou estabilizar radicais livres, são compostos aromáticos que contêm pelo menos uma hidroxila (MELO; GUERRA, 2002).

2.4 Ervas aromáticas

Moreira e Mancini (2004) ressaltaram que as especiarias, cuja história se confunde com a da indústria alimentícia, podem atuar sobre alimentos potencialmente funcionais, prevenindo contra o processo oxidativo, protegendo ou agindo como agentes terapêuticos para doenças de resposta inflamatória. Além da ação preventiva de substâncias fenólicas, presentes nas especiarias, sobre a oxidação lipídica em alimentos, os resultados obtidos sugerem, também, um provável efeito anti-inflamatório destes compostos, devido à ação inibitória sobre enzimas da biossíntese dos eicosanóides.

As ervas aromáticas são fornecedoras de proteínas, fibras, componentes voláteis (óleos essenciais), vitaminas (A, C e complexo B), minerais (cálcio, fósforo, sódio, potássio e ferro) e fitoquímicos (substâncias bioativas presentes nas plantas em pequenas quantidades, que atuam como antioxidantes, bactericidas, antivíricos, fitoesteróis e indutores ou inibidores de enzimas. Mesmo considerando os níveis relativamente baixos de ingestão de ervas aromáticas, muitas delas são reconhecidas como excelentes fontes de antioxidantes naturais e, portanto, em última análise, o potencial impacto biológico deste conteúdo não pode ser ignorado. Os fitoquímicos são um dos principais grupos de antioxidantes presentes nas ervas aromáticas (ex. orégano, tomilho, manjerona, sálvia, manjericão, funcho, coentro) (CUNHA; ROQUE, 2009).

Algumas propriedades das ervas aromáticas podem ser perdidas pela ação do calor, devendo, portanto, ser adicionadas aos alimentos no fim da sua preparação, sempre que possível. De uma forma geral, na cozinha as ervas aromáticas são utilizadas na maioria das vezes frescas, podendo também ser comercializadas secas, embora percam algumas propriedades. Contudo, não se deve confundir ervas aromáticas com as especiarias, que são em geral utilizadas secas e, muitas vezes, reduzidas a pó (NINFALI et al, 2005).

Existe grande número de especiarias, as mais comercializadas e utilizadas no mundo, conforme Franco (2006) são: açafrão, aipo, alcarávia, alecrim, camela, cardamomo, coentro, cominho, crava, cúrcuma, endro, erva doce, estragão, femo grego, funcho, gengibre, hortelã, louro, macis, manjericão, manjerona, mostarda, noz moscada, orégano, páprica, pimenta branca, pimenta jamaica, pimenta preta, pimenta vermelha, raiz forte, salsa, sálvia, tomilho.

Há autores que têm estudado ervas como alecrim, sálvia, cravo, canela, tomilho, gengibre, noz-moscada, dentre outras para determinação da atividade antioxidante e identificação dos compostos responsáveis pela atividades mencionadas. Hernández et al. (2009) avaliaram o efeito antioxidante de extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis*

L.) e orégano (*Origanum vulgare L*.) em carne suína. Racanicci et al. (2004) demonstraram que o orégano e o alecrim desidratados tiveram ação antioxidante em almôndegas de peito de frango cozidas e armazenadas sob refrigeração na concentração de 0,050%, o alecrim foi a erva mais eficiente. Em testes realizados para determinar o grau de inibição da oxidação nos diferentes extratos (alcoólico e aquoso) de especiarias verificou-se que o extrato aquoso foi o que apresentou maior atividade antioxidante, 73,78% para o orégano e 82,22% para o alecrim. Constatou-se também, o efeito sinérgico quando utilizado o antioxidante sintético junto com os extratos dos antioxidantes naturais (GOMEZ, 2003).

2.4.1 Alecrim

O alecrim, pertence à Família *Lamiaceae*, família esta que consiste em aproximadamente 3500 espécies nativas principalmente do Mediterrâneo. É uma erva conhecida desde a antiguidade por seus efeitos medicinais. Diversos estudos têm apontado tal especiaria como antioxidante e antimicrobiana. É uma das primeiras espécies da família a serem identificada e classificada (AFONSO et al., 2008).

O alecrim se apresenta como característica botânica por ser arbusto podendo atingir dois metros de altura, com folhas e flores aromáticas, produzindo flores azuis ou brancas e sabor picante. A parte inferior das folhas é de cor verde acizentada, enquanto a superior é quase prateada. A planta exala aroma forte e agradável, sendo uma erva muito usada (CARVALHO, 2002) e utilizada com fins culinários, medicinais e aromáticos, sendo o óleo essencial aplicado em cosméticos e perfumaria (MAY et al., 2010).

A família Lamiaceae engloba diversas plantas aromáticas, das quais é possível extrair óleo essencial aromático, que apresenta em sua composição química, complexa mistura de hidrocarbonetos, álcoois e compostos carbonílicos (WERKER, 1993).

As partes usadas são as folhas, na forma in natura ou secas e trituradas (em pó). O óleo extraído dos ramos e das folhas tem sido utilizado na indústria de cosméticos (perfumes, desodorantes e tônicos para cabelo). O alecrim ajuda a regular as funções hepáticas e tem propriedades diuréticas, digestivas, tônicas e antissépticas, é muito utilizado como ingrediente indispensável no preparo de molhos para saladas, carnes e frangos (CARVALHO, 2002).

O alecrim, também é popularmente conhecido como alecrim-de-jardim e alecrim-rosmarino. Seu nome em latim, “*Rosmarinus*” significa “o orvalho que vem do mar”, em alusão ao seu aroma abundante nas praias mediterrâneas, onde o alecrim crescia e se desenvolvia espontaneamente. A palavra “officinalis” significa que era uma planta reconhecida pela prática médico-herborista (FARIA, 2005).

É uma erva que tem sido muito estudada devido ao seu elevado potencial antioxidante. Bragagnolo et al. (2005) verificaram que adição de alecrim foi um

excelente antioxidante em peito de frango submetido a alta pressão, armazenado sob refrigeração e posterior tratamento térmico. A carne de pescoço de frango mecanicamente separada, adicionada de extrato de alecrim e posteriormente desidratada apresentou boa estabilidade em relação à oxidação lipídica durante o armazenamento (NISSEN et al., 2000). O alecrim foi eficiente também quando adicionado em amostras de peito e coxa de frango, com e sem sal, submetidas a alta pressão, cujos resultados de radicais livres detectados por espectroscopia de ressonância paramagnética (EPR) e de produtos secundários da oxidação lipídica foram sempre menores nas amostras adicionadas de alecrim do que nas amostras sem adição de alecrim (BRAGAGNOLO et al., 2007).

Extratos de alecrim estão disponíveis comercialmente como antioxidantes sendo que diversas substâncias com atividade antioxidante foram identificadas nos extratos da folha de alecrim, dentre as quais estão o ácido rosmarínico, carnosol e ácido carnósico (VELAZCO, 2005).

2.4.2 Óleo essencial

São misturas complexas de compostos voláteis, líquidos e geralmente odoríferos. São solúveis em solventes apolares e possuem solubilidade limitada em água, mas suficiente para aromatizar as soluções aquosas, que são conhecidas como hidrolatos; evaporam rapidamente, quando expostos ao ar à temperatura ambiente, por isso, são chamados de essências, óleos voláteis ou etéreos. Geralmente, quando recentemente extraídos, são incolores ou amarelados (SIMÕES et al., 2007).

A estrutura química dos OE é composta basicamente por carbono, oxigênio e hidrogênio, sendo sua classificação química difícil, visto serem formados por uma mistura de diversas moléculas orgânicas, como hidrocarbonetos terpênicos, alccois, éteres, esteres, aldeídos, cetonas, fenóis, entre outras. Os OE apresentam-se em misturas de diferentes concentrações de constituintes químicos, tendo, normalmente, um ou dois compostos majoritários. A composição dos OE é determinada geneticamente, podendo variar de acordo com a origem botânica, quimiotipo, ciclo vegetativo, fatores da natureza e método de obtenção (SIMÕES et al., 2007). Os compostos mais encontrados são os monoterpenos não-oxigenados, como α-pineno, β-pineno, canfeno, mirceno e limoneno; os monoterpenos oxigenados, como 1,8-cineol, cânfora, linalol, verbinol e terpineol; e os sesquiterpenos, como α – e β-cariofilenos e α-humuleno (GOMES, 2003).

O Brasil é um dos destaques na produção de óleo essencial (OE), ao lado da Índia, China e Indonésia, que são considerados os grandes produtores mundiais. A posição do Brasil atualmente deve-se aos óleos essenciais críticos (subprodutos da indústria de sucos); no passado, o país, se destacava como exportador de OE de pau-rosa, sassafrás e menta. Nos dois últimos casos, passou à condição de importador. O mercado mundial de OE gira em torno de US$ 15 milhões/ano, apresentando crescimento aproximado de 11% ao ano (BIZZO et al., 2009).

A maioria dos OE era estudada no aspecto do aroma e da química das fragrâncias somente em alimentos aromáticos, bebidas e outros. Atualmente, os OE e seus constituintes tem ganhado maior destaque devido à sua posição como produto natural, sua grande aceitação pelos consumidores, seu potencial de uso multifuncional e, aos riscos potenciais dos aditivos sintéticos. De fato, em muitos estudos têm sido relatadas propriedades antimicrobianas, antifúngicas, antioxidantes e sequestradoras de radicais e, em alguns casos, uma aplicação direta em alimentos tem sido testada (SACCHETTI et al., 2005). Brenes e Roura, (2010) têm mostrado que alguns óleos essenciais tem forte propriedades antioxidante e antimicrobiana; portanto, eles podem ser usados na produção de alimentos como um alternativa possível aos aditivos conservantes sintéticos, limitando o o crescimento de agentes patogénicos e aumento da vida de prateleira de alguns alimentos.

Diversas pesquisas têm revelado que a atividade antibacteriana de óleos essenciais pode ser influenciada por vários parâmetros, com destaque para o tipo, composição, concentração, processamento e estocagem do óleo essencial. Por outro lado, o tipo de microrganismo e composição do substrato utilizado para crescimento do microrganismo também podem fornecer resultados distintos para esta propriedade dos óleos (BERTINI et al., 2005; NASCIMENTO et al., 2007).

O direcionamento para uma utilização adequada do óleo essencial pode estar intimamente relacionado com a sua composição. Por exemplo, um óleo rico em cânfora pode constituir bom agente antimicrobiano em alimentos, mas outro com predominância de 1,8-cineol pode ser preferido para uso terapêutico. Por isso, determinar a composição química do óleo essencial é importante para aproveitar suas potencialidades e valorizá-lo comercialmente, visto a caracterização estar diretamente ligada com o seu potencial antimicrobiano (PORTO; GODOY, 2001).

2.6 Qualidade da carne

Três características são importantes na qualidade da carne e produtos cárneos: aparência / cor, textura e sabor são os principais atributos que afetam a aceitação do consumidor e a peroxidação lipídica é a causa principal dessas deteriorações de qualidade em produtos cárneos (MIN; AHN, 2005).

2.6.1 Hambúrguer

Hambúrguer é um produto cárneo industrializado, obtido de carne moída dos animais de açougue, adicionado, ou não, de tecido adiposo e ingredientes; moldado e submetido a processo tecnológico adequado. Trata-se de produto cru, semi-frito, cozido, frito, congelado ou resfriado de acordo com sua classificação. Na tabela 1 encontram-se as principais características químicas do hambúrguer cru ,segundo o seu Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (BRASIL, 2000).

Tabela 1: Características químicas do hambúrguer cru

%	Hambúrguer cru
Gordura (máx.)	23,0
Proteína (mín.)	15,0
Carboidratos totais	3,0
Teor de cálcio (máx. base seca) *	0,1

*0,45% em hambúrguer cozido

Este alimento se tornou popular pela praticidade que representa, pois possui nutrientes que alimentam e saciam a fome rapidamente, o que combina com o estilo de vida de quem se instala em centros urbanos (HAUTRIVE et al, 2008). A versatilidade do sanduiche também é um diferencial. Atraindo pessoas de diversas faixas etárias, o hambúrguer pode estar presente, tanto nos momentos de trabalho como nos de lazer, como uma opção de refeição rápida que pode ser consumida em qualquer horário (ARISSETO, 2003).

2.6.2 Oxidação lipídica

Um dos maiores desafios para a indústria de carnes é oferecer produtos macios, suculentos e com cor e sabor agradáveis, e que estas características de frescor mantenham-se estáveis durante toda a vida de prateleira, com a maior segurança e o menor custo possíveis. Os alimentos cárneos, devido a sua riqueza na composição química (umidade, proteínas, gorduras e outros nutrientes) são produtos bastante susceptíveis a alterações de ordem físico-química e microbiológica. Dentre estas alterações, a oxidação lipídica e a oxidação da cor são difíceis de ser controladas, principalmente devido a sua complexidade e variabilidade. São reações de ordem físico-química, podendo ser potencializadas por ação microbiológica (OLIVO et al., 2006).

Os lipídeos são importantes componentes dos produtos cárneos, conferindo características sensoriais desejáveis aos mesmos. De outra maneira, são facilmente oxidáveis, levando à rancificação com a produção de substâncias indesejáveis e

comprometendo a qualidade e vida útil dos produtos. As substâncias tóxicas produzidas são cetonas, aldeídos, álcoois, ácidos e hidrocarbonetos, responsáveis pelo odor e gosto característico de ranço (OLIVO et al., 2006). Além de provocarem outras alterações que irão afetar não só a qualidade nutricional, devido à degradação de vitaminas lipossolúveis e de ácidos graxos essenciais, mas também a integridade e segurança dos alimentos, através da formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos (CALLUCCI et al., 2003).

Temperatura, luz, estresse mecânico extremo, aeração e a natureza da composição de produtos cárneos, pigmentos heme, ferro, cobre e magnésio, provenientes da médula óssea, alto teor de gorduras insaturadas e poucos tocoferóis, são outros fatores que aceleram a ocorrência da rancidez oxidativa (AMBIEL; WURLITZER, 2000).

A oxidação é geralmente tratada como a mais frequente forma de ocorrência da deterioração de lipídeos, o qual conduz ao desenvolvimento da rancidez, formação de compostos responsáveis por off-flavors, polimerização, reversão e outras reações, causando redução da vida de prateleira e do valor nutritivo do alimento. Os lipídeos ocorrem na maioria dos alimentos e a maioria (mais de 90%) esta na forma de triacilgliceróis, que são ésteres de ácidos graxos e glicerol. Os dois maiores componentes envolvidos na oxidação lipídica são os ácidos graxos insaturados e o oxigênio (POKORNÝ et al., 2001).

A carne de frango é um alimento altamente susceptível a oxidação lipídica em função do elevado teor de ácidos graxos insaturados na sua composição. A formação de óxidos de colesterol, as alterações na composição da ácidos graxos e a consequente formação de compostos voláteis provenientes da oxidação lipídica possuem um papel de destque dentre os fatores responsáveis pela perda de qualidade e das características nutricionais durante o processamento e o armazenamento da carne de frango (BRAGAGNOLO; MARIUTTI, 2009).

Além dos aspectos sensoriais, existem riscos à saúde. Os radicais livres estão envolvidos na patogenia de muitas doenças, desde infecção até doenças cardiovasculares. Porém em alimentos sua principal função deletéria é promover a oxidação de ácidos graxos e colesterol (TORRES; FERRARI, 2000).

2.6.2.1 Mecanismo da oxidação lipídica

Os lipídios podem ser oxidados de diferentes formas, em função do meio e dos agentes catalisadores. Os mecanismos mais conhecidos são a oxidação enzimática, a fotoxidação e a autoxidação.

A oxidação por via enzimática ocorre por catálise enzimática, por ação da lipoxigenase, que atua sobre os ácidos graxos poliinsaturados (como por exemplo ácidos linoléico e linolênico e seus ésteres), catalisando a adição de oxigênio à cadeia hidrocarbonada poliinsaturada, formando peróxidos e hidroperóxidos com duplas

ligações conjugadas e que podem participar de diferentes reações de degradação (SILVA et al., 1999).

O mecanismo de fotoxidação de gorduras insaturadas é promovido essencialmente pela radiação UV em presença de sensibilizadores (como clorofila, mioglobina e outros) que absorvem a energia luminosa de comprimento de onda na faixa do visível e a transferem para o oxigênio triplete ($3O_2$), gerando o estado singlete ($1O_2$) – forma eletronicamente excitada, conseqüência da absorção de energia do oxigênio no estado fundamental. O oxigênio singlete reage diretamente com as ligações duplas por adição, formando hidroperóxidos diferentes dos que se observam na ausência de luz e de sensibilizadores, e que, por degradação posterior, originam aldeídos, álcoois e hidrocarbonetos (SILVA et al., 1999).

A autoxidação de lipídios e a geração de radicais livres são fenômenos naturais em sistemas biológicos e alimentos (BERSET, 1996).

Os dois grandes componentes envolvidos na oxidação lipídica são os ácidos graxos insaturados e o oxigênio (ERICKSON, 2002). No processo de oxidação, o oxigênio presente na atmosfera é adicionado aos ácidos graxos, criando intermediários instáveis que, eventualmente, sofrem clivagem e irão formar aromas indesejáveis. Embora a oxidação enzimática, através das enzimas peroxidase, lipoxigenases, cicloxigenases e enzimas do microssomo possa ocorrer, o mais comum e importante processo pelo qual ácidos graxos insaturados e oxigênio interagem é através do mecanismo de radical livre, caracterizado por 3 fases principais, as quais estão representadas na Figura 3.

Iniciação: $RH \rightarrow R\cdot + H\cdot$

Propagação: $R\cdot + O_2 \rightarrow ROO\cdot$

$ROO\cdot + RH \rightarrow ROOH + R\cdot$

Terminação: $ROO\cdot + R\cdot \rightarrow ROOR$

$ROO\cdot + ROO\cdot \rightarrow ROOR + O_2$

$R\cdot + R\cdot \rightarrow RR$

Figura 3: Mecanismo geral da autoxidação lipídica.

Onde: RH = ácido graxo insaturado; R· = radical livre; ROO· = radical peróxido e ROOH = radical hidroperóxido.

Na fase de iniciação, o ácido graxo insaturado forma um radical livre na presença de luz e calor, através da abstração de um átomo de hidrogênio de sua molécula e reage rapidamente com oxigênio triplete ($3O_2$) formando um radical peroxila. A fase de propagação envolve a continuação e a aceleração da reação em cadeia que começou na iniciação. Desta forma, os radicais produzidos na fase de iniciação poderão reagir com outros ácidos graxos insaturados. Durante a propagação, os radicais livres formados na etapa de iniciação são convertidos em outros radicais, formando os produtos primários de oxidação: peróxidos e hidroperóxidos. São os radicais livres formados na etapa inicial os responsáveis pela propagação da reação (SILVA et al., 1999; COUPLAND; MCCLEMENTS, 1996).

