

URI - CAMPUS ERECHIM
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO AQUOSO DE
MANJERONA (*Origanum majorana L.*), EM LINGUIÇA FRESCAL DE
FRANGO**

DANNY ELSON KUFNER

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos da URI-Campus de Erechim, como requisito parcial à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração: Engenharia de Alimentos, da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Campus de Erechim.

ERECHIM, RS - BRASIL

FEVEREIRO DE 2010

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO AQUOSO DE
MANJERONA (*Origanum majorana L.*), EM LINGUIÇA FRESCAL DE
FRANGO.**

Danny Elson Kufner

Dissertação de Mestrado submetida à Comissão Julgadora do Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração: Engenharia de Alimentos.

Comissão Julgadora:

Rogério Luis Cansian, D.Sc.

Orientador

Marco Di Luccio, D.Sc.

Orientador

Gean Delise Leal Pasquale Vargas, D.Sc.

Geciane Toniazzi, D.Sc.

Erechim, 26 de Fevereiro de 2010.

NESTA PÁGINA DEVERÁ SER INCLUÍDA A FICHA CATALOGRÁFICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO. ESTA FICHA SERÁ ELABORADA DE ACORDO COM OS PADRÕES DEFINIDOS PELO SETOR DE PROCESSOS TÉCNICOS DA BIBLIOTECA DA URI – CAMPUS DE ERECHIM.

Resumo da Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Engenharia de Alimentos como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos.

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO AQUOSO DE MANJERONA (*Origanum majorana* L.), EM LINGUIÇA FRESCAL DE FRANGO

Danny Elson Kufner

Orientadores: Marco Di Luccio

Rogério Luiz Cansian

A atividade oxidativa é considerada como importante causa da deterioração dos alimentos cárneos. Recentemente, há um crescente interesse no uso de antioxidantes naturais substituindo antioxidantes sintéticos, já que estes podem trazer malefícios à saúde do consumidor. Neste estudo objetivou-se avaliar a atividade antioxidante do extrato aquoso de manjerona (*Origanum majorana*) aplicado em linguiça de frango fresco. Inicialmente, foi identificada atividade antioxidante no extrato pelo método do DPPH. O extrato aquoso de manjerona apresentou um IC_{50} de $0,040 \text{ mg mL}^{-1}$. Para a determinação da atividade antioxidante do extrato de manjerona em linguiça de frango, as amostras foram divididas em quatro lotes contendo: linguiça sem adição de antioxidante, linguiça com adição de eritorbato (1%), linguiça contendo concentrações de 0,125% e 0,250% de extrato aquoso de manjerona. A linguiça de frango foi mantida sob refrigeração a 5°C durante 21 dias em bandejas plásticas envolvidas com filme de PVC e submetidas à iluminação artificial por 12 horas/dia para simular uma gôndola de supermercado. Foram avaliadas as amostras nos 1º, 6º, 10º, 12º, 14º e 21º dias em relação ao pH e índice de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). A adição do extrato aquoso de manjerona não afetou o pH das linguiças frescas de frango. Na

análise da atividade antioxidante do extrato aquoso de manjerona, a melhor concentração foi a de 0,250% similar a amostra contendo eritorbato. A amostra com concentração de 0,125% de extrato mostrou eficiência até o 10º dia, a partir daí foi significativa a oxidação da amostra. Os resultados mostraram que houve um aumento expressivo da oxidação nas amostras de linguiça que não continham antioxidantes. Pode-se concluir que o uso do extrato aquoso de manjerona na salsicha frescal de frango pode evitar a oxidação de lipídios e, aumentar assim o tempo de conservação do produto, sem a necessidade de se usar antioxidantes sintéticos.

Abstract of Dissertation presented to Food Engineering Program as a partial fulfillment of the requirements for the Degree of Master in Food Engineering.