A abstração de hidrogênio na fase de propagação da autoxidação ocorre preferencialmente nos átomos de carbono, onde a energia de dissociação da ligação é baixa. Os ácidos graxos saturados são bastante estáveis e não se oxidam a uma velocidade significativa, enquanto a energia de dissociação da ligação C-H é reduzida pela proximidade de um grupo alceno e a abstração de hidrogênio ocorre mais rapidamente no grupo metileno entre dois grupos alcenos em um ácido graxo poliinsaturado. Consequentemente, a velocidade de oxidação é muito maior quando ácidos graxos poliinsaturados estão presentes no alimento (MARIUTTI, 2009).

Os hidroperóxidos ainda podem se decompor para produzir álcoois, aldeídos, ácidos, cetonas ou outras substâncias menos reativas. Os aldeídos voláteis são particularmente importantes por contribuírem com o aroma de oxidado. Os tipos de produtos de decomposição, formados durante a oxidação, estão relacionados à composição de ácidos graxos, por exemplo, o hexanal e o pentanal são derivados da oxidação de ácidos graxos n-6, como o ácido linoleico, e o propanal, da oxidação de ácidos graxos n-3, como o ácido linolênico. O hexanal é normalmente formado em grandes quantidades durante a oxidação dos lipídios via o 13-hidroperóxido de ácido linoleico e, embora não seja um dos aldeídos ao qual o paladar seja mais sensível, ele é comumente monitorado para verificar a formação de produtos secundários. Embora os compostos voláteis representem apenas uma pequena porção dos produtos de oxidação dos lipídios, estes produtos são os responsáveis pela percepção de off-flavor pelos consumidores (MARIUTTI, 2009).

A terminação é o estágio onde os radicais livres começam a reagir entre si formando espécies não-radicais. Nesta etapa de terminação ocorre a interrupção das reações em virtude da redução da quantidade de ácido graxo insaturado no sistema, o que faz com que os radicais livres liguem-se entre si formando compostos estáveis. Formam-se os produtos secundários de oxidação, obtidos por cisão e rearranjo dos peróxidos (epóxidos, compostos voláteis e não voláteis) (SILVA et al., 1999).

2.6.3 Cor da Carne

A cor é um importante atributo de qualidade, pois é um dos primeiros aspectos sensoriais a ser avaliado pelos consumidores nas gôndolas dos supermercados, constituindo fator decisivo no momento da aquisição do produto. Essa impressão optica é relacionada, de imediato, a diversos aspectos ligados à qualidade e ao grau de frescor do produto (ORDÓÑEZ et al., 2005; RAMOS; GOMIDE, 2009).

Os pigmentos presentes na carne são constituídos, principalmente, por duas proteínas: a hemoglobina, que é o pigmento do sangue, e a mioglobina, que é o pigmento dos músculos. A mioglobina consiste de uma porção protéica, denominada globina (é uma proteína globular) e de uma porção não-protéica, denominada "anel-heme". A porção heme do pigmento é importante na determinação da cor da carne, uma vez que esta depende parcialmente do estado químico do ferro presente nesse anel. Se no estado oxidado, o ferro (íon férrico – Fe^{3+}) é incapaz de reagir com outras moléculas, na forma reduzida (íon ferroso – Fe^{2+}), reage rapidamente com a água e o oxigênio molecular (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

A quantidade de mioglobina varia com a espécie, sexo, idade, localização anatômica do músculo e atividade física, sendo que a mioglobina constitui-se de 80 a 90% do total de pigmentos (ROÇA, 2000). As altas concentrações de gordura poliinsaturada na carne de aves são susceptíveis a auto-oxidação, que além das deteriorações já mencionadas também provoca alterações na cor da carne. Segundo Hernández et al., (2009), quando ocorre a oxidação lipídica os pigmentos heme (mioglobina e hemoglobina) também oxidam, num sistema acoplado de reações lipídio-pigmento. O resultado é uma mudança de cor. A cor da carne de frango varia da tonalidade cinza a vermelho pálido (VENTURINI et al., 2007).

A cor das carnes frescas é definida pela quantidade relativa de três formas de mioglobina: mioglobina em seu estado reduzido (Mb) de cor vermelha púrpura, oximioglobina (O_2Mb) de cor vermelha brilhante e metamioglobina (MetMb), com a molécula oxidada (Fe^{3+}), de cor marrom. A cor vermelha da carne pode adquirir tons de verde, marrom ou cinza, devido à produção por bactérias, de H_2S, compostos oxidantes como peróxidos, por exemplo (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

A carne com predominância de fibras vermelhas possui maior concentração de mioglobina que aquelas em que ha predominância de fibras brancas. Essa diferença está relacionada com o metabolismo respiratório (oxidativo) predominante nos músculos vermelhos, em que o armazenamento de oxigênio, realizado pela mioglobina, é consistente com a elevada proporção de enzimas envolvidas no metabolismo oxidativo e a baixa quantidade de enzimas glicolíticas encontradas nessas fibras. Dependendo do tipo de músculo com predominância de fibras brancas, a quantidade de mioglobina é quase, ou praticamente, indetectável (RAMOS; GOMIDE, 2009).

No caso de carnes de aves e peixes, a ênfase dada à cor é diferente da observada em animais de carne vermelha. A falta de pigmentação nos músculos do

peito de peru e galinhas, por exemplo, é desejável pelo consumidor (RAMOS; GOMIDE, 2009).

Da carne crua do peito de frango espera-se uma coloração pálida, enquanto na coxa uma coloração vermelha escuro. Essa variação deve-se principalmente à atividade do músculo, ou seja, quanto maior a atividade muscular, maior a pigmentação. Os pigmentos específicos da carne capazes de transportar oxigênio possibilitam a via metabólica para obtenção de energia que é requerida em maior quantidade nos músculos com maior atividade. A perda de cor da carne pode ser relacionada à quantidade destes pigmentos presentes, ao estado químico dos pigmentos, ou à iluminação do ambiente (NORTHCUTT, 1997).

Allen et al. (1998) mostraram que variações na cor da carne do peito podem ser devido, primeiramente, aos efeitos do pH, o que, posteriormente, afeta a vida útil da carne do peito, desenvolvimento do odor, umidade durante a marinação, perdas de exsudato, capacidade de retenção de água e perdas por cozimento.

2.6.4 Potencial Hidrogeniônico (pH)

O potencial hidrogeniônico (pH) da carne é um importante parâmetro de qualidade, pois indica o estado de conservação da carne fresca, expressando a concentração de íons de hidrogênio livres no músculo. A capacidade de conservação da carne depende do curso da acidificação após o sacrifício do animal, e é considerado importante determinante do crescimento microbiano, sendo a acidificação da carne bovina uma excelente barreira ao processo de deterioração. O Laboratório Nacional de Referência Animal - LANARA considera carne para consumo, aquela que apresenta valores de pH entre 5,8 e 6,2. Consumo imediato valores de pH entre 6,2 e 6,4, sendo que, valores acima de 6,4 apresentam estágio inicial de decomposição (BRASIL, 1981).

Um músculo de frango vivo possui o valor do pH de 7,2. Ocorrido o abate, a carne continua em processo bioquímico, no qual o armazenador energético (glicogênio) do músculo é transformado em ácido lático através da ação de várias enzimas. O pH da carne de frango diminui devido à formação ácida, em que a carne de peito deve apresentar pH final entre 5,7 e 5,9. Passadas 24 horas, se o pH estiver superior a 6,2, a carne de frango irá conter grande retenção de água. Caso o pH se encontre abaixo de 5,8 em menos de 1 hora, teremos a carne “PSE” (do inglês “pale, soft and exsudative” – pálida, flácida e exsudativa), caracterizado pela má retenção de água, além do aspecto pálido e flácido. (VENTURINI et al., 2007).

A influência do pH final do músculo sobre os micro-organismos é decisiva na qualidade da carne. Todos eles possuem um pH ótimo em que seu crescimento é máximo e um mínimo que corresponde à acidez máxima que permite seu desenvolvimento. Existe um pH máximo, que corresponde à alcalinidade máxima, tolerada pelos micro-organismos. A maioria das bacterias são favorecidas por um pH próximo à neutralidade ou ligeiramente alcalino (6,8 -7,5). Algumas preferem um pH

mais baixo (4,0 -6,0). A maioria dos fungos são ácido-resistentes, com pH ótimo entre 4,0 e 6,0, e valores entre 2,0 e 9,0 para as leveduras e de 2,0 a 11,00 para bolores (BOURGEOIS et al., 1994).

Desta forma, o pH do alimento influi sobre o crescimento microbiano, o pH do produto também pode modificar o desenvolvimento dos micro-organismos. Nas carnes refrigeradas, as bactérias atacam em primeiro lugar a glicose, os aminoácidos e outros compostos de baixo peso molecular, como os nucleotídeos. A utilização destes compostos produz aumento no pH, que pode mudar desde aproximadamente 5,6 até 8,5, principalmente a formação de amoníaco por degradação bacteriana dos aminoácidos. Por isto, tem-se utilizado os valores de pH para estabelecer a capacidade de conservação da carne. Pode-se correlacionar junto ao número de micro-organismos contaminantes o valor de pH no qual inicia-se o processo de decomposição da carne, em torno de 6,5 (HAYES, 1993).

2.7 Métodos de avaliação da atividade antioxidante

A avaliação do estado de oxidação de óleos, gorduras e alimentos gordurosos, ou seja, a medida do ranço, é uma determinação importante a nível industrial. Trata-se, em primeiro lugar, de um meio de controlar e garantir a qualidade das matérias primas adquiridas, bem como um método de controle de qualidade dos produtos comercializados (BERSET, 1996), Acrescendo ainda o interesse da sua aplicação ao estudo sistemático do desenvolvimento do ranço.

Para avaliação de óleos, gorduras e alimentos estão descritos dezenas de métodos diferentes (físicos, químicos e físico-químicos) para a avaliação da estabilidade oxidativa. Porém, nenhum método se correlaciona de modo perfeito com as modificações organolépticas produzidas no decurso das reações de oxidação. Cada método fornece informações sobre um estado particular do processo oxidativo, variável em função das condições aplicadas e dos substratos lipídicos usados (BERSET, 1996).

Diversas técnicas têm sido utilizadas para se determinar a atividade antioxidante *in vitro*, de forma a permitir rápida seleção de substâncias e/ou misturas promissoras. Nota-se aumento no uso da avaliação da capacidade antioxidante em alimentos, produtos naturais, fármacos e cosméticos. Este interesse começou a se expandir a partir da década de 90, quando começou a ser constatada a influência benéfica de muitos produtos naturais na saúde humana (TOMEI; SALVADOR, 2007). Da mesma forma, tornou-se também crescente a busca e a validação de metodologias para a avaliação da atividade antioxidante em matrizes complexas, como alimentos, produtos naturais e fluidos biológicos (SANCHEZ-MORENO, 2002; ROGINSKI; LISSI, 2005).

Dentre os métodos utilizados para se estimar a capacidade antioxidande estão o ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), desenvolvido originalmente por Cao, Alessio e Cutler (1993), que mede a capacidade antioxidante em sequestrar radicais peroxil gerados por uma fonte radicalar; a autoxidação do sistema β-caroteno/ácido

linoleico, que atua como gerador de radicais livres, os quais interagirão com o β-caroteno ocasionando o decaimento da sua absorbância (MELO et al., 2006; JAYPRAKASHA et al., 2007; OLDONI, 2007); FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), que está baseado na capacidade de fenóis em reduzir Fe^{3+} em Fe^{2+} (STRATIL; KLEJDUS; KUBAN, 2006; HUKKANEN et al., 2006); $ABTS^{+}$ (2, 2`-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)), que consiste em se monitorar o decaimento do cátion-radical ABTS produzido pela oxidação do $ABTS^{+}$, quando amostra contendo antioxidante é adicionada é o Rancimat, que determina a estabilidade oxidativa da amostra, por meio da detecção de ácidos voláteis a 110°C (STRATIL; KLEJDUS; KUBAN, 2006).

Em carnes ou produtos cárneos, os métodos mais comumente utilizados para monitorar a oxidacao lipídica primária sao a determinacao de mudancas nos ácidos graxos poliinsaturados de fosfolipídios e mudancas no valor de peroxido. A utilidade do monitoramento das mudancas primárias é limitada aos estágios iniciais de oxidacao lipídica. Para monitorar produtos da oxidacao lipidica secundaria, o metodo mais usado e o 2-ácido tiobarbiturico (TBA) (AJUYAH et al.,1993).

Essas metodologias vêm sendo bastante utilizadas na determinação da atividade antioxidante de alimentos e produtos naturais devido à sua relativa simplicidade, principalmente os métodos indiretos (reação de oxi-redução entre o oxidante e o antioxidante) como o $ABTS^{+}$ e o FRAP, que propicia a aplicação em rotinas de laboratório (TOMEI; SALVADOR, 2007).

Existem muitos métodos de análise da atividade antioxidante, com fundamentos, mecanismos de ação, maneiras de expressar resultados e aplicações muito diferentes. Por isso, torna-se difícil escolher os métodos apropriados. A comparação de dados a partir de diferentes estudos também é difícil, sendo preferível analisar uma bateria de ensaios com medidas diferentes aspectos químicos dos antioxidantes e compará-los com antioxidantes sintéticos consagrados, como o BHT. Dessa forma, é possível gerar um perfil antioxidante completo (OLIVEIRA; VALENTIM; GOULART, 2009).

2.7.1 TBA (Acido 2-tiobarbitúrico) e Malonadeído

O número de TBA é obtido por meio da quantidade em gramas de malonaldeído por Kilograma de carne. Quanto menor o número de TBA, melhor deverá ser o sistema antioxidante (VIEIRA, 2003). O malonaldeído (MDA), um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados, formado durante o processo oxidativo – o MDA é um dialdeído de três carbonos, com grupos carbonilas nos carbonos C-1 e C-3 (ANGELO, 1996). Pode ser encontrado em diversos alimentos, entretanto nos gordurosos a sua concentração dependente da instauração dos ácidos graxos, da presença de metais, do pH e do tempo e temperatura de cocção a que esses alimentos estiverem submetidos (ULU,2004). É considerado o produto secundário da oxidação lipídica mais abundante, e, por ser aldeído bifuncional, é muito

reativo, podendo interagir através de ligações cruzadas com o DNA e proteínas (SOUZA, 2006).

É um teste altamente empírico e foi sugerido primeiramente por Patton, keeney e Kurtz, em 1951, para leites e produtos lácteos (MEHLENBACHER, 1960; CECCHI, 1999).

A reação envolve o ácido 2-tiobarbitúrico como o malonaldeído (Figura 4), produzindo um composto de cor vermelha, medido espectrofotometricamente a 532nm de comprimento de onda (de acordo com a metodologia, esse comprimento de onda pode variar, situando-se ao redor de 500 a 550 nm). A formação do composto TBA-MDA, na proporção de 2:1, é possivelmente iniciada pelo ataque nucleofílico, envolvendo o carbono 5 do TBA e o carbono 1 do MDA, seguido de desidratação e reação similar subsequente do composto intermediário com uma segunda molécula de TBA na proporção de 1:1. A quantificação do malonaldeído é feita a partir de curvas de calibração construídas com concentrações conhecidas de malonaldeído. Os padrões mais frequentemente utilizados são 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMP) e 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) que, nas condições ácidas do teste, sofrem hidrólise, resultando na liberação do malonaldeído. Os resultados são expressos em unidades de absorbância por unidade de massa de amostra ou em “valor de TBA” ou “número de TBA”, definidos como a massa, em mg, de malonaldeído por kg de amostra (ROBARDS et al., 1988 e ANGELO,1996).

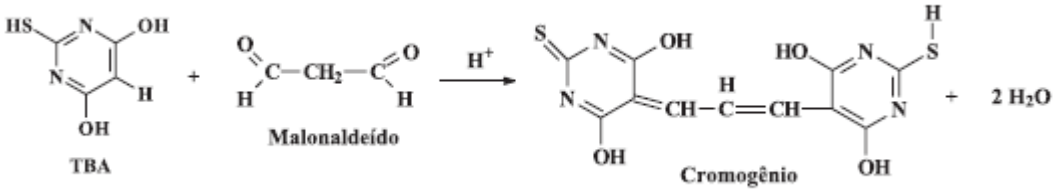

Figura 4: Reação do teste de TBA entre o ácido 2-tiobarbitúrico e o malonaldeído, formando o composto colorido, medido espectrofotometricamente a 532nm.

Além dos aldeídos, incluído o malonaldeído, outras substâncias como cetonas, ácidos, ésteres açúcares, imidas, amidas (uréia), aminoácidos, proteínas oxidadas, piridinas e pirimidinas podem reagir com o TBA, resultando no que se chama de TBARS que são substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (SHETTY et al., 2006). Particularmente, quando o teor de MA é baixo, outros aldeídos não provenientes do processo de degradação dos lipídios podem reagir com o TBA (e.g. acetaldeído e compostos da reação de Maillard). Os açúcares, a sacarose e a glicose, interferem

exercendo um forte efeito sinérgico na formação de TBARS, sobrestimando dessa forma a extensão da oxidação. Por outro lado, o MA pode não reagir com o TBA devido à sua complexação com proteínas, aminas e outros compostos (SILVA, 1999).

Ao optar pelo teste de TBA, deve-se conhecer a composição em ácidos graxos do alimento em análise, uma vez que o teste mede a extensão da oxidação de lipídios em três ou mais duplas ligações. Embora sejam amplamente utilizados, alguns fatores devem ser considerados no teste de TBA (OSAWA et al., 2005): a) Os componentes presentes nos lipídios que geram cor no teste de TBA variam de acordo com as amostras lipídicas e a formação de malonaldeído depende do grau de insaturção do ácido graxo poliinsaturado – amostras altamente insaturadas desenvolvem mais cor que as menos insaturadas; b) O teste pode não ser específico para o malonaldeído, já que outras TBARS podem reagir com o TBA e contribuir no valor de absorbância; c) Alguns compostos atuam como interferentes do teste; d) O aquecimento na etapa de destilação pode aumentar a quantidade de aldeídos e produzir certos produtos carbonílicos formados pelas reações entre malonaldeído e aminoácidos, pirimidinas ou proteínas. Pode ainda acelerar a reação, resultando em um valor mais elevado de TBA; e) Muitas das TBARS podem ser formadas durante o aquecimento sob condições ácidas e f) Os testes baseados na medida espectrofotométrica são menos sensíveis e menos específicos que os métodos de quantificação de malonaldeido por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) ou Cromatografia de Fase Gasosa (CG) (DOMINGUES, 2008).