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF AQUEOUS EXTRACT OF MARJORAM (*Origanum majorana* L.) IN CHICKEN SAUSAGES

The oxidative activity is considered an important cause of spoilage of meat products. There is a recent interest in the use of natural antioxidants in place of the synthetic ones. This tendency is justified by the alleged potential health risks that the synthetic antioxidants may offer. In this study the antioxidant activity of aqueous extract of marjoram (*Origanum majorana* L.) in fresh chicken sausages was investigated. Firstly, the antioxidant potential of the extract was tested by the method of DPPH. The aqueous extract presented an IC_{50} of 0,040 mg mL⁻¹. For determining the antioxidant activity of the marjoram extract in chicken sausage the samples were divided into four batches as follows: sausage without addition of antioxidants, sausage with addition of sodium erythorbate (1%), sausage with 0.125% and 0.250% of aqueous extract of marjoram. The products were kept under refrigeration at 5°C for 21 days in plastic trays packed with PVC film. The trays were submitted to artificial light by 12 h/day to simulate the storage at a supermarket. Samples from the product were taken at the 1st, 6th, 10th, 12th, 14th and 21st days for analysis of pH and substances reactive to the thiobarbituric acid (TBARS). The addition of aqueous extract of marjoram did not affect the pH of the fresh chicken sausages. The analysis of antioxidant activity showed that the best results were obtained with 0.250% of extract, which showed the same level of oxidation than the samples with erythorbate. The product with 0.125% of extract was effective only up to the 10th day, when an increase in the oxidation of the sample was observed. The results showed that there was an expressive increase in the oxidation of chicken sausages that did not contain antioxidants. It can be concluded that the use of the extract of marjoram in chicken sausage may avoid lipid oxidation and thus shelf-life of the product, without the need of using synthetic antioxidants.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Objetivos	16
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 <i>Origanum Majorana L. (Manjerona)</i>	17
2.1.1 Família Lamiaceae	18
2.2 Extrato de Manjerona	19
2.3 Antioxidantes	20
2.3.1 Antioxidantes Naturais	20
2.4 Linguiça Frescal	22
2.5 Oxidação Lipídica	24
2.5.1 Mecanismo da Oxidação Lipídica	26
2.5.1.1 Oxidação Enzimática	26
2.5.1.2 Fotoxidação	26
2.5.1.3 Autoxidação	27
2.6 – Aplicação tecnológica de antioxidantes em produtos alimentícios	29
2.6.1 Carnes e derivados	29

2.6.1.1 Carnes de Frango	29
2.7 Avaliação da oxidação lipídica pelo teste do ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) e malonaldeído	30
3. MATERIAIS E MÉTODOS	33
3.1 Materiais	33
3.1.1 Matéria prima	33
3.1.2 Embalagens	33
3.1.3 Equipamentos	33
3.2 Métodos	35
3.2.1 Obtenção do extrato seco de manjerona	35
3.2.2 Atividade antioxidante <i>in vitro</i> pela captura de radicais livres com o teste do DPPH	36
3.2.3 Avaliação do teor de Polifenóis totais	37
3.2.4 Aplicação do extrato de manjerona na linguiça frescal de frango	38
3.2.4.1 Elaboração das linguiças frescas de frango	38
3.2.4.2 Plano de Amostragem	38
3.2.5 Índice de TBARS – Oxidação dos lipídeos	39
3.2.6 Determinação do pH	39
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	40
4.1 Fenólicos	41
4.2 Atividade Antioxidante do Extrato de Manjerona <i>in vitro</i>	41
4.3 Avaliação do pH das diferentes formulas	42
4.4 Avaliação do Índice de TBARS das diferentes formulações	44
5 CONCLUSÕES	47
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 – Aspecto geral da manjerona. A) folhas frescas, B) folhas secas_____	23
Figura 2.2 - Esquema geral da oxidação lipídica (Jadhav et al., 1996)_____	31
Figura 2.3 – Mecanismo geral da autooxidação lipídica_____	34
Figura 2.4 - Reação do teste de TBA entre o ácido 2-tiobarbitúrico e o malonaldeído, formando o composto colorido, medido espectrofotometricamente (Osawa et al., 2005)____	37
Figura 3.1 – Evaporador Rotativo_____	40
Figura 3.2 – Liofilizador_____	40
Figura 3.3 – Extrato aquoso de manjerona antes da desidratação_____	41
Figura 3.4 – Extrato aquoso de manjerona_____	42
Figura 4.1 – Curva de calibração da atividade antioxidante do extrato de manjerona (<i>O. majorana</i>)_____	47
Figura 4.2 – Evolução do pH ao longo do tempo de estocagem_____	50
Figura 4.3 – Resultados do índice de TBARS_____	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 – Formulação dos diferentes lotes da linguiça frescal de frango/kg massa_____	44
Tabela 4.1 – Resultados fenólicos_____	46
Tabela 4.2 – Porcentagem da neutralização do DPPH do extrato aquoso de <i>Origanum majorana</i> em diferentes concentrações_____	47
Tabela 4.3 – Valores de pH da linguiça das diferentes formulações de linguiça de frango durante o tempo de estocagem_____	49