2.7.2 Método do sequestro do radical livre DPPH

O método de sequestro do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazina) foi sugerido primeiramente em meados da década de 50, originalmente para descobrir doadores de hidrogênio em produtos naturais e, mais tarde, para determinar o potencial antioxidante em fenólicos individuais e alimentos (ROGINSKY; LISSI, 2005). Desenvolvido por Brand-Willams et al., (1995), o método DPPH tem como base a redução da absorbancia na regiao visível de comprimento de onda de 517 nm do radical DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) por antioxidantes.

Atualmente, é um dos métodos mais utilizados para verificação da atividade antioxidante em soluções isoladas de compostos fenólicos. A Figura 5 ilustra a reação do radical DPPH com o antioxidante sintético BHT.

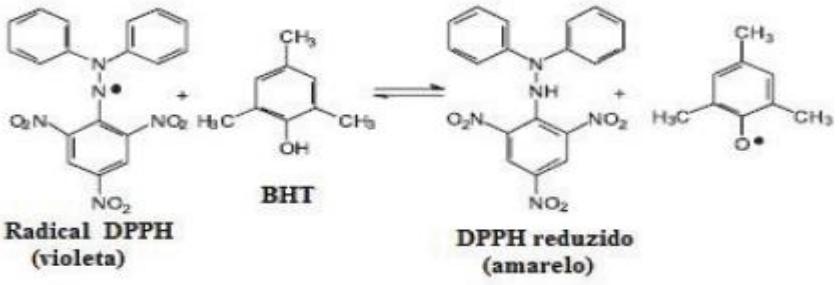

Figura 5: Reação química entre o BHT e o radical DPPH.

O DPPH apresenta coloração violeta, tendo absorção em 517 nm. Quando reduzido torna-se amarelo. Esta redução ocorre quando existem substâncias capazes de doar hidrogênios radicalares ao DPPH dando origem a outro radical estável, o que esta associado à propriedade antioxidante (HOSTETTMANN et al., 2003).

O decaimento e a absorbância encontrados pela quantidade remanescente do radical DPPH variam significativamente com os diferentes tipos e concentrações de antioxidantes. Atualmente, utiliza-se muito a técnica do $EC_{50,}$ que foi proposta para determinar a eficiência antirradical por meio da quantidade de antioxidante necessária para cair em 50% a concentração inicial do radical DPPH e o tempo necessário para alcançar a estabilidade na concentração do mesmo. Esta metodologia é limitada pelo fato de os radicais DPPH interagirem com outros radicais (alquil), e, a curva de resposta em tempo para atingir o estado estacionário não ser linear, com diferentes relações de antioxidante/DPPH (TIVERON, 2010).

2.8 Avaliação sensorial

De acordo com Instituto Adolfo Lutz (2008), a análise sensorial é realizada em função das respostas transmitidas pelos indivíduos às várias sensações que se originam de respostas fisiológicas e são resultantes de certos estímulos, gerando a interpretação das propriedades intrínsecas aos produtos. As sensações produzidas podem dimensionar a intensidade, extensão, duração, qualidade, gosto ou desgosto em relação ao produto avaliado. Nesta avaliação, os indivíduos, por meio dos próprios órgãos sensórios, numa percepção somato-sensorial, utilizam os sentidos da visão, audição, tato e paladar.

Ferreira et al., (2000) relatam que os seres humanos possuem habilidade natural para avaliar um alimento: ele compara, diferencia e quantifica os atributos sensoriais desde criança; aceitando, dando preferência ou rejeitando um alimento.

Essa habilidade é utilizada na análise sensorial, para avaliar alimentos e bebidas, utilizando metodologia apropriada.

A percepção das características organolépticas de um alimento se dá por meio de sinais elétricos que são enviados ao cérebro pelo sistema nervoso, através de uma corrente de neurônios. Há um receptor para cada sentido que é especializado em transmitir uma energia específica (FERREIRA et al., 2000).

O tipo do teste, os procedimentos de preparo e a apresentação de amostra são etapas críticas e devem ser padronizados segundo o tipo, a espécie ou a variedade de produto. Os métodos afetivos medem quanto uma população gostou de um produto (preferência ou aceitação), através da opinião do consumidor em relação a ideias, características específicas ou globais de determinado produto (REIS; MINIM, 2013). Indicam a intensidade com que os consumidores gostam ou desgostam de um produto, e geralmente é realizado através de uma escala balanceada ou não balanceada, que expressa o grau de gostar, experiência caracterizada por uma atitude positiva, ou pelo hábito de comprar ou consumir um alimento nos testes de preferência e aceitação (escala hedônica e de atitude) (FERREIRA et al., 2000).

As escalas balanceadas são as mais empregadas nos testes afetivos, sendo consideradas mais discriminativas e questionadoras por apresentarem número igual de categorias positivas e negativas, e termos igualmente espaçados, ao contrário das não balanceadas (REIS; MINIM, 2013).

A escala hedônica é uma escala fácil de ser compreendida pelos consumidores, que expressam sua aceitação pelo produto, seguindo uma escala previamente estabelecida, que varia gradativamente, com base nos atributos "gostar" e desgostar". Há diferentes tipos de escalas hedônicas: as verbais, que varaim entre gostei muitíssimo/extremamente e desgostei muitíssimo/extremamente; as faciais, descritas por desenhos que indicam aprovação ou reprovação de um produto, geralmente usadas para crianças e/ou pessoas que não conseguem ler ou compreender o significado das palavras; e a não estruturada, caracterizada por uma linha demarcada no extremo esquerdo com o termo "desgostei extremamente", e no direito, "gostei extremamente", com ausência de valores numéricos (REIS; MINIM, 2013).

Pode-se ainda, como parte do teste de consumidor, questionar quais os atributos sensoriais (aparência, aroma, sabor, textura, cor etc.) são responsáveis pela preferência ou rejeição do produto e com que intensidade contribuíram para maior ou menor aceitação dele. Assim o avaliador julgará não somente a aceitação global do produto, mas também de todos os atributos que determinam a qualidade do produto avaliado (REIS; MINIM, 2013).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

AFONSO, M.S; SANT'ANA, L.S.; PINTO, J.P.A.N.; XIMENES, B. Atividade antioxidante e antimicrobiana do alecrim (Rosmarinus officinalis L.) em filés de tilápia (Oreochromis ssp) salgados secos durante o armazenamento congelado. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 10, p. 12-17, 2008.

AJUYAH, A. O.; FENTON, T. W.; HARDINI, R. T.; SIM, J. S. Measuring lipid oxidation volatiles in meat. **Journal Food Science**, v. 58, p. 270-273, 1993.

AMBIEL, C.; WURLITZER, N. J. Carne mecanicamente separada de frango (CMS) – propriedades funcionais e qualidade. **Revista Nacional da Carne**, v. 24, n. 281, p. 130-135. 2000.

ANGELO, A. J. St.; Crit. Rev. **Food Science Nutry**. 1996, 36, 175.

ARISSETO, P. A. **Avaliação da qualidade global do hambúrguer tipo calabresa com reduzidos teores de nitrito**. 2003. 131f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, 2003.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, p. 191-203, 2006.

BERSET, C.; CUVELIER, M.E. Antioxidant activity of phenolic compounds in 2,2′-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH)-induced oxidation: Synergistic and antagonistic effects. **Food Chemistry,** 16, 1007-1012, 1996.

BENZAQUEM, T. **Food Ingredients Brasil**. Disponível em: < http://www.revista-fi.com/materias/83.pdf >. Acesso em 25 de Abril de 2015.

BERTINI, L. M.; PEREIRA, A. F.; OLIVEIRA, C. L. L.; MENEZES, E. A.; MORAIS, S.M.; CUNHA, F. A.; CAVALCANTI, E. S. B. Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do nordeste do Brasil. **Infarma**, v.17, p.80-83, 2005.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A.M.C.; REZENDE, C.M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p.588-594, maio/jun. 2009.

BOURGEOIS, C.M.; MESCLE J.F.; ZUCCA, J. **Microbiologia Alimentaria**. Zaragoza, Acribia, 437 p, 1994.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidante activity. **Lebensm-Wiss Technol**, v.22, p.25-30. 1995.

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,p. 610-615, 2005.

BRAGAGNOLO, N.; DANIELSEN, B.; SKIBSTED, L. H. Rosemary as antioxidante in pressure processed chicken during subsequent cooking as evaluated by electron spin resonance spectroscopy. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.8, p.24-29, 2007.

BRAGAGNOLO, N.; MARIUTTI, B.R.L. A oxidação lipídica em carne de frango e o impacto da adição de sálvia (*Salvia officinalis*, L.) e de alho (*Allium sativum*, L.) como antioxidantes naturais. **Revista Intituto Adolfo Lutz**, v.68, p.1-11,2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária Laboratório Nacional de Referência Animal. **Métodos Analíticos Oficiais Para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes.** Métodos Físico e Químicos – carne bovina in natura. Brasília, 1981. Cap.1, p.2.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria n 540 – SVS/MS de 27 de outubro de 1997. Aprova o **Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares – definições, classificações e emprego.** Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/540_97.htm>. Acesso em 27 de março de 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. **Instrução Normativa nº 20, de 31 de julho de 2000.** Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Almôndega, de Apresuntado, de Fiambre, de Hambúrguer, de Kibe, de Presunto Cozido e de Presunto, conforme consta dos anexos desta Instrução Normativa. D.O.U., 03/08/2000 – Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretária de Defesa e Agropecuária. **Instrução Normativa Nº 51, de 29 de dezembro de 2006**. Adotar o Regulamento Técnico de Atribuição de Aditivos, e seus Limites das seguintes Categorias de Alimentos: Carne e Produtos Cárneos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 29 dezembro de 2006.

BRENES, A.; ROURA, E. Essential oils in poultry nutrition: main effects and modes of action. **Animal Feed Science and Technology**, v.158, p. 1-14, 2010.

BREWER, M. S. Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.10, p.211-247, 2011.

CALLUCCI, L.; PINZINO, C.; ZANDOMENEGHI, M.; CAPOCCHI, A.; GHIRINGHELLI S.; SAVIOZZI, F.; TOZZI, S.; GALLESHI, L. Effects of gamma-irradiation on the radical and antioxidant contents in nine aromatic herbs and spice. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 51, p. 927-934, Feb. 2003.

CAO, G.H.; ALESSIO, H.M.; CUTLER, R.G. Oxigen-radical absorbency capacity assay for antioxidants. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v.14, n.3, p.303-311, 1993.

CAPITAN, C.D. et al. Evaluation of natural and synthetic compounds according to their antioxidante activity using a multivariate approach. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.111, p. 1090-1099, 2009.

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

CECCHI, H. M. **Fundamentos Teóricos e Práticos em Análise de Alimentos**, Ed. da Unicamp: Campinas, 1999.

COUPLAND, J. N.; MCCLEMENTS, D. J. Lipid oxidation in food emulsions. **Trends in Food Science & Technology,** Amherst, v. 7, n. 3, p. 83-91, Mar. 1996.

CUNHA, A.P.R.; ROQUE,O. **Plantas Arómaticas em Portugal – Caracterização e Utilizações**. Fundação Calouste Gulbenkian, editor. 2009: Lisboa. 250p.

DECKER, E. A., MEI, L. Antioxidant mechanisms and applications in muscle foods. **American Meat Science Association**: Reciprocal Meat Conference Proceedings, v. 49, p.64-72, 1996.

DOMINGUES,F.A.M. **Qualidade lipídica da carne de frangos alimentados com ração contendo farelo de coco**. 2008. 69f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, 2008.

DURÁN, R. M.; PADILLA, R. B. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 44, p.101-106, 1993.

ERICKSON, M. C. Lipid oxidation of muscle foods. In: **Food Lipids**. AKOH, C. C.; MIN, D. B., ed, Marcel Dekker, Inc., 2 ed, p.365-411, 2002.

EUROPEAN TECHNOLOGY PLATFORM ON FOOD FOR LIFE. Strategic research agenda 2007-2020. Brussels: ETP/CIAA, 2007. 68p. Disponível em http://cordis.europa.eu/technology-platforms/home_en.html. Acesso em 25 de março de 2015.

FARIA, L. R. D. **Validação farmacológica do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim)**: **atividade antiinflamatória e analgésica**. 2005, 49f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Unifenas, 2005.

FERREIRA, V.L.P.; ALMEIDA, C.A.T.; PETTINELLI, V.M.L.; AZAVEDO, P.M.A.; CHAVES, P.J.B.; BARBOSA, E.M.M. **Análise sensorial- testes discriminativos e afetivos**. Campinas, SP.: SBCTA, 2000. 127P.

FIGUEIREDO, C.B. **Estudo da adição de urucum e eritorbato de sódio sobre a oxidação lipídica em carne suína.** 2010. 76f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, 2010.

FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo**:** Atheneu**,** 1996, 182p.

FRANCO, F. O. Especiarias e Temperos. In: OLIVO, R. **O mundo do frango**. Criciuma, SC: Ed. Do Autor, v.29, p.370-386, 2006.

GAVA, J. A.; SILVA, C.A.B.; GAVA, J.R.F. **Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações**. São Paulo: Nobel, 2008.

GENENA, A. K. **Extração e caracterização do extrato de alecrim (Rosmarinus officinalis L.): estudo de sua ação antioxidante**. 2005. 89f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Curso de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.

GOUVEIA, F. **Indústria de alimentos: no caminho da inovação e de novos produtos**. Inovação Uniemp v.2, Campinas, p.400, 2006.

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

GOMES, F. **Estudo dos compostos voláteis do alecrim utilizando as técnicas de microextração em fase sólida (spme), hidrodestilação e extração com fluído supercrítico (SFE).** 2003, 145f. Dissertação (Mestrado departamento de química inorgânica e analítica)- Universidade do Rio Grande do Sul, 2003.

HAUTRIVE, T. P.; OLIVEIRA, V. R.; SILVA, A. R. D.; TERRA, N. N.; CAMPAGNOL, P. C. B. Análise físico-química e sensorial de hambúrguer elaborado com carne de avestruz. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 28, p.95-101, 2008.

HAYES, P.R. **Micobiologia e Higiene de los Alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1993, 369 p. 1993.

HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, E.; PONCE, M.E.; FLORES, I.; GUERRERO,L. Antioxidant effect rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) extracts on TBARS and colour of model raw pork batters. **Meat Science**, v. 81, p. 410-417. 2009.

HOSTETTMANN, K.; QUEIROS, F. E.; VIEIRA, C. P. **Princípios ativos de plantas superiores**. São Carlos: Ed. UFSCar, 2003.

HUKKANEN, A.T.; POLONEN, S.S.; KARENLAMPI, S.O.; KOKKO, H.I. Antioxidant capacity and phenolic contente of sweet rowanberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.112-119, 2006.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020p.

JAYAPRAKASHA, G.K.; NEGI, P.S.; JENA, B.S.; RAO, J.M. Antioxidant and antimutagenic activities of Cinnamomum zeylanicum fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, CA, v.20, n.3-4,p.330-336, 2007.

KUFNER, E. D. **Atividade antioxidante do extrato aquoso de manjerona (*Origanum majorana L.*), em linguiça frescal de frango**. 2010. 58f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missoes, 2010.

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

MAY, A.; SUGUINO, E.; MARTINS, A.N.; BARATA, L.E.S.; PINHEIRO, M.Q. Produção de biomassa e óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) em função da altura e intervalo entre cortes. **Revista Brasileira Plantas Medicinais.**, v.12, p.195-200, 2010.

MARIUTTI, L. R. B.; ORLIEN, V.; BRAGAGNOLO, N.; SKIBSTED, L. H. Effect of sage and garlic on lipid oxidation in high-pressure processed chicken meat. **European Food Research and Technology**, v.227, 337-344, 2008.

MARIUTTI, B. R. L. **Efeito da adição de sálvia e alho na oxidaçao lipídica em carne de frango**. 2009.204p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, 2009.

MARTINEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M.J.;ROS,G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Arch. Latino de Nutrição**, Caracas, v.50, n.1, p.5-18, 2000.

MEHLENBACHER, V. C.; The Analysis of Fats and Oils, The Garrad Press: Illinois, 1960. IN: OSAWA, C. C. et al. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Quimica Nova,** vol. 28, N.4, 655-663, 2005.

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

MELO, E. A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.A.G.; LEAL, F.L.L.; CAETANO, A.C.S.; NASCIMENTO, R.J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n.3, p.639-644, 2006.

MELO, A.; VIEGAS, O.; PETISCA, C.; PINHO, O.; FERREIRA, I.M.P.L.V.O. Effect of beer/red wine marinades on the formation of heterocyclic aromatic amines in pan-fried beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, p. 10625-10632, 2008.

MIN, B.; AHN, D. U. Mechanism of lipid peroxidation in meat and meat products- a review. **Food Science Biotechmol**. Vol. 14, No. 1, pp. 152 – 163, 2005.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica Farmacologia**. V. 3(2), p. 109-122, 2006.

MOREIRA, A.V.B.; MANCINI, J. Influence of spices phenolic compounds on lipoperoxidation and lipid profile of rats tissues. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.17, n,4, p.411-424, 2004.

NASCIMENTO, P.F.C.; NASCIMENTO, A.C.; RODRIGUES, C.S.; ANTONIOLLI, A.A.; SANTOS, P.O.; BARBOSA JUNIOR, A.M.; TRINDADE, R.C. Antimicrobial activity of the essentials oils: a multifactor approach of the methods. **Revista Brasileira Farmacologia***,* v.17 p.108-113, 2007.

NINFALI, P.; MEA, G.; GIORGINI, S.; ROCCHI, M.; BACCHIOCCA, M. Antioxidant capacity of vegetables, spices and dressings relevant to nutrition. **British Journal of Nutrition**, p.257-266, 2005

NISSEN, L. R.; MANSSON, L.; BERTELSEN, G.; HUYNH-BA, T.; SKIBSTED, L.H. Protection of dehydrated chicken meat by natural antioxidants as evaluated by electron spin resonance spectrometry. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 48(11): 5548-5556, 2000.

NORTHCUTT, J; K. Factors Affecting Poultry Meat Quality. **The University of Georgia College of Agricultural and Environmental Sciences and the U.S. Department of Agriculture cooperating**, 1157: Jun,1997.