1. INTRODUÇÃO

A oxidação dos lipídios que ocorre durante o armazenamento de matérias-primas, no seu processamento, tratamento térmico e posterior armazenamento dos produtos finais é um dos processos básicos que causam rancidez em produtos alimentares levando à sua deterioração. O sabor e aroma de um produto pode ser o critério para a rejeição de qualquer tipo de alimento. Produtos com oxidação lipídica influenciam outros constituintes dos alimentos, por exemplo, eles interferem a absorção de proteínas (Karpinska e Danowska, 2001).

A oxidação lipídica é normalmente associada a carnes que são cozidas ou cujas membranas sofreram um processo de desintegração, como no caso de moagem. Os lipídeos ligados às membranas são constituídos, na maioria das vezes, de fosfolipídios altamente insaturados, que são especialmente susceptíveis à oxidação lipídica (Pearson et al., 1977). Aquecer, moer ou emulsificar expõe esses fosfolipídios lábeis não apenas ao oxigênio, mas também a outros componentes catalíticos como enzimas, pigmentos heme e íons metálicos.

Para prolongar a estabilidade no armazenamento de alimentos são utilizados principalmente os antioxidantes sintéticos. Porém, estudos toxicológicos têm demonstrado a nocividade de alguns antioxidantes sintéticos como o BHA (hidróxianisol butilado) e BHT (hidróxitolueno butilado) que são utilizados no processamento de alimentos. O BHA e o BHT são poderosos antioxidantes sintéticos empregados na indústria de alimentos, mas acredita-se que apresentem atividade carcinogênica. Portanto, o desenvolvimento de antioxidantes naturais eficazes tem sido investigado, visando retardar a oxidação lipídica (Ahn e Fernando, 2002). Contudo, a principal desvantagem dos antioxidantes naturais é que os consumidores em geral os percebem no alimento mais facilmente do que os aditivos sintéticos.

Os fenois são um dos grupos mais importantes de antioxidantes naturais. Eles ocorrem apenas no material de origem vegetal e são conhecidos por proteger facilmente os alimentos da oxidação. Dentre os compostos fenólicos presentes nas ervas se destacam os flavonoides, ácidos fenólicos e tocoferol, que são encontrados em ervas e especiarias. Estas têm sido utilizada durante muitos anos como aditivos para melhorar as características sensoriais dos

alimentos (Pokorny, 1991). As especiarias e ervas podem cumprir mais de uma função em alimentos a que são adicionadas (Shelef e Bogen, 1980). Além de transmitir sabor, certos temperos prolongam a vida útil de armazenamento dos alimentos por uma atividade bactericida e alguns previnem o ranço por sua atividade antioxidante. Ervas utilizadas como temperos, também são conhecidas por possuírem atividade antioxidante. O orégano, manjerona, estêvia, manjeriço, alecrim, gengibre e hortelã, por exemplo, são temperos muito utilizados na culinária e também na medicina popular.