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

OLIVEIRA. A.C.; VALENTIM, I.B.; GOULART, M.O.F. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, São Paulo, v.32, n.3, p.689-702, 2009.

OLIVO, R. **Atualidades em Ciência e Tecnologia de Carnes**, São Paulo: Varela, 230 p. 2006.

ORDÓÑEZ, J. A.; RODRÍGUEZ, M.I.C.; ÁLVAREZ,L.F.; SANZ,M.L.G.; MIGUILLÓN, G.D.G.F.; PERALES, L.L.H.; CORTECERO,M.D.S. (tradução) **Tecnologia de Alimentos – Alimentos de Origem Animal**,v.2. São Paulo: Artmed, 2005.

OSAWA, C. C.; FELÍCIO, P.E.; GONÇALVES, L.A.G. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**, Vol. 28, N.4, 655-663, 2005.

PEREIRA, G. M. **Aplicação de antioxidantes naturais em carne mecanicamente separada (CMS) de aves.** 2009. 180p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2009.

PIEDADE, R. K. **Uso de ervas aromáticas na estabilidade oxidativa de filés de sardinha (*Sardinella brasiliensis*) processados**. 2007, 161p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade de São Paulo, 2007.

POKORNÝ, J; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M. **Antioxidants in food:** practical applications. Cambridge: CRC Press LLC and Woodhead Publishing, p. 1-373. 2001.

POKORNÝ, J. Natural antioxidants for food use. **Trends in Food Science and Technology,** London, v. 2, n. 9, p. 223-227, Sept.1991.

POKORNÝ,J.; YANISHLIEVA,N.; GORDON,M. Antioxidants in food – Pratical Applications. **Boca Raton**: CRC Press, 2008.

POPOLIM, W.D. **Estimativa da ingestão de sulfitos por escolares pela análise qualitativa da dieta** (Dissertação). São Paulo: Universidade de São Paulo, 2004.

PORTE, A.; GODOY, R. L. O. Alecrim (*Rosmarinus officinalis L*.): Propriedades antimicrobianas e químicas do óleo essencial. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 19, n. 2, p. 193-210, 2001.

RACANICCI, A. M. C.; DANIELSEN, B.; MENTEN, J.F.M. Antioxidant effect of dittany (Origanum dictamnus) in pre- cooked chicken meat balls during chill-storage in comparasion to Rosemary (Rosmarinus officinalis). **European Food Research and Technology**, v.218, p.521-524, 2004.

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

RAMOS, E.M.; GOMIDE, L.A.M. **Avaliação da qualidade de carne: fundamentos e metodologia**. Viçosa: UFV, 2009, 599 p.

REIS, R.C.; MINIM, V.P.R. Testes de aceitação. In: MINIM, V.P.R. (Editora). **Análise sensorial: estudos com consumidores**. 3. ed. atual. e ampl. Viçosa, Ed. UFV, 2013. p.49-81.

REISCHE, D. W.; LILLARD, D. A.; EITENMILLER, R. R. Antioxidants. In:AKOH, C. C.; MIN, D. B. **Food lipids:** chemistry, nutrition and biotechnology. 2. ed. New York: Marcel Dekker, p. 489-516, 2002.

ROBARDS, K.; KERRS, A. F.; PATSALIDES, E.; **Analyst** 1988, 113, 213. IN: OSAWA, C. C. et al. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Quimica Nova**, Vol. 28, N.4, 655-663, 2005.

ROÇA, R. de O. **Congelação.** Universidade Estadual de São Paulo – UNESP. Botucatu – SP: FCA-UNESP, artigo técnico, 2000. Disponível em: <http://www.pucrs.campus2.br/~thompson/Roca109.pdf> Acesso em março/2014.

ROGINSKI,V.; LISSI, E.A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidante activity in food. **Food Chemistry**, v.92, n.2, p.235-254, 2005.

SACCHETTI, G.; MAIETTI, S.;MUZZOLI, M. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. **Food Chemistry**, v. 91, n. 4, p. 621-632, 2005.

SANCHES-MORENO, C. Review: Methods used evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems**. Food Science and Technology International**, v.8, p.121-137, 2002.

SÃO PAULO. Federação das Indústrias do Estado de São Paulo e Instituto de Tecnologia de Alimentos. **Brasil Food Trends 2010**. São Paulo: 2010. 176p.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, São Paulo, v. 22,, p. 94-103, 1999.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2007. 1104 p.

SOUZA, M.A.A. **Casca de batata inglesa (Solanum tuberosum) na proteção antioxidante da carne de frango**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2006. 73f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, 2006.

STRATIL, P.; KLEJDUS, B.; KUBAN, V. Determination of total content of phenolic compounds and theis antioxidant activity in vegetables evaluation of spectrophotometric methods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.607-616, 2006.

TIVERON, P.A. **Atividade antioxidante e composição fenólica de legumes e verduras consumidos no Brasil**. 2010.120f. Dissertação (Mestrado em ciência e tecnologia de alimentos). Escola superior de Agricultura Luiz de Queiros-Universidade de São Paulo, 2010.

TOMEI, R.R.; SALVADOR, M.J. Metodologias analíticas atuais para avaliação da atividade antioxidante de produtos naturais. In: ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 11., ENCONTRO LATINO AMERICANO DE PÓS GRADUAÇÃO, 7., Vale do Paraíba **Anais**, p. 1963 -1967, 2007.

TORRES, E.A.F.S.; FERRARI, C.K.B. Fatores físicos e bioquímicos da industrialização, preparo e armazenamento de alimentos e sua relação com radicais livres e a oxidação lipídica. **Revista Higiene Alimentar**, v. 11, p. 19-25, 2000.

ULU, H. Evaluation of three 2-thiobarbituric acid methods for the measurement of lipid oxidation in various meats and meat products. **Meat Science**, v.67, p.683-687, 2004.

VELAZCO, J. Aplicación de antioxidants naturales em produtos cárnicos. **Carnetec**, v. 12, p. 35-37, 2005.

VENTURINI, KATIANI S.; SARCINELLI, MIRYELE F.; SILVA, LUÍS C. **Boletim Técnico in Características da Carne de Frango**. Universidade Federal do Espírito Santo- UFES. 2007.

VIEIRA, A. A oxidação lipídica e o uso de antioxidantes sintéticos em produtos cárneos. **Aditivo & Ingredientes**, v.26, p.71-75, 2003.

WERKER, E. Function of essential oil-secreting glandular hairs in aromatic plants of the Lamiaceae: a review. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 8, p. 249-255, 1993.

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE HAMBÚRGUER MISTO COM A UTILIZAÇÃO DE *ROSMARINUS OFFICINALIS*

Marcela Rios de Araújo[1], Érika Silva Costa[2], Julio Cezar Nunes da Costa[2], Erika Cristina Rodrigues[3], Nágela Farias Magave Picanço[4], Jorge Luiz Brito de Faria[5], Rozilaine Aparecida Pelegrine Gomes de Faria[4]

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antioxidante da erva e óleo essencial de alecrim na formulação de hambúrguer misto. Foram elaborados sete tratamentos de hambúrguer foram elaborados: T1(erva seca 0,1%), T2 (erva fresca 0,1%), T3 (óleo 0,1%), T4 (erva seca 0,05% e óleo 0,05%), T5 (BHT 0,01%), T6 (eritorbato de sódio 0,1%) e T7 (controle). Para avaliar a oxidação realizou-se analises de DPPH no óleo essencial e fsico-quimíca nos hambúrgueres para as variáveis TBARS, cor e pH nos tempos 0, 7, 15, 30, 45, 60, 90 e 120 dias de armazenamento. O óleo essencial foi analisado por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa e complementada com análise por espectroscopia Raman. Houve diferença entre os tratamentos aos 45, 60 e 90 dias para pH, luminosidade (L*) aos 45 dias os antioxidantes sintéticos e os naturais que continham óleo foram os menores valores, tenderam mais para a cor escura. Na análise de TBARS, somente no tempo 60 houve diferença entre os tratamentos T1, T2 , T6 e T4 que obtiveram menores valores de oxidação dos ácidos graxos. Conclui-se que antioxidantes compostos de erva proporcionaram estabilidade oxidativa do hambúrguer, podendo ser substituído pelo sintético, quando o tempo de armazenamento não for superior a 60 dias.

[1] Mestranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Mato Grosso (IFMT) - *campus* Cuiabá-Bela Vista – email riomarcela@gmail.com

[2] Graduandos em Engenharia de Alimentos, bolsista PIBITI/CNPq - IFMT/*campus* Cuiabá-Bela Vista, email erikacosta574@gmail.com

[3] Doutora, Bolsista PRODOC/CAPES colaboradora no Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – IFMT/*campus* Cuiabá-Bela Vista, email erika.rodrigues@blv.ifmt.edu.br

[4] Doutora, professora efetiva do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – IFMT/*campus* Cuiabá-Bela Vista, email rozilaine.faria@blv.ifmt.edu.br

[5] Doutor, professor Instituto de Física/Universidade Federal de Mato Grosso, email hulk@fisica.ufmt.br

Palavras chave: óleo essencial, erva fresca, erva seca, BHT, espectroscopia Raman, *Rosmarinus officinalis*

Abstract

The present study had an achievement to evaluate the herb's antioxidant activity and essential rosemary oil in the mixed burger formulation. Seven treatments were prepared hamburger: T1 (0.1% dry herb), T2 (fresh herb 0.1%), T3 (0.1% oil), T4 (dry herb 0.05% oil 0.05%), T5 (BHT 0.01%), T6 (0.1% sodium erythorbate) and T7 (control). To evaluate the oxidation is performed analyzes of DPPH in essence physico-chemical and oil into burgers for TBARS variables, color and pH at 0, 7, 15, 30, 45, 60, 90 and 120 days of storage. The essential oil was analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometer and supplemented with analysis by Raman spectroscopy. There was no difference between treatments at 45, 60 and 90 days for pH, lightness (L *) at 45 days synthetic and natural antioxidants containing oil were the lowest values, tended more to the dark color. In TBARS analysis, only at 60 was no difference between treatments T1, T2, T6 and T4 that had lower fatty acid oxidation values. It is concluded that compounds provided herb antioxidants oxidative stability of the hamburger, which may be substituted by synthetic, when the storage time is not more than 60 days.

keywords: essential oil, fresh grass, dried grass, BHT, Raman spectroscopy, *Rosmarinus officinalis*

1. Introdução

O consumo de alimentos processados e congelados tem aumentado consideravelmente devido às necessidades impostas pela vida moderna, onde o tempo de preparo dos alimentos é fator limitante. Porém, os consumidores estão cada vez mais atentos aos alimentos de boa qualidade, livre de conservantes e aditivos químicos. Nesta perspectiva, os antioxidantes naturais, como as especiarias recebem grande ênfase em um possível uso racional na linha de produção de indústrias alimentícias, por conferir sabores agradáveis e por apresentarem compostos como carotenóides, tocoferóis, polifenóis, vitamina C e catequinas, entre outros (JAVANMARDI et al., 2003).

O hambúrguer é um alimento que se tornou popular devido à praticidade que representa, pois possui nutrientes que alimentam e saciam a fome

rapidamente, o que combina com o estilo de vida dos tempos atuais (ARISSETO, 2003). O principal componente é a carne moída que durante o processo de moagem, sofre incorporação de grande quantidade de oxigênio devido à ruptura dos tecidos, acelerando, portanto, o processo de oxidação lipídica. O hambúrguer misto (42%carne de frango e 20%carne bovina), com percentual considerável de carne de frango está mais suceptível a oxidação.

A carne de frango é rica em ácidos graxos poliinsaturados, compostos extremamente suscetíveis à oxidação, originando principalmente radicais livres que aceleram o processo oxidativo com a formação de óxidos de colesterol e alteração da composição de ácidos graxos (BRAGAGNOLO; MARIUTTI, 2009). Além disso, as modificações sensoriais que ocorrem durante o processo de oxidação podem alterar significativamente o produto final tornando-o inaceitável pelo consumidor.

Teste como índice de peróxidos, ácidos graxos livres, anisidina, Kreis, TBA (ácido 2-tiobarbitúrico) e compostos voláteis são utilizados no controle de qualidade de óleo, gorduras e produtos que contenham, por fornecerem informações valiosas e essenciais a respeito do estado oxidativo do alimento analisado (PEREIRA, 2009).

Apesar de suas limitações, o método mais usual na avaliação da oxidação lipídica em carnes e produtos cárneos é o teste de TBARs (teste das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico), devido à sua simplicidade e rapidez. O teste de TBARs quantifica o malonaldeído (MDA), um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados, formado durante o processo oxidativo. Particularmente para carnes, pescados e derivados, a informação do número de TBARs é bastante relevante. Processo envolvido na elaboração de produtos cárneos que incluam moagem mistura e cozimentos favorecem a formação do malonaldeído, sendo fundamental o emprego do teste na avaliação da qualidade do produto final (PEREIRA, 2009).

Considerando a importância de disponibilizar produtos derivados de carne com qualidade sensorial e nutricional, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antioxidante de erva e óleo essencial de alecrim na formulação de hambúrguer misto.

2. Material e Método

2.1 Delineamento e modelo experimental

O experimento foi desenvolvido em delineamento inteiramente casualizado com sete tratamentos denominados T1 (erva seca a 0,1%(m/m)), T2 (erva fresca a 0,1% (m/m)), T3 (óleo essencial a 0,1% (m/m),), T4 (erva seca a 0,05% (m/m) e óleo essencial a 0,05% (m/m),), T5 (BHT a 0,01%

(m/m),), T6 (eritorbato de sódio a 0,1% (m/m),) e T7 (sem antioxidante), em três repetições, todas as análises foram realizadas em triplicata.

O óleo essencial foi obtido de folhas frescas de alecrim, seguindo a metodologia de Tepe et al. (2005) com adaptações para 2 horas de extração. O óleo encaminhado para cromatografia gasosa foi desidratado com Na_2SO_4 anidro, acondicionado em frasco escuro e armazenado em freezer a -18°C.

O óleo para a formulação dos hambúrgueres e para análise no espectrómetro Raman foi retirado do sistema de hidrodestilação, acondicionado e armazenado nas mesmas condições descritas anteriormente até o dia da utilização no experimento.

O óleo foi caracterizado por Cromatografia gasosa aclopado ao espectrômetro de massa (CG/EM) conforme Tepe et al. (2005) e os espectros Raman obtidos em equipamento HORIBA© modelo LabRam HR 800 irradiando-se a amostra com fonte de laser de radiação monocromática visível.

Para verificação de atividade antioxidante da erva, as folhas frescas foram imergidas em solução etanol/água na proporção 1:1 até completa exaustão. O material obtido foi filtrado e submetido a aquecimento em banho maria até evaporação do solvente. O extrato obtido foi acondicionado em frasco escuro e armazenado em freezer a -18°C até o momento da análise.

A análise da atividade antioxidante total do óleo essencial e do extrato foi desenvolvida conforme Silva (2008). Os valores médios do percentual de DPPH foram obtidos de acordo com a Equação 1, utilizando os resultados da absorbância controle (Abs Control) e absorbância da amostra (Abs amostra) (OLIVEIRA et al.,2014).

$$\%DPPH = (Abs\ Control - Abs\ amostra)/ Abs\ Control \times 100 \qquad Eq\ 1$$

Os hambúrgueres foram elaborados em indústria de processamento de carne e a erva/óleo conforme determinado em cada tratamento, embalados individualmente em embalagem de polietileno e identificados com respectivo tratamento e repetição.

O material foi armazenado em incubadora tipo BOD a - 8°C. As amostras foram retiradas para análise de acordo com o tempo de armazenamento (0,7, 15, 30, 45, 60, 90 e 120 dias). Para casualizar e diminuir a interferência de posição na incubadora, foi realizado rodízio entre as prateleiras com o material armazenado.

2.2 Parâmetros físico químicos

Foram realizadas as análises físico-químicas pH pela metodologia AOAC (2012), cor pela metodologia AMSA (2012), atividade antioxidante pelo teste de TBAR, para cada tempo de armazenamento.

Na análise da cor a saturação (C*) e ângulos de tonalidade (h*) foram calculados usando as equações conforme Ramos; Gomide (2009).

Para determinação do teste de TBAR foram realizados a curva padrão, cálculo de recuperação e valor de K (fator de conversão) da oxidação lipídica seguindo a metodologia descrita por Tarladgis, Watts e Younathan (1960). O cálculo do índice das amostras foi feito conforme a equação proposta por Queiroz (2006) e metodologia proposta por Raharjo et al., (1992).

2.3 Análise dos dados

Todos os dados foram transformados em raiz (X+1) e submetidos a análise de variância (ANOVA) para cada tempo de armazenamento. Quando significativos pelo teste F da ANOVA, as médias foram comparadas pelo teste de Skott Nott a 5% de probabilidade, com auxílio do programa Assistat 7.7.

Para a análise da oxidação dos hambúrgueres em função do tempo de armazenamento os dados transformados foram submetidos a correlação linear simples.

3. Resultado e Discussão

Os compostos majoritários foram identificados por comparação com a literatura (PRINS et al., 2006). Verificou-se a presença dos compostos cânfora, eucaliptol (1,8 cineol) e α-pineno como componentes majoritários, respectivamente conforme intensidade do pico. A presença destes compostos foi confirmada através da espectroscopia Raman (Figura 1).

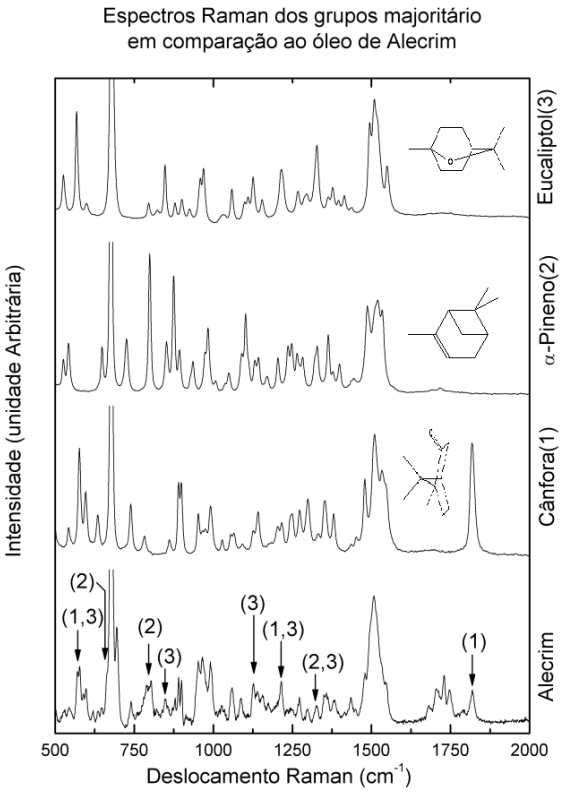

Figura 1. Espectro raman do OE de alecrim com picos característicos para cânfora (1), α-pineno (2) e eucaliptol (3).