O interesse renovado pela utilização de substâncias naturais, biologicamente ativas, tem encorajado a utilização dos óleos essenciais e extratos vegetais como agentes antimicrobianos e antioxidantes em alimentos. Para tal, muito contribuiu o fato de os óleos essenciais e extratos aliarem o seu papel aromatizante à condição de serem produtos naturais e biodegradáveis, apresentarem baixa toxicidade para os mamíferos e poderem desempenhar, simultaneamente, as funções de mais do que um dos seus equivalentes sintéticos (Melo e Guerra, 2002).

Os condimentos usados, principalmente para tornar os alimentos mais agradáveis ao paladar, apresentam ação conservadora por inibirem ou retardarem a atividade microbiana, bem como por retardarem a oxidação dos lipídeos. Estima-se que pelo menos a metade do total de condimentos utilizados pela indústria nos Estados Unidos se dá pela indústria de produtos cárneos (Sharma et al., 1981; Oliveira, 1991).

Das centenas de compostos que têm sido propostos para inibir a deterioração oxidativa, somente alguns podem ser usados em produtos para consumo humano (Ramalho; Jorge, 2006). 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.

A carne e seus derivados devido ao seu elevado valor nutricional e à sua grande quantidade de água disponível torna-se uma presa muito fácil tanto dos microrganismos deteriorantes como dos microrganismos capazes de ocasionar danos à saúde do consumidor, além destes inconvenientes as carnes e seus derivados também estão sujeitos a alterações químicas e físicas que decorrem principalmente da degradação de proteínas e lipídeos.

1.2 Objetivo

Dentro desse cenário, esse trabalho teve como principal objetivo avaliar a atividade antioxidante do extrato de Manjerona (*Origanum majorana L.*), família Lamiaceae (Labiatae) aplicado em linguiça de frango, substituindo o eritorbato, antioxidante químico comumente utilizado nas indústrias de carnes.

Este trabalho está estruturado em cinco capítulos. No Capítulo 2 será apresentada uma breve revisão sobre a utilização e os mecanismos dos antioxidantes naturais em alimentos. No Capítulo 3 é descrita a parte experimental deste trabalho. No Capítulo 4 são apresentados e discutidos os resultados obtidos, sendo as conclusões e sugestões para trabalhos futuros relatadas no Capítulo 5.

2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 – *Origanum majorana* L.(Manjerona)

Origanum majorana L. é conhecida como manjerona, manjerona-doce, manjerona-verdadeira. Espécie da família das Lamiaceae é uma planta herbácea nos climas nórdicos, com folhas verde-claras de aroma agri-doce e flores brancas ou púrpuras que se inserem em fascículos; apresenta uma altura que varia de 15 a 60 cm e cresce em forma de touceiras (Figura 2.1) (Cardoso, 2005).



(A)



(B)

Figura 2.1 – Aspecto geral da manjerona. A) folhas frescas, B) folhas secas

É originária das áreas naturais do Egito e leste do Mediterrâneo, cultivada em solo arejado, seco, alcalino e rico em nutrientes, preferindo clima tropical, quente e úmido. A melhor época para o plantio é o inverno (Vera et al. 1999).

O óleo essencial de manjerona é de cor amarela, com odor picante, canforáceo e amadeirado. É utilizado para combater a tosse, problemas na bexiga e cólicas gastrointestinais. O extrato de manjerona (pó) é de cor escura cristalina, cheiro característico, altamente hidrófilo. Na culinária, a manjerona é empregada em molhos para carnes, enlatados e aplicada para introduzir um sabor fresco, levemente aromático-medicinal e uma nota quente. É também conhecida pelas propriedades antimicrobianas, antioxidantes e inseticidas. O óleo essencial das folhas é volátil, podendo ser obtido pela técnica arraste a vapor de água, apresentando o 4-terpineol (38%) como composto majoritário, seguido do cis-sabineno (15%) e para-cimeno (7%) (Vera et al. 1999; Grossman, 2005).