Resultados encontrados por Bauer, Garbe e Surburg (1997) e Tebaldi (2008), apontam o α-pineno, 1,8 cineol e a cânfora como constituintes majoritários no óleo essencial de alecrim. Boix et al. (2010), encontraram como principais componentes, dos 25 compostos identificados, β-pineno (7,0%), mirceno (9,52%), 1,8 cineol (14,02%), cânfora (33,17%) e verbenona (8,6%).

Trabalho realizado por Atti-Santos et al., (2005) encontraram como principais componentes α-pineno (40,55% a 45,10%), 1,8 cineol (17,40% a 19,35%), canfeno (4,73 a 6,06%), verbenona (2,32% a 3,86%) e borneol (2,24% a 3,10%), resultado também encontrado por Santoyo et al., (2005), no qual 80% do óleo de alecrim avaliado continha α-pineno, 1,8 cineol, cânfora, verbenona e borneol.

Em geral, os componentes principais do óleo (> 40 e 50% da composição total) causam a atividade antimicrobiana. Porém, os componentes menores podem desempenhar um papel significativo na melhoria da atividade

antimicrobiana (BURT, 2004) ou outra atividade biológica condicionada a sua composição (MAHMOUD; CROTEAU, 2002).

A variabilidade química do óleo essencial, entre outros fatores, está condicionada a variável ecológica e condições geográficas, idade da planta, época da colheita e metodologia diferente da sua extração (BAGAMBOULA; UYTTENDAELE e DEBEVERE, 2004) havendo necessidade de padronizar a sua composição quando houver variação condicionada a esses fatores (PRAKASH et al., 2015). Estas variações aparentes no perfil químico dos óleos podem influenciar no seu potencial de atividade biológico (BURT,2004) dificultando a aplicação como conservantes naturais de alimentos.

A Espectroscopia Raman pode ser utilizada como uma ferramenta para o controle de qualidade, para a identificação composicional ou para detecção de falsificação ou mudanças que ocorrem durante o processamento de alimentos. Em óleos e gorduras o método clássico para quantificar isómeros cis e trans e o grau de insaturação é o de cromatografia em fase gasosa, a espectroscopia Raman tem o potencial de substituir ou, de pelo menos, complementar as metodologias demoradas e clássicas e assim pode ser usado como método de detecção rápida de qualidade (CHAN, 1996)

Amostras de tamanho microscópico podem ser analisadas diretamente, à temperatura e pressão ambiente e sem destruição da amostra (THYGESEN, et al., 2003).

Na análise de atividade antioxidante total (AA), o óleo essencial apresentou menor atividade (38%) em comparação com o extrato hidroalcoólico (93,8%), ambos para concentração de 100ug/mL. Provavelmente a presença de compostos polares no extrato hidroalcoolico influenciou para melhor neutralização dos radicais DPPH. Resultados obtidos por Wang et al., (2008) demonstram atividade antioxidante do óleo essencial de alecrim maior. É provável que a presença de compostos minoritários presentes tenham contribuído para a diferença desta atividade pelo DPPH haja vista os componentes 1,8 cineol e α-pineno serem majoritários em ambos os trabalhos.

As propriedades antioxidantes dos extratos da folha de alecrim são atribuídas ao seu grande conteúdo de fenólicos diterpênicos (SAENZ-LOPEZ; SAENZ-LOPEZ, FERNANDEZ-ZURBANO, TENA, 2002; THORSEN e THORSEN e HILDEBRANDT, 2003). Essa baixa atividade ou não atividade perante esse método pode ser devido aos componentes dos óleos essenciais que não são capazes de doar hidrogênio (MATA et al., 2007), neste caso a particularidade da composição do óleo essencial de alecrim.

Resultados semelhantes foram observados por Andrade et al., (2013) que, avaliando a atividade antioxidante dos óleos essenciais de *Cinnamodendron*

dinisii e *Siparuna guianensis*, observaram somente atividade antioxidante perante o método do sistema β-caroteno/ácido linoleico.

3.1 pH e análise de cor em hambúrguer

Para os tempos 0, 7, 15 e 30 todos os tratamentos apresentaram o pH estatisticamente igual. Porém, aos 45 dias de armazenamento o tratamento T5 (0,01% de BHT) apresentou o maior pH e o T4 (0,05% de erva seca e 0,05% de óleo essencial) o menor valor (Tabela 1) o que demonstra que através deste parâmetro os hambúrgueres adicionados de erva e óleo estavam mais adequados ao consumo se comparados com os hamburgueres que receberam aditivos sintéticos.

Aos 60 dias de armazenamento, os tratamentos T3 (0,1% de óleo), T5 (0,01% de BHT), T6 (0,1% eritorbato de sódio) e T7 (controle) apresentaram os maiores valores enquanto que T1 (0,1% de erva seca), T2 (0,1% erva fresca) e T4 foram estatisticamente iguais e menores, o que sugere que a presença dos compostos das folhas diminui o pH acidificando o produto. Somente os componentes presentes no óleo essencial não foram suficientes para evitar um aumento do pH diminuindo a acidez do hambúrguer apresentando valores estatisticamente iguais àquele tratamento sem adição de qualquer conservante (tratamento controle).

No tempo 90 dias, o T6 (0,1% eritorbato de sódio) apresentou o maior valor em relação ao restante dos tratamentos que foram estatisticamente iguais e menores.

Segundo Lucke (2000), a elevação do pH deve-se à presença de compostos básicos resultantes das reações de descarboxilação e desaminação de alguns aminoácidos pelas enzimas presentes na carne. Além disso, um aumento do pH está associado à degradação de proteínas e de aminoácidos por bactérias gram-negativas (VERMA; SAHOO, 2000).

No tempo 120 não houve diferença significativa entre os tratamentos, os resultados dos valores médios de pH das formulações variaram entre 6,41± 0,14 a 6,98±0,54, sugerindo ínicio do processo de decomposição. Segundo Hayes (1993) o processo de decomposição para produtos cárneos ocorre com valores de pH próximos a 6,5, portanto todos os tratamentos apresentaram resultados de pH impróprios para consumo do alimentos armazenados durante 120 dias.

Tabela 1. Valores médios ± desvio padrão do pH das amostras de hambúrgueres em relação ao tempo de armazenamento

	Tempo (dias)			
Tratamento	45	60	90	120
T1	6,28± 0,01 d	6,34± 0,05 b	6,18± 0,07 b	6,61± 0,10 a
T2	6,31± 0,00 c	6,30± 0,06 b	6,16± 0,02 b	6,57± 0,04 a
T3	6,33± 0,01 b	6,41± 0,05 a	6,26± 0,05 b	6,49± 0,04 a
T4	6,27± 0,01 e	6,29± 0,08 b	6,24± 0,02 b	6,98± 0,54 a
T5	6,34± 0,01 a	6,43± 0,01 a	6,28± 0,04 b	6,41± 0,14 a
T6	6,32± 0,01 b	6,43± 0,02 a	6,49± 0,20 a	6,66± 0,15 a
T7	6,33± 0,01 b	6,41± 0,04 a	6,28± 0,04 b	6,53± 0,04 a
*CV (%)	0,06	0,38	0,61	1,46

Os dados na tabela são originais, porém os *CV apresentados são dos dados após transformação. Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% pelo teste de Scott-Knott. T1: 0,1% de erva seca, T2: 0,1% de erva fresca, T3: 0,1% de óleo essencial, T4: 0,05% de erva seca e 0,05% de óleo essencial, T5: 0,01% de BHT, T6:0,1% de eritorbato de sódio e T7: sem antioxidante.

Não houve diferença estatisticamente significante para os valores médios de L* (luminosidade) para os tempos 0, 7, 15 e 30. Aos 45 de armazenamento os tratamentos T1, T2, T4 e T7 apresentaram maiores valores enquanto que aos 60 dias os maiores valores foram observados nos tratamentos T1, T2, T3, T5 e T7. Todos os valores médios dos tratamentos do índice de vermelho (a*) foram estatisticamente maiores e iguais.

Aos 60 dias os tratamentos T4 e T6 apresentaram menores valores de luminosidade (L*) e para todos os tratamentos foram estatisticamente iguais aos 60 dias para o parâmetro índice de vermelho a*. Aos 90 dias o tratamento T6 (0,1% de eritorbato de sódio) apresentou o menor valor de a* (Tabela 2).

Valores altos de L e menores valores de a* foi observado no trabalho de Nascimento et al. (2007) avaliando a influência da substituição de cloreto de sódio por cloreto de potássio em salsichas. Os autores relacionaram a atividade de água com a influência da cor. É provável que a presença do sódio da formulação na forma de eritorbato de sódio tenha influencia da atividade de água do hambúrguer, pois foi o tratamento que apresentou menor valores de a*. Exceto T5, todos os tratamentos apresentaram valores altos de a* o que proporciona a adição de ervas bem como óleo na manutenção da cor do produto possibilitando ao consumidor a incorporação deles na dieta de produtos livres de aditivos sintéticos.

Aos 60 dias, o índice de amarelo foi estatisticamente iguais para todos os tratamentos. Aos 90 dias, os tratamentos T1, T2, T3 e T5 são estatisticamente iguais e maiores em comparação com os demais (Tabela 2).

Tabela 2. Valores médios ± desvio padrão da luminosidade (L*) e índice de vermelho (a*) e índice de amarelo (b*) das amostras de hambúrgueres em relação ao tempo de armazenamento

	Tempo (dias)				
			L*		
Tratam	30	45	60	90	120
T1	55,82± 3,77 a	54,98± 2,01 a	53,61± 0,67 a	53,11± 2,06 a	54,42± 4,59 a
T2	52,76± 0,55 a	56,12± 2,61 a	55,24± 1,17 a	49,88± 2,75 a	51,22± 0,90 a
T3	55,13± 0,68 a	52,52± 1,68 b	55,21± 0,97 a	51,77± 0,81 a	52,53± 2,21 a
T4	55,95± 0,82 a	56,49± 0,98 a	52,31± 0,77 b	54,69± 3,79 a	50,37± 2,01 a
T5	53,69± 1,60 a	52,60± 2,26 b	54,46± 0,69 a	55,08± 2,75 a	51,14± 2,08 a
T6	52,63± 2,43 a	49,96± 3,30 b	49,61± 2,88 b	52,78± 2,28 a	50,74± 0,41 a
T7	55,67± 1,66 a	57,87± 1,35 a	54,39± 2,21 a	52,02± 4,86 a	51,01± 2,14 a
*CV%	1,76	1,97	1,45	2,8	2,24
			a*		
T1	7,88± 0,94 b	7,53± 0,66 a	8,53± 1,43 a	9,72± 1,06 a	8,08± 0,75 a
T2	9,63± 0,52 a	8,39± 0,92 a	7,58± 0,48 a	8,76± 0,48 a	8,45± 0,38 a
T3	8,48± 0,76 b	9,00± 0,76 a	8,02± 1,12 a	9,37± 0,79 a	7,61± 0,49 a
T4	9,07± 0,45 a	7,62± 0,21 a	8,86± 0,69 a	8,08± 0,55 a	8,51± 1,36 a
T5	8,41± 0,11 b	9,16± 0,80 a	8,50± 0,95 a	8,68± 0,95 a	8,66± 0,95 a
T6	9,27± 0,36 a	9,19± 0,85 a	9,59± 0,73 a	6, 14± 0,20 c	7,77± 1,65 a
T7	7,93± 0,61 b	8,38± 0,82 a	9,01± 0,71 a	7,60± 0,34 b	7,50± 0,87 a
*CV%	3,15	3,97	4,88	3,59	5,71
			b*		
T1	24,24± 1,07 a	23,17± 0,91 b	25,59± 3,11 a	28,63± 1,78 a	25,62± 0,95a
T2	25,15± 0,98 a	25,27± 0,54 a	24,36± 2,27 a	26,96± 1,71 a	28,06± 2,99 a
T3	24,13± 2,08 a	24,84± 1,46 a	26,64± 2,66 a	29, 39± 1,20a	27,39± 3,22 a
T4	25,35± 0,50 a	22,63± 0,30 b	26,55± 3,47 a	25,31± 0,26 b	28,49± 3,94 a
T5	24,37± 0,37 a	24,67± 0,38 a	26,31± 3,02 a	27,23± 2,08 a	28,36± 3,53 a
T6	24,63± 1,07 a	23,74± 1,39 b	27,20± 1,50 a	20,93± 0,46 c	25,22± 5,10 a
T7	23,77± 0,39 a	25,44± 1,07 a	26,63± 3,64 a	23,73± 2,49 b	27,66± 1,30 a
*CV%	2,13	1,92	5,34	3,02	5,92

Os dados na tabela são originais porém os *CV apresentados são dos dados após transformação. Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% pelo teste de Scott-Knott. T1: 0,1% de erva seca, T2: 0,1% de erva fresca, T3: 0,1% de óleo essencial, T4: 0,05% de erva seca e 0,05% de óleo essencial, T5: 0,01% de BHT, T6:0,1% de eritorbato de sódio e T7: sem antioxidante.

Observa-se na Tabela 3 que houve diferença significativa somente nos tempos 45 e 90 dias de armazenamento para o índice de saturação (C*) sendo os tratamentos T1 (erva seca a 0,1%), T2 (erva fresca a 0,1%), T3 (óleo essencial a 0,1%), T4 (erva seca a 0,05% e óleo essencial a 0,05%) e T5 (BHT a 0,01%) as formulações que apresentaram maiores valores de C* no tempo 90, ou seja, maior intensidade de cor vermelha.

O índice de saturação (C*) e ângulo de tonalidade (h*) são valores calculados a partir da medida objetiva de cor a* e b* e são usados para determinar a saturação e a intensidade da cor. Assim, valores elevados de C* indicam mais saturação da cor vermelha na amostra e valores elevados de h* menos intensidade de vermelho na amostra (AMSA, 2012).

Os valores de h* (ângulo de tonalidade), que são funções dos valores de a* e b*, permitem estimar o real escurecimento da carne, e normalmente o processo de descoloração das carnes é acompanhado por aumento nos valores de h* ao longo do tempo (LEE et al., 2005). Observou-se que os valores de h* apresentaram tendência de aumento em todas as amostras, durante o período de armazenamento, caracterizando descoloração das amostras.

Tabela 3. Valores médios ± desvio padrão do índice de saturação (C*) e ângulo de tonalidade (h*) das amostras de hambúrgueres em relação aos tratamentos (T) e tempo de armazenamento

	Tempo (dias)				
	30	45	60	90	120
			C*		
T1	25,52± 1,17 a	24,37 ± 0,91 b	27,00± 3,42 a	30,24± 2,02 a	26,90± 0,98 a
T2	26,94± 1,08 a	26,64± 0,70 a	25,54± 2,18 a	28,40± 1,60 a	29,32± 2,97 a
T3	25,59± 2,16 a	26,43± 1,63 a	27,83± 2,85 a	30,86± 1,38 a	28,45± 3,09 a
T4	26,93± 0,49 a	23,89± 0,25 b	28,00± 3,52 a	26,61± 0,18 a	29,74± 4,16 a
T5	25,79± 0,38 a	26,32± 0,59 a	27,66± 3,16 a	28,61± 2,19 a	29,66± 3,66 a
T6	26,33± 1,13 a	25,46± 1,50 a	28,86± 1,54 a	21,83± 0,51 c	26,39± 5,35 a
T7	25,06± 0,55 a	26,80± 1,26 a	28,13± 3,64 a	24,93± 2,45 b	28,68± 1,47 a
*CV%	2,14	2,03	5,25	2,97	5,86
			h*		
T1	72,11± 1,89 a	71,93± 1,58 a	71,54± 1,07 a	71,20± 0,79 a	72,35± 1,51 a
T2	69,05± 0,52 b	71,69± 1,73 a	72,59± 1,65 a	72,03± 1,53 a	73,15± 0,96 a
T3	70,76± 0,99 a	70,09± 0,46 b	73,34± 0,99 a	72,32± 0,73 a	74,33± 2,09 a
T4	70,29± 0,91 b	71,46± 0,56 a	71,48± 0,90 a	72,42± 1,44 a	73,55± 0,56 a
T5	70,99± 0,12 a	69,61± 1,55 b	72,11± 0,41 a	72,53± 1,06 a	72,96± 0,44 a
T6	69,34± 0,19 b	68,82± 1,42 b	70,64± 1,23 a	73,72± 0,21 a	72,86± 0,16 a
T7	71,55± 1,17 a	71,78± 0,95 a	71,15± 1,34 a	72,21± 1,22 a	74,68± 0,89 a
*CV%	0,7	0,89	0,79	0,74	0,76

Os dados na tabela são originais porém os *CV apresentados são dos dados após transformação. Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% pelo teste de Scott-Knott. T1: 0,1% de erva seca, T2: 0,1% de erva fresca, T3: 0,1% de óleo essencial, T4: 0,05% de erva seca e 0,05% de óleo essencial, T5: 0,01% de BHT, T6:0,1% de eritorbato de sódio e T7: sem antioxidante.

3.2 Análise da atividade antioxidante

Houve diferença estatisticamente significante entre as médias dos tratamentos para os valores de TBARS, expressos em mg de malonaldeído/kg de amostra somente aos 60 dias. Nos demais tempos de armazenamento não houve diferença significativa (Tabela 4). Os tratamentos T3 (adição de óleo essencial), T5 (adição de BHT) e T7 (sem adição de conservante) apresentaram os maiores valores de TBAR´s indicando oxidação dos ácidos graxos, o que sugere que o óleo essencial nesta concentração não evitou a oxidação dos ácidos graxos presentes no hambúrguer.

No tempo 120, no final do armazenamento não houve diferença significativa entre os tratamentos. Os valores ficaram entre 1,14 a 2,18 mg de (MDA)/kg de amostra. No entanto, valores de TBARS entre 0,6 e 2,0 mg de malonaldeído/kg demonstram alterações relacionadas à oxidação lipídica pouco perceptíveis sensorialmente (TERRA et al., 2006; CHOI et al., 2010; MERCADANTE et al., 2010; TRINDADE et al., 2010; MORAIS et al., 2013).

Entretanto, o tratamento T3 (óleo essencial a 0,1%) apresentou valor superior a 2,0 mg de malonaldeído/kg e provavelmente seria percebido, sensorialmente, pelo consumidor em relação ao odor e sabor de ranço. Os demais tratamentos apresentaram valores de oxidação pouco perceptíveis sensorialmente.

Tabela 4. Valores médios de TBARS expressos em mg de malonaldeído (MDA/kg) de amostra em relação ao tempo de armazenamento dos hamburgueres

	Tempo (dias)		
Tratamento	60	90	120
T1	0,38 ± 0,02 b	0,90 ± 0,17 a	1,88 ± 0,16 a
T2	0,49 ± 0,12 b	0,79 ± 0,29 a	1,67 ± 0,58 a
T3	0,67 ± 0,12 a	1,15 ± 0,36 a	2,19 ± 0,20 a
T4	0,53 ± 0,02 b	0,82 ± 0,10 a	1,14 ± 0,27 a
T5	0,74 ± 0,02 a	1,33 ± 0,09 a	1,61 ± 0,48 a
T6	0,50 ± 0,17 b	0,46 ± 0,37 a	1,40 ± 0,82 a
T7	0,63 ± 0,13 a	1,06 ± 0,09 a	1,96 ± 0,54 a
*CV%	3,38	6,53	9,32

Os dados na tabela são originais porém os *CV apresentados são dos dados após transformação. Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% pelo teste de Scott-Knott. T1: 0,1% de erva seca, T2: 0,1% de erva fresca, T3: 0,1% de óleo essencial, T4: 0,05% de erva seca e 0,05% de óleo essencial, T5: 0,01% de BHT, T6:0,1% de eritorbato de sódio e T7: sem antioxidante.

O óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) tem apresentado atividade microbiológica para alguns micro-organismos, possibilitando a sua aplicação em alguns produtos, desde que observada a concentração necessária para inibir o desenvolvimento dos micro-organismos sem comprometer o sabor do alimento (PESAVENTO et al., 2015). A busca por aditivos mais naturais adicionados em alimentos tem sido uma preocupação dos consumidores, pois há relatos de danos à saúde condicionados a aditivos sintéticos como o BHT e BHA (GRICE, 1988; WICHI, 1986). Em geral, o alecrim é adicionado em alimentos como aromatizante em varios pratos (OLUWATUYI, KAATZ e GIBBONS, 2004). No entanto, alguns trabalhos têm

reportado à atividade antioxidante do óleo essencial dessa erva condicionada a presença do 1,8 cineol, α-pineno, β-pineno (PENG et al., 2005). Todos os tratamentos em que a erva esteve presente, tanto fresca quanto seca, exceto para T6 (eritorbato de sódio) apresentaram menores valores de oxidação dos ácidos graxos, provavelmente devido à presença de polifenois nas folhas do alecrim.

Aos 90 dias a correlação entre as variáveis referentes ao índice de vermelho (a*) e índice de amarelo (b*) foi altamente significativa ao nível de 1% pelo teste t com r=0,983 (Figura 2), e h* com pH com r = 0,9106 (Figura 3).

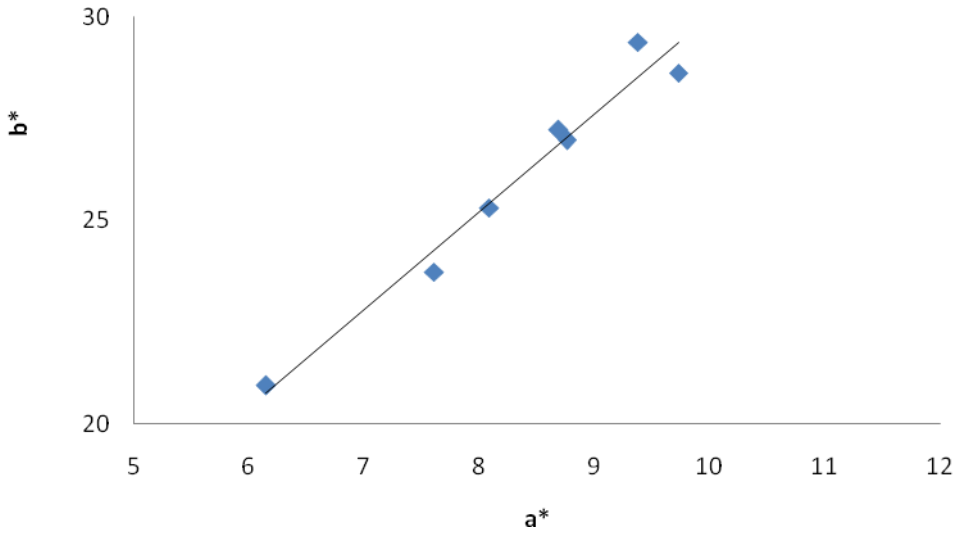

Figura 2. Correlação entre as variáveis índice de vermelho (a*) e índice de amarelo (b*) aos 90 dias de armazenamento dos hambúrgueres mistos

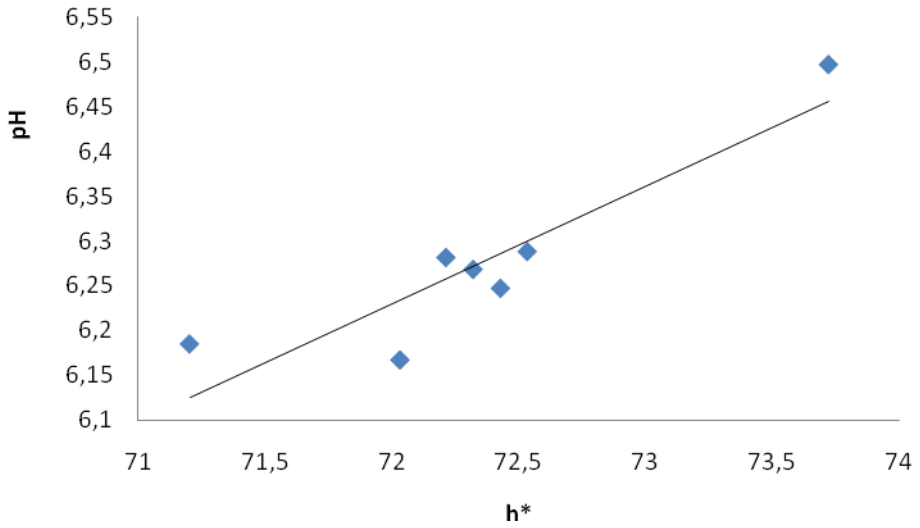

Figura 3. Correlação entre as variáveis pH e índice de tonalidade (h*), aos 90 dias de armazenamento dos hambúrgueres mistos

As variáveis da análise de cor se correlacionarem em diretamente ou inversamente proporcionais é devido a saturação (C*) e ângulo de tonalidade (h*) serem obtidas através dos resultados de a* e b*. No tempo 90 dias as variáveis pH e h* se correlacionam pelo fato do pH estar associado com numerosos atributos de qualidade da carne, incluindo maciez, capacidade de retenção de água, perdas por cozimento, suculência e estabilidade microbiana (KOMIYAMA et al., 2009). Komiyama et al., (2009) mostraram que as variações na cor da carne do peito, podem ser devido, primeiramente, aos efeitos do pH, o que, posteriormente, afeta a vida útil da carne do peito

4. Conlusão

É possível a substituição de antioxidantes sintéticos por antioxidantes naturais, ervas frescas e/ou secas para a estabilização da oxidação lipídica em hambúrguer misto, desde que o tempo de armazenamento não seja superior a 60 dias.

Referências

AMSA. Meat color measurement guidelines, Champaing, IL: **American Meat Science Association**, 2012. p.136.

ANDRADE, M.A. Chemical Composition and Antioxidant Activity of essential Oils from Cinnamodendron dinisii Schwacke and *Siparuna guianensis* Aublet. **Antioxidants**, v.2, p. 384-397, 2013.

AOAC. **Association of official analytical chemists**. Official methods of analysis - AOAC Internacional. 19th ed. Maryland, USA, 2012.

ARISSETO, A.P. **Avaliação da qualidade global do hambúrguer tipo calabresa com reduzidos teores de nitrito**. São Paulo, 2003. f.145 Dissertação. 2003, 145 f. - (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2003..

ATTI-SANTOS, A. C.; ROSSATO, M.; PAULETTI, G. F.; ROTA, L. D.; RECH, J. C.; PANSERA, M. R.; AGOSTINI, F.; SERAFINI, L. A.; MOYNA, P. Physico-chemical evaluation of Rosmarinus officinalis L. essential oils. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 48, p. 1035-1039, 2005.

BAGAMBOULA,C.F.;UYTTENDAELE,M.;DEBEVERE,J. Inibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and pcymene to wards *Shigella sonnei* and S.flexneri. **Food Microbiology**, v.21, p. 33-42, 2009.

BAUER, K.; GARBE, D.; SURBURG, H. Common fragrance and flavor materials: preparation, properties and uses. 3. ed. **Germany: Wiley-VCH**, 1997.

BOIX, Y. F.; VICTÓRIO, C. P.; LAGE, C. L. S.; KUSTER, R. M. Volatile compounds from Rosmarinus officinalis L. and Baccharis dracunculifolia DC. Growing in southeast coast of Brazil. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 2, p. 255-257, 2010.

BRAGAGNOLO, N.; MARIUTTI, B.R.L. A oxidação lipídica em carne de frango e o impacto da adição de sálvia (*Salvia officinalis*, L.) e de alho (*Allium sativum*, L.) como antioxidantes naturais. **Revista Intistuto Adolfo Lutz**, v.68,p.1-11,2009.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potenctial applications in food - a review. **International Journal of Food Microbiologv**, v.94, p. 223-253, 2004.

CHAN-LI, E.C.Y. The applications of Raman spectroscopy in food science.**Trends in food science & technology**. v.7, p.361- 370, 1996.

CHOI, Y.S., CHOI, J.H., HAN, D.J., KIM, H.Y., LEE, M.A., JEONG, J.Y., CHUNG, H.J., KIM, C.J. Effects of replacing pork back fat with vegetable oils and rice bran fiber on the quality of reduced-fat frankfurters. **Meat Science**, v.84, p.557-563, 2010.

QUEIROZ, A.M.P. **Efeitos do tripolifosfato de sódio sobre as características microbiológicas, físico químicas e vida de prateleira em lingüiça frescal de frango**. 2006. 85 f. Dissertação (Mestrado em ciência veterinária). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.

GRICE, H.P. Enhanced tumour development by butilated hydroxyanisole (BHA) from the prospective of effect on forestomach and oesophageal squamous epithelium. **Food and Chemical Toxicology**, v. 26, p. 717-723, 1988.

HAYES, P.R. **Microbiologia e Higiene de los Alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1993, p.369.

JAVANMARDI, J.; STUSHNOFF, C.; LOCKE, E.; VIVANCO, J.M. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian Ocimum accessions. **Food Chemtry**, v.83, p. 547-550, 2003.

KOMIYAMA, M.C.; MENDES, A.A.; TAKAHASHI, S.E.; MOREIRA, J.; BORBA, H.B.A.; LEONEL, F.R.; ROÇA, R.O.; ALMEIDA, I.C.L.P.; NETO, A.B. Características qualitativas de produtos elaborados com carne de frango pálida e normal. **Ciência e Tecnologia Alimentos**, v. 29, p.38-45, 2009.

LEE, S.; DECKER, E.A.; FAUSTMAN, C.; MANCINI, R. A. The effects of antioxidant combinations on color and lipid oxidation in n-3 oil fortified ground beef patties**. Meat Science**, v .70, p. 683-689, 2005.

LUCKE, F.K. Utilization of microbes to process and preserve meat. **Meat Science**, v.56, p.105-115, 2000.

MAHMOUD, S.S.; CROTEAU, R.B. Strategies for transgenic manipulation of monoterpene biosynthesis in plants. **Trends in Plant Science**, v.7, p. 366-373, 2002.

MATA, A.T.; PROENÇA, C.; FERREIRA, A.R.; SERRALHEIRO, M.L.M.; NOGUEIRA, J.M.F.; ARAÚJO, M.E.M. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as portuguese food spices. **Food Chemistry**, v. 103, p.778-786, 2007.

MERCADANTE, A.Z.; CAPITANI, C.D.; DECKER, E.A.; CASTRO, I.A. Effect of natural pigments on the oxidative stability of sausages stored under refrigeration. **Meat Science**, v.84, p. 718-726, 2010.

MORAIS, C.S.N.; MORAIS JUNIOR, N.N.; VICENTE-NETO,J.; RAMOS, E.M.; ALMEIDA, J.; ROSEIRO, C.; SANTOS, C.; GAMA, L.T.; BRESSAN, M.C.; Mortadella sausage manufactured with Caiman yacare (*Caiman crocodilus yacare*) meat, pork backfat, and soybean oil. **Meat Science**,v.95, p. 403-411, 2013.

NASCIMENTO, R.; CAMPAGNOL, P.C.B.; MONTEIRO, E.S.; POLLONIO, M.A.R. Substituição de cloreto de sódio por cloreto de potássio: influência sobre as características físico-químicas e sensoriais de salsichas. **Alimentos e Nutrição**, v.18, n.3, p.297-302, 2007.

OLIVEIRA, R.T.; JUNIOR, J.M.; NASCIMENTO, D.V.; STEFANI,R. Phytochemical screening and comparison of DPPH radical scavenging from different samples of coffe and yerba mate beverages. **International Journal of Scientific and Research Publications**, v.4, 2014.

OLUWATUYI, M., KAATZ, G. W., GIBBONS, S. Antibacterial and resistance modifying activity of *Rosmarinus officinalis*. **Phytochemistry**, v.65, p. 3249–3254, 2004.

PRAKASH, B.; KEDIA, A.; MISHRA, P.K.; DUBEY, N.K. Plant essential oils as food preservatives to control moulds, mycotoxin contamination and oxidatie deterioration of agri-food commodities – Potentials and challenges. **Food Control**, v. 47, p.381-391, 2015.

PEREIRA, G. M. Aplicação de antioxidantes naturais em carne mecanicamente separada (CMS) de aves. 2009. 180p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2009

PENG, Y., YUAN, J., LIU, F., YE, J. Determination of active components in rosemary by capillary electrophoresis with electrochemical detection. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.39, p.431–437, 2005.

PESAVENTO, G.; CALONICO, C.; BILIA, A.R.; BARNABEI, M.; CALESINI, F.; ADDONA, R.; MENCARELLI, L.; CARMAGNINI, L.; DI MARTINO, M.C.; LO NOSTRO, A. Antibacterial activitiy of orégano, rosmarinus and thymus essential

oils against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in beef. **Food Control,** v. 54, p. 188-199, 2015.

PRINS, C.L.; LEMOS, C.S.L.; FREITAS, S.P. Efeito do tempo de extração sobre a composição e o rendimento do óleo essencial de alecrim (Rosmarinus officinalis). **Revista Brasileira.de Plantas. Medicinais**, v.8, p.92-95, 2006.

RAHARJO, S.; SOFOS, J.N.; SCHMIDT, G.R.; Improved speed, specificity, and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C18 method for measuring lipid peroxidation in beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, p.2182-2185,1992.

RAMOS, E.M.; GOMIDE, L.A.M. **Avaliação da qualidade de carne: fundamentos e metodologia**. Viçosa: UFV, 2009, 599 p.

SAENZ-LOPEZ, R.; FERNANDEZ-ZURBANO, P.; TENA, M. T. Capillary electrophoretic separation of phenolic diterpenes from rosemary. **Journal of Chromatography**, v. 953, p. 251–256, 2002.

SILVA, A.M. **Estudo químico e biológico de plantas da família Eriocaulaceae** 2008. 156 f.. Tese (Doutorado em química)- Universidade Estadual Paulista- Instituto de Química, Araraquara, 2008.

TARLADGIS, B.G.; WATTS, B.M.; YOUNATHAN, M.T.A. A distillation method for the quantative determination of malonaldehyde in rancid foos. **The Journal of the American Oil Chemists Society**. v.37, p.44-48, 1960.

TEBALDI, V. M. R. **Análise e potencial de uso de óleos essenciais no controle de Pseudomonas sp. e na formação de biofilme por Pseudomonas aeruginosa**. 2008. 151 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2008.

TEPE, B.; DAFERERA, D.; SOKMEN, A.; SOKMEN, M.; POLISSIOU, M. Antimicrobial and antioxidante activities of the essential oil and various extracts of Salvia tomentosa miller (lamiaceae). **Food Chemistry**, v. 90, 333 -340, 2005.

THYGESEN, L.G.; LOKKE, M.M.; MICKLANDER, E.; ENGELSEN, S.B. Vibrational microspectroscopy of food. Raman vs. FT-IR. **Trends in Food Science e Technology**. v. 14, p. 50-57, 2003.

TERRA, N.N.; CICHOSKI, A.J.; FREITAS, R.J.S. Valores de nitrito e TBARS durante o processamento e armazenamento de paleta suína curada, maturada e fermentada. **Ciência Rural**, v. 36, p. 965-970, 2006.

THORSEN, M. A.; HILDEBRANDT, K. S. Quantitative determination of phenolic diterpenes in rosemary extracts - Aspects of accurate quantification. **Journal of Chromatography,** v. 995, p. 119-125, 2003.

TRINDADE, M.A.; THOMAZINE, M.; OLIVEIRA, J.M.; BALIEIRO, J.C.C.; FAVARO-TRINDADE, C.S. Estabilidade oxidativa, microbiológica e sensorial de mortadelas contendo óleo de soja, armazenada a 0°C durante 60 dias. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 13,p. 165-173, 2010.

VERMA, S.P.; SAHOO, J. Improvement in the quality of ground chevon during refrigerated storage by tocopherol acetate preblending. **Meat Science**, v. 56, p. 403-413, 2000.

WANG, W., WU, N., ZU, Y.G., FU, Y.J. Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. Food Chemistry v.108, p.1019–1022, 2008.

WICHI, H.C. Safety evaluation of butylated hydroxytoluene (BHT) in the liver, lung and gastrointestinal tract. **Food and Chemical Toxicology**, v.24, p.1127-1130, 1986.

CAPÍTULO 3

CAPÍTULO 3: AVALIAÇÃO DA ACEITAÇÃO DE HAMBÚRGUER MISTO ADICIONADO DE ERVA FRESCA DE ALECRIM

Marcela Rios de Araújo[(1)], Erika Cristina Rodrigues[(1)], Elaine Carvalho de Morais[(1)] e Rozilaine Aparecida Pelegrine Gomes de Faria [(1*)]

[(1)] Instituto Federal de Mato Grosso - *campus* Cuiabá-Bela Vista, CEP 78050-560, Cuiabá-MT, Brasil.