Nakatani (1997) observou em extratos obtidos com solventes tanto polares como apolares de *O. majorana* a presença de compostos fenólicos com alta atividade antioxidante quando purificados, como ácido rosmarínico, ácido fenilpropiônico, 4-(3,4-dihidroxibenzoil-oximetil) fenil-B-D-glucopiranosídeo, 6-O-4-hidroxibenzoil arbutina e ácido 2-hidroxi-3-(3,4-dihidroxifenil) propiônico, estes dois últimos com moderada atividade antioxidante.

A atividade antioxidante de algumas plantas aromáticas da família das Lamiaceae é muito estudada, especialmente porque os extratos dessas plantas exibem alta atividade em baixas concentrações (Baratta et al., 1998; Sarer et al., 1985). Segundo Dapkevicius et al. (1998), os antioxidantes sintéticos podem causar alguns problemas como a instabilidade em altas temperaturas.

Segundo a ex-CNNPA (Comissão Nacional de Normas e Padrões de Alimentos) (Abia, 1978-1987), a manjerona deve apresentar as seguintes características:

- Características organolépticas:

aspecto: folha ovalada seca ou pó grosso

cor: verde-pardacenta

cheiro: próprio

sabor: próprio

- Características físicas e químicas:

resíduo mineral fixo, máximo.....12% p/p

resíduo mineral fixo, insolúvel em ácido clorídrico a 10% v/v,
máximo.....3,5% p/p

extrato alcoólico, mínimo.....6,0% p/p

2.1.1 – Família Lamiaceae

A família Lamiaceae consiste em aproximadamente 3500 espécies que são nativas principalmente na área do Mediterrâneo, embora algumas tenham origem na Austrália, no Sudoeste da Ásia e na América do Sul (Cuppert e Hall, 1998). São exemplos as espécies de

alecrim (*Rosmarinus* sp.), sálvia (*Salvia* sp.), orégano (*Origanum* sp.), tomilho (*Thymus* sp.), manjeriço (*Ocimum* sp.), manjerona (*Origanum majorana*), menta (*Mentha* sp.), segurelha (*Satureja* sp.), dentre outras, as quais são estudadas devido às suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas e medicinais.

2.2 – Extrato de manjerona

Usando diferentes técnicas extrativas é possível se obter uma grande variedade de produtos a partir de plantas medicinais e aromáticas. De acordo com Serafini et al (2001), três processos merecem atenção especial no que se refere à obtenção de óleos em níveis laboratoriais: arraste a vapor, hidrodestilação e extração com fluidos supercríticos. Geralmente, as essências são extraídas industrialmente por arraste a vapor, e em escala laboratorial, por hidrodestilação das plantas ou parte das plantas (folhas, flores, sementes e raízes).

Extratos secos são preparações obtidas pela eliminação total da fase líquida através de operação de secagem em pressão atmosférica ou reduzida e por liofilização. Devem apresentar uma umidade residual máxima de 5% (Deutsches, 1992). A declaração dos extratos secos deve conter, além da denominação da droga, a mistura extrativa que deu origem ao produto, a relação ponderal da droga para uma parte de extrato, a concentração da substância marcadora e os adjuvantes presentes (Mouette, 1988).

Os extratos secos de manjerona podem ser obtidos por percolação em água destilada seguida de filtração, evaporação do percolado e liofilização. São constituídos por partículas sólidas, de granulometria definida e, na maioria dos casos, destinada a preparações extemporâneas, tais como os pós constituídos por drogas vegetais moídas empregadas na obtenção de chás, normalmente por infusão, ou por extratos e/ou produtos secos para a dissolução, a quente ou a frio, em um líquido adequado (água, misturas hidroalcoólicas, óleos, etc.) (Palma et al., 1999).

O acondicionamento deve assegurar, ainda, a manutenção do teor de umidade preconizado para o produto e sua qualidade microbiológica, através da escolha de materiais de embalagem primária impermeáveis ao vapor d'água e com sistema de fechamento hermético.

Em geral, tais produtos são muito sensíveis à umidade e, para poderem ser conservados nas devidas condições, deverão ser acondicionados de maneira a evitar a influência desse fator, podendo ser providos de substâncias exsiccadoras na embalagem primária (Simões et al., 1999).

Os extratos compreendem, modernamente, um conceito vasto de produtos fitoterápicos e condimentares. Entendidos sob ponto de vista amplo, podem se referir a extratos líquidos, moles, espessos ou secos. No primeiro caso, consideram-se todos aqueles produtos obtidos a partir de matérias-primas vegetais, através de várias metodologias de extração ou dissolução, através do emprego de misturas solventes adequadas, em qualquer relação de concentração entre a matéria-prima vegetal e o meio líquido, com o objetivo de retirar, com maior ou menor especificidade, determinados componentes (Schilcher, 1997).

2.3 – Antioxidantes

2.3.1 – Antioxidantes naturais

A determinação da atividade de produtos naturais teve início com Chipault et al. (1952) em especiarias, ingredientes utilizados em alimentos desde os primórdios da história, não somente para melhorar ou ressaltar as características sensoriais dos alimentos, mas também para preservá-los.

A proteção dos lipídios frente à degradação autoxidativa é garantida pelos antioxidantes. O interesse na pesquisa por novos antioxidantes naturais tem aumentado nos últimos anos, levando as indústrias de alimentos, de cosméticos e farmacêuticos a ter maior atenção em novas fontes de antioxidantes naturais.

Compostos antioxidantes naturais têm sido isolados de diferentes partes de plantas tais como sementes, frutas, folhas e raízes, e muitos estudos tem sido realizados na determinação da sua ação antioxidante (Mancini-Filho, et al., 1998).

No início dos anos 80, diante da comprovação de efeitos maléficos causados por doses elevadas de BHT (butil hidroxitolueno), BHA (butil hidroxianisol) e T-BHQ (t-butil

hidroquinona) sobre o peso do fígado e marcada proliferação do retículo endoplasmático, deu-se início o interesse pelos antioxidantes naturais (Duran e Padilla, 1993).

Estudos preliminares demonstraram que alguns extratos de ervas são tão eficientes quanto os antioxidantes sintéticos (Hernández et al., 2009).

A capacidade antioxidante dos condimentos está relacionada aos seus compostos fenólicos. Desta forma, sua ação será semelhante a dos compostos sintéticos, ou seja, interrompendo a cadeia de radicais livres na etapa de iniciação do processo oxidativo. (Lai et al., 1991).

Os condimentos podem ser adicionados aos alimentos sob várias formas, como condimentos íntegros, condimentos moídos ou extratos isolados dos condimentos. Cada uma destas formas pode apresentar diferentes compostos, em quantidades variadas e com diferentes atividades antioxidantes. Quando usados na forma de extratos, os compostos presentes dependem, principalmente, do método de extração e do solvente utilizado. Além disso, a concentração e a composição dos compostos presentes nos condimentos sofrem a influência de alguns fatores como o cultivar, a origem geográfica, a estação climática, as práticas agrícolas e a parte da planta que foi utilizada. Finalmente, a ação antioxidante de cada condimento depende ainda da metodologia analítica utilizada para sua determinação (Madsen e Bertelsen, 1995).