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a aceitação sensorial de hambúrguer adicionado de erva fresca. Os hambúrgueres foram elaborados em uma fábrica de hambúrguer e submetidos a teste de aceitação com 51 provadores não treinados no Instituto Federal de Mato Grosso campus Bela Vista. Sendo considerados tratamentos a formulação erva e controle. Foram avaliados no teste de aceitação os atributos: aparência, cor, sabor, textura e odor e realizada a caracterização físico química das duas formulações com as análises de atividade de água, pH, perda de peso por cozimento, força de cisalhamento e cor. Não houve diferença significativa pelo teste t em nenhum dos atributos e nas análises realizadas dos dois tratamentos. Assim pode-se concluir que a erva fresca a 0,1% teve boa aceitação entre os provadores.

Palavras chave: Teste sensorial, erva fresca, *Rosmarinus officinalis,* composição centesimal.

ABSTRACT

The present study had an achievement to evaluate the sensory acceptance burger added fresh herb. The burgers were prepared on a hamburger factory and underwent acceptance testing with 51 non trained testers at the Federal Institute of Mato Grosso campus Bela Vista. Treatments being considered the herb formulation and control. They evaluated the acceptance test attributes: appearance, color, taste, texture and smell. It conducted the chemical physical characteristics of the two formulations with analysis of water activity, pH, weight loss by cooking, shear strength and color. There was no significant difference by T test in any of the attributes and the analyzes of the two treatments. Thus it can be concluded that the fresh herb 0.1% was well accepted among the tasters.

Key words : sensory test, fresh grass, Rosmarinus officinalis, chemical composition

Mestranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Mato Grosso (IFMT) - *campus* Cuiabá-Bela Vista – email riomarcela@gmail.com
Mestranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Mato Grosso (IFMT) - *campus* Cuiabá-Bela Vista – email elaine_carvalho.2@hotmail.com
Doutora, Bolsista PRODOC/CAPES colaboradora no Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – IFMT/*campus* Cuiabá-Bela Vista, email erika.rodrigues@blv.ifmt.edu.br
Doutora, professora efetiva do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – IFMT/*campus* Cuiabá-Bela Vista, email rozilaine.faria@blv.ifmt.edu.br
Doutor, professor Instituto de Física/Universidade Federal de Mato Grosso, e

1. **Introdução**

As ervas aromáticas e especiarias têm sido amplamente utilizadas na indústria alimentar pelas suas propriedades biológicas e sensoriais. Durante as últimas décadas o interesse pelas ervas aromáticas tem aumentado exponencialmente na indústria devido aos seus efeitos na preservação dos alimentos como por exemplo contra os efeitos oxidativos durante o armazenamento.

O hambúrguer já faz parte da rotina alimentar dos brasileiros, em virtude de suas características sensoriais, facilidade de preparo e elevado teor de lipídios, proteínas, vitaminas e minerais (QUEIROZ et al., 2005). Uma das grandes preocupações das indústrias é conseguir manter a qualidade do produto cárneo, principalmente quando moída, que passa por uma constante manipulação, trituração e incorporação de oxigênio. Uma alternativa para este produto é a adição de ervas aromáticas, pois as mesmas possuem compostos fenólicos. O principal mecanismo de ação de compostos fenólicos, naturalmente presentes nos condimentos em geral é a inativação de radicais livres de lipídios que diminuiem a produção de espécies reativas e consequentemente, interrompem a fase de propagação da autoxidação lipídica (MARIUTTI, 2009).

Desta forma as ervas aromáticas e especiarias poderão ser uma alternativa natural à utilização de antioxidantes sintéticos que são atualmente aplicados. Assim, este estudo teve como objetivo realizar o teste de aceitação do hambúrguer misto adicionado de erva fresca de alecrim, uma das formulações que obteve menor valor de oxidação através do teste de TBARs e conhecer sua caracterização físico-química.

2. Material e Método

2.1 Delineamento e modelo experimental

O experimento foi desenvolvido em delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos e três repetições. Sendo os tratamentos T1 (erva fresca a 0,1%), T2 (controle).

2.3 Elaboração dos hambúrgures

A elaboração dos hambúrgueres foi conduzida nas seguintes etapas: trituração da matéria prima cárnea, adição de água, pimenta branca, sal, alho em pó, fosfato para salmoura, cebola congelada, proteína de soja texturizada, corante de caramelo IV, aroma de fumaça, adição de erva fresca referente ao tratamento 1 (T1), homogeneização, formatação e congelamento. Antes da adição da erva fresca no T1, a massa foi submetida a análise físico química através do equipamento FoodScan, onde os valores de lipídio, proteína, carboidrato, umidade e cálcio foram apresentados na própria tela do equipamento e todos os valores dentro do padrão de identidade e qualidade do hambúrguer. As matérias primas cárneas foram obtidas da fábrica de hambúrguer localizada na cidade de Várzea Grande em embalagens lacradas com selo de Inspeção Federal. Os hambúrgueres foram divididos em dois tratamentos (T1) e (T2) e, após a elaboração, foram armazenados a -18°C sendo posteriormante submetidos às análises físico-químicas, microbiológica e sensorial no dia seguinte.

Tabela 1: Formulações dos hambúrgueres para o teste de aceitação

Ingredientes (%)	T01	T02
Gordura bovina	2,92	2,92
Carne moída de frango	21,06	21,06
File de frango	21,06	21,06
Recorte bovino	20,48	20,48
Água	19,25	19,25
Pimenta branca	0,08	0,08
Sal	1,2	1,2
Alho em pó	0,07	0,07
Fosfato para salmoura	0,29	0,29
Cebola congelada	5,14	5,14
Proteína de soja texturizada	7,6	7,6
Corante de caramelo IV	0,14	0,14
Aroma de fumaça	0,51	0,51
Erva fresca	0,1	

2.4 Caracterização físico química dos hambúrgueres

As análises realizadas nos dois tratamentos foram: aw (atividade de água), pH (potencial hidrogeniônico), cor, PPC (perda de peso por cozimento) e força de cisalhamento em triplicata.

2.5 Atividade de água (aw)

A aw foi determinada no equipamento Aqualab Drew Point Water Activity Meter 4 Te, sendo feitas três leituras de cada tratamento. O aparelho foi ligado minutos antes para estabilização. As amostras ficaram armazenadas nos recipientes plásticos fornecidos pelo fabricante do aparelho até a metade.

2.6 Potencial hidrogeniônico (pH)

Na determinação do pH seguiu-se a metodologia AOAC (2012), em que foram pesados 10g de cada amostra adicionada de 75 mL de água destilada e triturada com o auxílio de um moinho Turratec T-102. Em seguida, calibrou-se o pHmetro da marca HACH modelo SensION entre 4,0 e 7,0 com posterior leitura dos resultados. As leituras foram em triplicatas.

2.7 Análise de cor

As amostras de hambúrgueres foram analisadas utilizando o colorímetro- espectrofotômetro, com ângulo de observação de 10°, iluminante D65, componentes especulares excluídos, da marca Konica Minolta KM-CM-700D. Seguindo metodologia da AMSA (2012), de acordo com as pontuações do sistema de cor CIE-Lab. As médias das coordenadas de cor L*, a* e b*, foram obtidas do valor médio de três leituras realizadas em diferentes pontos da superfície. A saturação (C*) e ângulos de tonalidade (h*) foram calculados usando as seguintes equações (RAMOS; GOMIDE, 2009):

$$C^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2} \quad \text{(Eq.1)}$$

$$h^* = \tan^{-1} (b^*/a^*). \quad \text{(Eq.2)}$$

2.8 Perda de peso por cozimento e força de cisalhamento

A perda de peso por cozimento (PPC), foi determinada utilizando o método de AMSA (1978). Pesou-se 25 gramas da amostra embalada em papel alumínio e cozida em chapa aquecedora a 150°C, até atingir a temperatura interna de 72°C. A diferença entre o peso inicial e final das amostras corresponde ao valor da perda de peso por cozimento, apresentada em porcentagem (%).

Das amostras assadas utilizadas na análise da perda de peso por cozimento foram então, retiradas subamostras para a determinação da força de cisalhamento. Seguindo a metodologia AMSA (2012), cada amostra após

cozida, foi cortada em três paralelepípedos de 1cm³ os quais foram colocados com as fibras orientadas no sentido perpendicular à lâmina de 1mm acoplada no texturômetro Stable Micro System, TA.XT/plus, à velocidade empregada de 5mm s-1 e os resultados dos picos de força foram expressos como força de cisalhamento em kgf/cm².

2.9 Avaliação sensorial

Para a realização das análises sensoriais, os hambúrgueres foram submetidos a análises microbiológicas (Salmonella sp, coliformes termotolerantes a 45°C, clostrídios sulfitorredutores/Clostridium perfringes e estafilococos coagulase positiva) exigidas pela legislação vigente (ANVISA, 2001) no laboratório da empresa BRF/SA, a fim de garantir a segurança alimentar do produto a ser oferecido aos provadores. Todas as amostras submetidas às análises microbiológicas ficaram dentro dos padrões estabalecidos pela legislação vigente, estando aptas para o consumo (ANVISA, 2001).

O painel sensorial foi composto por provadores não treinados solicitados para avaliar os atributos sensoriais (aparência, cor, sabor, textura e odor) dos produtos, utilizando escala hedônica de nove pontos, onde: 1 = desgostei muitíssimo, 9 = gostei muitíssimo e indicar qual foi a amostra preferida.

As amostras de hambúrguer correspondentes às formulações de T1 (erva fresca a 0,1%) e T2 (controle), foram grelhadas em grill elétrico sem adição de óleo por 5 minutos até atingirem 72°C no centro da peça, as mesmas foram cortadas, aproximadamente 1/4 de hambúrguer individualmente em pratos plásticos descartáveis brancos, codificadas com números de três digitos, apresentadas, aleatoriamente, para cada provador, juntamente com uma ficha de avaliação e um copo de água. A avaliação sensorial foi realizada em cabines individuais e os 51 provadores foram instruídos a limpar com água os seus paladares entre as amostras e todos participantes assinaram o termo de Consentimento Livre Esclarecido, seguindo a Resolução 196/96 do CNS/MS.

2.10 Análise estatística

Os resultados obtidos nas análises físico-químicas e sensoriais foram tratados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA) em delineamento inteiramente casualizado e as médias comparadas pelo teste t ao nível de 5% de significância respectivamente.

3. Resultado e Discussão

3.1 Caracterização físico química dos hambúrgueres

Na Tabela 2 estão os resultados das análises de aw, pH, perda de peso por cozimento e força de cisalhamento. Não houve diferença significativa em nenhuma das análises realizadas referente aos dois tratamentos pelo teste t. Assim, pode se dizer que a erva fresca a 0,1% não interfere nas características físico químicas de hambúrguer misto, ficando alguns resultados da nossa pesquisa semelhantes aos da literatura encontrada. Lima (2008), realizando estudo de hambúrguer bovino e hambúrguer com proteína vegetal encontrou aw acima de 0,958. Marques (2007), encontrou entre 0,97 e 0,98 valores considerados altos, no entanto os hambúrgueres são armazenados congelados e preparados apenas no momento de consumo. O valor de aw, juntamente com pH são determinantes para o crescimento microbiano em alimentos altamente perecíveis como carnes, vegetais, pescado e leite, cujas faixas de aw são de 1,00 até 0,95. Considera-se apenas uma aw abaixo de 0,60 como limitante para crescimento microbiano.

Em relação ao pH, os resultados foram compatíveis com os encontrados por Caye et al., (2009) que, ao avaliarem hambúrgueres encontraram valores de pH iniciais acima de 6,0.

A perda de peso no cozimento (PPC) dos hambúrgueres variou de 22 a 24%. Segundo Seabra et al., (2002), em estudos com hambúrgueres, quanto menor o teor de gordura maior é o encolhimento, variando de 18,3%, 16% e 15,1% para hambúrgueres com 1,3%, 5,2% e 21,3% de gordura, respectivamente. Outra variável importante para determinar o valor de PPC é a concentração de proteína texturizada na formulação, concentrações de 3 a 9% em hambúrgueres, são consideradas como sendo o fator mais importante para minimizar a perda de água durante a cocção (BOMDESPACHO et al., 2011). A formulação em questão contém 7,6% de proteina texturizada, dentro da faixa que minimiza a perda de água durante o cozimento.

A textura e força de cisalhamento obtiveram valores bem abaixo da literatura encontrada Zeola et al., (2012) encontraram valores de 0,68 a 0,97kgf/cm² em hambúrgueres ovinos. Komiyama et al., (2009) obtiveram valores de 1,73 a 2,34kgf/cm² em hambúrguer de carne de frango. Diferença esta que pode estar na quantidade de água adicionada na formulação, já que aos hambúrgueres no estudo em questão foi acrescidas de 19% de água, diferente da literatura encontrada que foi de 10%.

Tabela 2: Resultados das análises físico-químicas

Variável	Tratamentos		
	T1	T2	*CV%
Aw	0,96693 ± 0,0004 a	0,97783 ± 0,0005 a	0,45
pH	6,37 ± 0,003 a	6,33 ± 0,002 a	0,1
PPC (%)	22,86 ± 0,48 a	24,93 ± 0,38 a	5,25
Textura (kgf/cm²)	0,1959 ± 0,0019 a	0,2273 ± 0,004 a	0,77

CV: Coeficiente de variação. Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente ao nível de 5% pelo teste t. T1: hambúrguer elaborado com 0,1% de erva fresca e T2: hambúrguer controle. Os dados da tabela são originais porém os CV apresentados são dos dados após transformação.

3.2 Análise de cor

Na Tabela 3 estão os resultados da cor objetiva (Valor L*, a*, b*, C* e h*). Os resultados desta Tabela mostram que não foi possível encontrar diferenças significativas (p> 0,05) para a coloração dos hambúrgueres. Os dados de cor sugerem que a utilização de erva fresca a 0,1% não causa prejuízos à coloração do produto final, sendo que a cor é, provavelmente, o principal atributo de qualidade que leva o consumidor a decidir pela aquisição de determinado produto (KOMIYAMA et al.,2009). Segundo O'Sullivan et al., (2004), o valor L* dos hambúrgueres elaborados com carne de frango foi de aproximadamente 50, ligeiramente mais baixo que o obtido neste trabalho.

Quanto maior for o valor de L*, menor será a capacidade de retenção de água e o peito de frango exibirá uma textura mais macia. Amostras do músculo do peito com valor de L* ≥ 49 apresentam pobre capacidade de retenção de água, o que pode servir para classificar a ocorrência de carne PSE em frangos de corte (Barbut, 1997). Com esta análise, os processadores podem, com a sua matéria-prima disponível, determinar qual sua melhor aplicação, a fim de se obter distintos produtos, dentro de seus requerimentos de qualidade (Barbut, 1998).

Tabela 3: Resultado da análise objetiva de cor

Variável	Tratamentos		
	T1	T2	*CV%
L*	61,02 ± 0,25 a	61,37 ± 0,28 a	1,47
a*	8,30 ± 0,08 a	7,61 ± 0,15 a	3,63
b*	24,47 ± 0,18 a	23,85 ± 0,32 a	2,93
C*	25,85 ± 0,19 a	24,63 ± 0,21 a	2,11
h*	71,27 ± 0,05 a	71,94 ± 0,25 a	0,82

CV: Coeficiente de variação. Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente ao nível de 5% pelo teste t. T1: hambúrguer elaborado com 0,1% de erva fresca e T2: hambúrguer controle. Os dados da tabela são originais porém os CV apresentados são dos dados após transformação.

3.3 Análise sensorial

As notas de aceitação sensorial dos hambúrgueres com erva fresca a 0,1% (T1) e controle (T2), estão apresentadas na Tabela 4. Conforme mostra a Tabela, todos os parâmetros julgados na análise sensorial não apresentaram diferença significativa (P> 0,05). Assim, pode-se dizer que a erva fresca a 0,1% na formulação de hambúrguer misto não alterou os atributos sensórias julgadas pelos avaliadores. Apesar das variáveis não ter apresentado diferença significativa, dos 51 provadores, 52% indicaram o T1 (erva fresca a 0,1%) como a mais preferida.

Tabela 4: Notas de aceitação sensorial de hambúrguer com erva fresca e controle.

Variável	Tratamentos		
	T1	T2	*CV%
Aparência	7,88 ± 0,98 a	7,43 ± 1,82 a	9,22
Cor	7,58 ± 1,14 a	7,56 ± 1,18 a	8,03
Sabor	8,03 ± 1,26 a	7,82 ± 1,37 a	7,34
Textura	7,70 ± 1,08 a	7,70 ± 1,41 a	8,2
Odor	7,51 ± 1,57 a	7,55 ± 1,60 a	10,83

*CV: Coeficiente de variação. Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente ao nível de 5% pelo teste t. T1: hambúrguer elaborado com 0,1% de erva fresca e T2: hambúrguer controle. *Os dados da tabela são originais porém os CV apresentados são dos dados após transformação.

4. Conclusão

É viável a utilização de ervas frescas no processamento de hambúrguer por não haver interferência nos atributos sensoriais e nas características físico químicas. Há necessidade de serem estudados a logística e o armazenamento de erva fresca utilizada na formulação de hambúrguer em uma fábrica de médio e grande porte.

Referências

AOAC. **Association of official analytical chemists**. Official methods of analysis - AOAC Internacional. 19th ed. Maryland, USA, 2012.

AMSA. Meat color measurement guidelines, Champaing, IL: **American Meat Science Association**, 2012. p.136.

AMSA. **Guidelines of cookery and Evaluation of meat**. American Meat Science Association and National Livestock and Meat Board, Chicago IL. 1978.

ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC n°12, de 02/01/2001. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 10 jan. 2001.

Barbut S. Problem of pale soft exudative meat in broiler chickens. **British Poultry Science**, 1997;v.38p.355-358.

Barbut S. Estimating the magnitude of the PSE problem in poultry. **Journal Muscle Foods** 1998;v 9, p.35-49

BOMDESPACHO, L.Q.; CAVALLIN, D.C.U.; CASTRO, A.D.; ROSSI, E.A. O emprego de okara no processamento de "hambúrguer" de frango fermentado com lactobacillus acidophilus CRL 1014. **Alimento e Nutrição**, Araraquara, v.22, n.2, p. 315-322, 2011.

CAYE, L.; FRANÇOIS, P.; SANTOS, M.V. Avaliação físico-química de hambúrguer elaborado com carne ovina. In: SEMINÁRIO DE SISTEMAS DE PRODUÇÃO AGROPECUÁRIA, 3., 2009, Dois Vizinhos, PR. **Anais**. Dois Vizinhos: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2009.p.25.