O uso de antioxidantes deve atender aos seguintes requisitos: ser compatível com o substrato, não conferir odor ou sabor estranhos ao produto, ser efetivo durante o período de armazenamento do produto alimentício, ser estável ao processo de aquecimento e ser facilmente incorporado ao alimento (Melo e Guerra, 2002). Existe uma grande quantidade de compostos, tanto naturais quanto sintéticos, com propriedades antioxidantes, embora para seu uso em alimentos devam ser cumpridos certos requerimentos, sendo um deles a segurança para a saúde (Nawar, 1996).

A utilização de produtos antioxidantes durante a fase de processamento dos produtos cárneos é um importante recurso adotado pela indústria como forma de retardar as alterações oxidativas nos mesmos.

A incorporação de aditivos com função antioxidante em produtos cárneos é regulamentada por legislação (Brasil, 1998). Os antioxidantes podem ser utilizados

individualmente ou combinados, sendo que para esta utilização deve-se ter experiência e conhecimento de causa, garantindo assim a melhor qualidade dos produtos e a segurança alimentar.

2.4 – Linguiça frescal

No Brasil, linguiça frescal é um dos produtos cárneos mais consumidos. Com processamento relativamente simples e, empregando-se normas higiênico-sanitárias adequadas, a produção pode ser bastante rentável. É, também, um produto facilmente perecível, uma vez que a extensiva manipulação inerente ao processo permite contaminações cruzadas. A matéria prima quando não corretamente selecionada pode comprometer a segurança do produto final por se tratar de um produto frescal. O emprego de baixas temperaturas é muito importante, pois em valores superiores aos de refrigeração, o desenvolvimento de microrganismos deterioradores e/ou patogênicos e a atividade oxidativa pode ocorrer muito rapidamente. No caso de linguiças frescas adicionadas de gordura suína, esta pode tornar-se rançosa em curto espaço de tempo quando altas temperaturas são mantidas durante o processamento, armazenamento e durante exposição na comercialização (Cleide, 2005).

As principais causas do desenvolvimento da rancidez são hidrólise e oxidação lipídica. A rancidez hidrolítica provoca a liberação de ácidos graxos, sendo geralmente as lipases (microbianas ou da própria carne) que iniciam o processo de rancificação das gorduras. No caso da rancidez oxidativa, o início da reação é catalisado pela ação do oxigênio do ar sobre os ácidos graxos insaturados presentes na gordura da carne a ser processada e são influenciadas por diversos fatores, além de serem desencadeadas pela atividade das lipoxidasas e outras enzimas similares. O contato da gordura presente na formulação com certos metais, particularmente o ferro, também acelera o aparecimento do ranço, daí a recomendação do uso de equipamentos de aço inoxidável. Além disso, uma higiene perfeita dos equipamentos, utensílios e de toda a área de processamento deve ser observada. A linguiça, mesmo mantida sob refrigeração, começa a apresentar certas modificações no quinto ou sexto dia, após o processamento. No entanto, sob condições adequadas de processamento incluindo uso de aditivos permitidos como nitrito de sódio, condimentos esterilizados, os

antioxidantes naturais e com boas práticas de fabricação, a vida útil pode ser prolongada por 15 a 25 dias sob refrigeração adequada (Ibrac, 1980; Prandl et al., 1994).

Um fato relevante diagnosticado nesse segmento é a tendência em reembalar produtos cárneos no ambiente de supermercado, apesar dos inúmeros esforços da indústria em combater essa prática através de lançamento de produtos já porcionados, estratégia nem sempre lucrativa para a empresa. O objetivo dos supermercados tem sido ampliar seus volumes de venda junto a grupos de consumidores com diferentes necessidades de consumo de forma prática e conveniente. No entanto, a busca da redução de custos sugerida pela utilização de embalagens mais baratas, falta de instalações higiênico-sanitárias adequadas, manipuladores não especializados para a tarefa e, muitas vezes, porcionamento de produtos já à beira da extinção do prazo de validade originalmente estabelecido pela indústria, acarretam riscos para a saúde e satisfação desse consumidor, bem como para a empresa fabricante em função da perda da qualidade e segurança do produto associada à marca em questão (Cleide, 2005).