KOMIYAMA, M.C.; MENDES, A.A.; TAKAHASHI, S.E.; MOREIRA, J.; BORBA, H.B.A.; LEONEL, F.R.; ROÇA, R.O.; ALMEIDA, I.C.L.P.; NETO, A.B. Características qualitativas de produtos elaborados com carne de frango pálida e normal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.29: p.38-45, 2009.

LIMA, R.J. Caracterização físico-química e sensorial de hambúrguer vegetal elaborado à base de caju. **Ciência Agrotecnologia**, vol. 32 , 2008.

MARIUTTI, B. R. L. **Efeito da adição de sálvia e alho na oxidaçao lipídica em carne de frango**. 2009.204f. Tese (Doutorado em Ciencia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, 2009.

MARQUES, J.M. **Elaboração de um produto de carne bovina "tipo hambúrguer" adicionado de farinha de aveia.** 2007. 71 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, 2007.

O'SULLIVAN, C. M.; LYNCH, A.M.; LYNCH, P.B.; BUCKLEY, D.J.; KERRY, J.P. Assessment of the Antioxidant Potential of Food Ingredients in Fresh, Previously Frozen and Cooked Chicken Patties. **International Journal of Poultry Science**, v. 3, p. 337-344, 2004.

QUEIROZ, Y.U.; DAUD, K.O.; SOARES, R.A.M.; SAMPAIO, G.R.; CAPRILES, V.D.; TORRES, E.A.F.S. Desenvolvimento e avaliação das propriedades físico-químicas de hambúrgueres com reduzidos teores de gordura e de colesterol. **Revista Nacional da Carne**, v. 338, p.84 -89, 2005.

RAMOS, E.M; GOMIDE, L.A.M. **Avaliação da qualidade de carne: fundamentos e metodologia**. Viçosa: UFV, 2009, 599 p.

Resolução nº 196, de 10 de outubro de 1996. **Estabelece os requisitos para realização de pesquisa clínica de produtos para saúde utilizando seres humanos Conselho Nacional de Saúde**. Brasília, 10 out. 1996. Disponível em http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=663. Acesso em: 07/07/2015.

SEABRA, L.M.J.; ZAPATA, J.F.F; NOGUEIRA, C.M. Fécula de mandioca e farinha de aveia como substitutos de gordura na formulação de hambúrguer de carne ovina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, p. 244-248, 2002

ZEOLA, N.M.B.L; SOBRINHO, A.G; BORGA, H; MANZI, G.M; NONATO,A; ALMEIDA, F.A. Avaliação do modelo de produção e da inclusão de gordura nos parâmetros qualitativos e sensoriais do hambúrguer ovino. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária. Zootecnia**.vol.64, Belo Horizonte, 2012.

APÊNDICE

APÊNDICE (A-ROTEIRO DAS ANALISES DO CAPÍTULO 2)

1. Material e Método

1.1 Delineamento e modelo experimental

O experimento foi desenvolvido em delineamento inteiramente casualizado com sete tratamentos denominados T1 (erva seca a 0,1%(m/m)), T2 (erva fresca a 0,1% (m/m)),), T3 (óleo essencial a 0,1% (m/m)),), T4 (erva seca a 0,05% (m/m) e óleo essencial a 0,05% (m/m)),), T5 (BHT a 0,01% (m/m)),), T6 (eritorbato a 0,1% (m/m)),) e T7 (sem antioxidante), e três repetições. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

1.2 Obtenção das ervas

Foram coletadas ervas de alecrim *in natura* no sítio localizado na cidade de Chapada dos Guimarães, no estado de Mato Grosso, com coordenadas 15°25'52.3"S55°47'18.9"W. A erva foi colhida em Fevereiro de 2015. A partir das folhas frescas e coletadas foi obtido o óleo essencial. Parte das ervas frescas foram submetidas a secagem à temperatura ambiente (aproximadamente 30°C e 60% UR), por 7 dias para obtenção das ervas secas.

1.3 Obtenção do óleo essencial das folhas de alecrim

O material vegetal fresco, somente as folhas foram cortados com tamanho de aproximadamente 1 cm com o auxílio de uma tesoura. Foram inseridas no balão de destilação com capacidade de 2000 ml aproximadamente 250g do material e adicionado água destilada até cobrir o material botânico, aproximadamente 800 ml. O balão de destilação foi acondicionado em manta de aquecimento de capacidade adequada, acoplado em aparato tipo Clevenger, submetidas à hidrodestilação por 2 horas até obtenção do óleo.

Foram realizadas três extrações de 2 horas cada. O óleo encaminhado para cromatografia gasosa foi desidratado com Na_2SO_4 anidro, acondicionado em frasco escuro e armazenado em freezer a -18°C. O óleo para a formulação dos hambúrgueres e para análise no espectrômetro Raman foi retirado do sistema de hidrodestilação, acondicionado e armazenado nas mesmas condições descritas anteriormente até o dia da utilização no experimento. As extrações foram realizadas no laboratório de química orgânica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, a análise cromatográfica no Instituto de Química da UFMT e a análise no espectrômetro no Instituto de Física da UFMT.

1.4 Caracterização do óleo essencial por Cromatografia gasosa aclopado ao espectrômetro de massa (CG/EM)

O óleo essencial foi caracterizado em cromatográfico Agilent, modelo 6890 acoplado ao espectrômetro de massa modelo 5973, com coluna capilar HP-5MS de 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro e 0,25µm de espessura de fase, utilizando-se hélio (99,9999%) como gás de arraste, conforme Tepe et al., (2003). Aquisição e processamento dos dados foram feitas com software Chemstation.

1.5 Caracterização do óleo essencial por espectroscopia Raman

Os espectros Raman foram obtidos em equipamento HORIBA modelo LabRam HR 800, irradiando-se a amostra com fonte de laser de radiação monocromática visível.

1.6 Obtenção do extrato hidroetanólico das folhas de alecrim

O extrato foi obtido utilizando 200g de folhas frescas de alecrim em solução de etanol e água (1:1) até completa extração. O material obtido foi filtrado e submetido a aquecimento em banho maria até evaporação do

solvente. O extrato obtido foi acondicionado em frasco escuro e armazenado em freezer a -18°C até o momento da análise.

1.7 Análise de atividade antioxidante total do óleo essencial (OE) e extrato hidroalcóolico de alecrim (EH) por DPPH

A análise da atividade antioxidante total foi desenvolvida conforme Silva (2008) com adaptações, sendo as concentrações das amostras de 100, 20 e 4 µg/mL. A atividade antioxidante foi avaliada por meio de um ensaio espectrofotométrico utilizando-se uma solução metanólica 0,06 mM de DPPH. a solução da amostra em análise, o óleo essencial extraído e o extrato de alecrim. Soluções estoque foram preparadas a partir de 1 mg da amostra teste em 10 mL de metanol. Em seguida foram feitas diluições até as concentrações de 100, 20 e 4 µg/mL, tanto para óleo como para extrato. Em cada 2 mL da amostra foram adicionados 3 mL da solução de DPPH. Após 30 minutos de reação, as absorbâncias das soluções foram medidas a 517 nm. A solução controle foi constituída de 3 mL da solução de DPPH acrescida de 2 mL de metanol. Os valores médios do percentual de DPPH foram obtidos de acordo com a Equação 1, utilizando os resultados da absorbância controle (Abs Control) e absorbância da amostra (Abs amostra) (OLIVEIRA et al.,2014).

%DPPH = (Abs Control - Abs amostra)/ Abs Control x 100 (Eq. 1)

1.8 Processamentos dos hambúrgueres e tempo de armazenamento

Os hambúrgueres foram elaborados em indústria de processamento de carne localizada em Várzea Grande MT .O processamento foi desenvolvido conforme Figura 1 e os tratamentos aplicados conforme descrito no item 1.1.

Figura 1: Fluxograma do processamento de hambúrguer

Cada hambúrguer foi embalado individualmente em embalagem de polietileno e identificado com o respectivo tratamento (Tabela 1) e repetição, o material foi armazenado em incubadora tipo BOD a -8°C as amostras retiradas para análise de acordo com o tempo de armazenamento (0,7, 15, 30, 45, 60, 90 e 120 dias). O conjunto de amostras analisadas ficaram envolvidas em papel alumínio, identificadas para cada tempo sendo realizado rodízio entre as prateleiras no interior da incubadora para casualizar e diminuir a interferência de posição.

Tabela 1: Formulação conforme critério de cada tratamento.

Ingredientes (%)	T01	T02	T03	T04	T05	T06	T07
Gordura bovina	2,92	2,92	2,92	2,92	2,92	2,92	2,92
Carne moída de frango	21,06	21,06	21,06	21,06	21,06	21,06	21,06
Filé de frango	21,06	21,06	21,06	21,06	21,06	21,06	21,06
Recorte bovino	20,48	20,48	20,48	20,48	20,48	20,48	20,48
Água	19,25	19,25	19,25	19,25	19,25	19,25	19,25
Pimenta branca	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Sal	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
Alho em pó	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Fosfato para salmoura	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29
Cebola congelada	5,14	5,14	5,14	5,14	5,14	5,14	5,14
Proteína de soja texturizada	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6
Corante de caramelo IV	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14
Aroma de fumaça	0,51	0,51	0,51	0,51	0,51	0,51	0,51
Erva seca	0,1						
Erva fresca		0,1		0,05			
Óleo essencial			0,1	0,05			
BHT					0,01		
Eritorbato						0,1	

1.9 Parâmetros físico químicos

As análises físico químicas (pH, cor, atividade antioxidante - TBARS) foram realizadas no Instituto Federal de Mato Grosso - *campus* Cuiabá/Bela Vista, todas em triplicata.

1.10 Determinação do Potencial Hidrogeniônico (pH)

Para determinação do pH seguiu-se a metodologia AOAC (2012), em que foram medidas 10g de cada amostra , adicionados 75 mL de água destilada e triturado com o auxílio de moinho Turratec T-102. Em seguida, calibrou-se o pHmetro da marca HACH modelo SensION com solução estoque padrão para pH valores entre 4,0 e 7,0.

1.11 Análise de Cor

As amostras de hambúrgueres foram analisadas utilizando-se o colorímetro- espectrofotômetro, com ângulo de observação de 10º, iluminante D65, componentes especulares excluídos, da marca Konica Minolta KM-CM-700D, seguindo metodologia da AMSA (2012), de acordo com as pontuações do sistema de cor CIE-Lab. As médias das coordenadas de cor L*, a* e b*, foram obtidas do valor médio de três leituras realizadas em diferentes pontos da superfície. A saturação (C*) e ângulos de tonalidade (h*) foram calculados usando as seguintes equações (RAMOS; GOMIDE, 2009):

$C^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$ (Eq.2)

$h^* = \tan^{-1} (b^*/a^*)$. (Eq.3)

1.12 Elaboração do teste de recuperação, a curva padrão do malonaldeído e o cálculo de K

1.12.1 Teste de Recuperação

Para determinação da oxidação lipídica seguiu-se a metodologia descrita por Tarladgis, Watts e Younathan (1960) e Queiroz (2006).

As soluções utilizadas na determinação da oxidação lipídica foram: solução aquosa de TCA 5%, TBA 0,02M, solução estoque de TMP (tetrametoxipropano) 4,85 x 10-3M, apresentando 0,08mL de TMP em 100 mL de TCA 5%. A partir desta solução é feita a diluição para a solução trabalho; e

solução trabalho de TMP 4,85 x 10-5M, ou seja 0,1 mL de solução estoque de TMP em 100 mL de TCA a 5%.

1) Absorbância (A) do extrato da amostra (hambúrguer): foram pesadas 10g das amostras em copos de vidro, e em seguida, adicionadas 50 mL de TCA a 5,0% (Tricloroacético). Estas amostras foram homogeneizadas por 1 minuto em homogeneizador e filtradas em papéis filtro. Em seguida foram retiradas alíquotas de 2 mL de filtrado do extrato da amostra e transferidas para tubos de ensaios, aos quais foram adicionados 2 mL de TBA 0,02M. Os tubos foram colocados a banho-maria a temperatura de 100°C por 10 minutos, resfriados em banho de gelo por 10 minutos e fez-se a leitura em espectrofotômetro calibrado a 532 nm. As análises foram realizadas em triplicata.

2) Absorbância (B) da solução de Tetrametoxipropano: Foram introduzidos dentro do tubo de ensaio 1 mL da solução de TMP, 1 mL de TCA a 5% e 2mL de TBA 0,02 M. Logo, este tubo foi aquecido em banho-maria a 100°C por 10 minutos. Em seguida o mesmo foi resfriado em banho de gelo por 10 minutos, com posterior leitura em espectrofotômetro a 532nm. Esta etapa foi realizada em triplicata.

3) Absorbância (C) do extrato da amostra mais o Tetrametoxipropano: foram pesados 10g da amostra em copo de vidro, adicionado 10 mL de solução de TMP e 40 mL de TCA 5,0% e homogeneizado por 1 minuto. Estas amostras foram filtradas em papéis filtro, retirada uma alíquota de 2 mL do filtrado de extrato da amostra e transferida para tubos de ensaio, que foram submetidos a posterior adição de 2 mL de TBA 0,02M. Estes tubos foram aquecidos em banho-maria a 100°C por 10 minutos e resfriados em banho de gelo por 10 minutos. Estas análises foram executadas em triplicata e a leitura em espectrofotômetro a 532nm.

1.12.2 Curva Padrão

Para a obtenção da curva padrão foi utilizada a solução de tetrametoxipropano (4,85 x 10^{-8} moles/mL) e a solução de Tricloroacético a 5,0% nas alíquotas descritas na tabela 2.

Tabela 2:Alíquotas das soluções de TMP e TCA introduzidas nos respectivos tubos.

Tubo	TMP	TCA	TBA	Concentração (x10^{-8} moles/2mL)
0	0	2	2	0
1	0,2	1,8	2	0,96
2	0,4	1,6	2	1,92
3	0,6	1,4	2	2,88
4	0,8	1,2	2	3,84
5	1	1	2	4,8
6	1,2	0,8	2	5,76
7	1,4	0,6	2	6,72

TMP = Trimetoxipropano, TCA = Tricloroacético

Imediatamente, após a distribuição das alíquotas das soluções de TMP e TCA nos respectivos tubos de ensaio foram adicionados 2 mL da solução de TBA em cada um destes tubos aquecidos em banho maria a temperatura de 100°C por 10 minutos. Em seguida, os tubos foram resfriados em banho de

gelo. Foi realizada a leitura da curva padrão em espectrofotômetro calibrado a 538nm, sendo feita primeiramente a leitura do tubo branco para ajustar o equipamento para as leituras seguintes.

1.12.3 Cálculo de Recuperação do Malonaldeído (R)

A partir da obtenção dos resultados das absorbâncias A, B, C (descritos no item 1.12.1) e da curva padrão efetuou-se o cálculo de recuperação e utilizou-se a seguinte equação:

$R/ A + B = C \times 100$ (Eq.4)

1.12.4 Valor do fator de Conversão (K)

Para calcular o N° de TBA foi necessário conhecer o valor de K, pois, através deste foram convertidos os valores das absorbâncias extraídas das amostras analisadas para número de TBA em mg MA/Kg da amostra. Obteve-se o valor de K utilizando-se a equação 5, onde d é declividade da curva; p.mol é o peso molecular do malonaldeido (72g/mL) e R é porcentagem da recuperação

$K = 1/d \times p.mol \times 10^{-7} / \text{peso da amostra} \times 100/ R$ (Eq5)

1.13 Análise da atividade antioxidante pelo método TBARS

O índice de TBARS foi determinado seguindo a metodologia proposta por Raharjo et al. (1992), com algumas adaptações. Cerca de 10 g da amostra foram homogeneizadas com 40 ml de ácido tricloracético (TCA 5%) e 1 ml de BHT em etanol a 30%, transferidas para tubo Falcon e centrifugadas a 3000 rpm por 2 minutos, foram filtradas em papel filtro diretamente em balão volumétrico de 50 ml. O volume do balão foi ajustado com TCA 5% , retirados 2 ml do balão e transferidos para tubo de ensaio juntamente com 2 ml de ácido tiobarbitúrico (TBA 0,08M). Os tubos foram homogeneizados em vórtex por 10

segundos, aquecidos em banho maria por 10 minutos, resfriados em banho de gelo e a absorbância foi obtida com leitura em espectrofotômetro a 532nm para cada tratamento e tempo de armazenamento, conforme equação 6.,Sendo o x a leitura obtida do equipamento e K obtido da equação 4 (anterior) e o resultado expresso em g de malonaldeido/g de amostra.

TBARS= X x K (Eq.6)

1.14 Análise estatística

Todos os dados foram transformados em raiz (X+1) e submetidos à análise de variância (ANOVA). Quando significativos pelo teste F da ANOVA as médias foram comparadas pelo teste de Skott Nott a 5% de probabilidade, com auxílio do programa Assistat 7.7.

Para a análise da oxidação dos hambúrgueres em função do tempo de armazenamento, os dados transformados foram submetidos a correlação linear simples e à ANOVA para verificação da significância do coeficiente da equação de regressão e escolha do modelo que explicasse o fenômeno observado em questão.

APÊNDICE (B-FICHA SENSORIAL UTILIZADA)

FICHA PARA ANÁLISE SENSORIAL

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MATO GROSSO – IFMT

Nome: _____

Sexo: F( ) M( ) Idade: _____ Data:____/_____/_____

Você está recebendo duas amostras de hambúrguer, um com erva fresca de alecrim e o outros sem erva. Por favor avalie as amostras individualmente e indique o quanto você gostou ou desgostou de cada característica do produto de acordo com a escala abaixo. Marque na tabela a melhor resposta que reflita seu julgamento.

9 – gostei muitíssimo
8 – gostei muito
7 – gostei moderadamente
6 – gostei ligeiramente
5 – nem gostei nem desgostei
4 – desgostei ligeiramente
3 – desgostei moderadamente
2 – desgostei muito
1 – desgostei muitíssimo

AMOSTRA	ODOR	COR	TEXTURA	SABOR	APARÊNCIA GLOBAL
145					
328					

Indique qual amostra foi a sua preferida: _____

Você compraria o hambúrguer que mais gostou? ( ) Sim ( ) Não

Você consome hambúrguer?

( ) Todos os dias
( ) Uma vez por semana
( ) A cada 15 dias
( ) Uma vez por mês

Comentários:_____
_____
____.

Agradeço sua participação!

APÊNDICE (C-EQUIPAMENTOS UTILIZADOS NAS ANÁLISES DO CAPÍTULO 3)

Figura 1: Equipamento para Aw.

Figura 2: Equipamento para análise de cor.

Figura 03: Etapas da análise de PPC.