Por outro lado, grandes redes têm se preocupado com a manutenção da qualidade e segurança de seus produtos reembalados. É sabido, de acordo com promotores de vendas de supermercados que, na maioria das vezes, o produto cárneo fresco chega ainda congelado aos pontos de venda depois de transportados em caminhões com sistema de refrigeração. O aumento da preocupação quanto ao controle de qualidade tem estimulado o monitoramento desses produtos no momento da recepção, principalmente no que tange às condições de temperatura, integridade da embalagem e aspectos sensoriais. No caso da linguiça frescal, quase sempre embalada a vácuo, em quantidade ao redor de 5kg, o produto geralmente é vendido no varejo de duas formas: a granel, pesado diante do consumidor ou reembalado em porções de aproximadamente 500g. Para as duas formas, a linguiça ainda congelada é levada da câmara para uma sala refrigerada em temperatura em torno de 20°C e, muitas vezes, mergulhadas em cubas de aço inoxidável com água, prática não recomendada, porém rotina em muitos pontos de venda (Cleide, 2005).

Após o descongelamento, a linguiça é lavada para a retirada do exsudado formado, acondicionada em recipiente de aço inoxidável ou de polietileno e encaminhada ao balcão refrigerado para venda a granel ou fracionada em bandejas de isopor submetidas a um equipamento que acondiciona o produto em filme de alta permeabilidade ao oxigênio

(geralmente é utilizado o filme de cloreto de polivinila - PVC). Em seguida, o produto é encaminhado às gôndolas para venda. Ocorre com frequência que, pela falta de manipuladores devidamente treinados e cadeia do frio ineficiente, tais produtos porcionados rapidamente deterioram-se antes do prazo de validade estabelecido aleatoriamente pelo próprio ponto de venda. Um risco, em tais condições, é de que o produto alcance o consumidor pouco sensível a essas alterações de qualidade, podendo, inclusive ter sua segurança de consumo comprometida (Cleide, 2005).

Como o processo de porcionamento e reembalagem da linguiça frescal mostra-se uma realidade nos pontos de venda, com forte tendência de ampliação, um ponto a ser considerado é o investimento na implantação efetiva de sistemas que visam a segurança alimentar como é o caso das Boas Práticas de Fabricação as quais se constituem em um poderoso mecanismo de controle e prevenção de contaminações e falhas de processamento (Canto, 1998). Deve ser utilizada, assim, de forma clara e transparente no processo de fabricação desses produtos, através de seus componentes fundamentais e princípios mínimos básicos, para a obtenção da qualidade assegurada.

2.5 – 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 à 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 serem controladas, principalmente devido a sua complexidade e variabilidade. São reações de ordem físico-química, podendo ser potencializadas por ação microbiológica (Olivo et al., 2006).

A oxidação lipídica está na origem do desenvolvimento do ranço, da produção de compostos responsáveis por *off flavors* e *off odors*, da reversão e da ocorrência de um elevado número de reações de polimerização e de cisão. Este tipo de reações não só diminui o tempo

de vida e o valor nutritivo dos produtos alimentares, como podem gerar compostos nocivos (Figura 2.2) (Frankel, 1993; Jadhav et al., 1996; Sherwin, 1978).

Os fenômenos de oxidação dos lipídios dependem de mecanismos reacionais diversos e extremamente complexos, os quais estão relacionados com o tipo de estrutura lipídica e o meio onde esta se encontra. O número e a natureza das insaturações presentes, o tipo de interface entre os lipídios e o oxigênio (fase lipídica contínua, dispersa ou em emulsão), a exposição à luz e ao calor, a presença de pró-oxidantes (por exemplo íons metálicos de transição) ou de antioxidantes, são fatores determinantes para a estabilidade oxidativa dos lipídios (Berset et al., 1996; Coupland et al., 1996; Frankel et al., 1994).

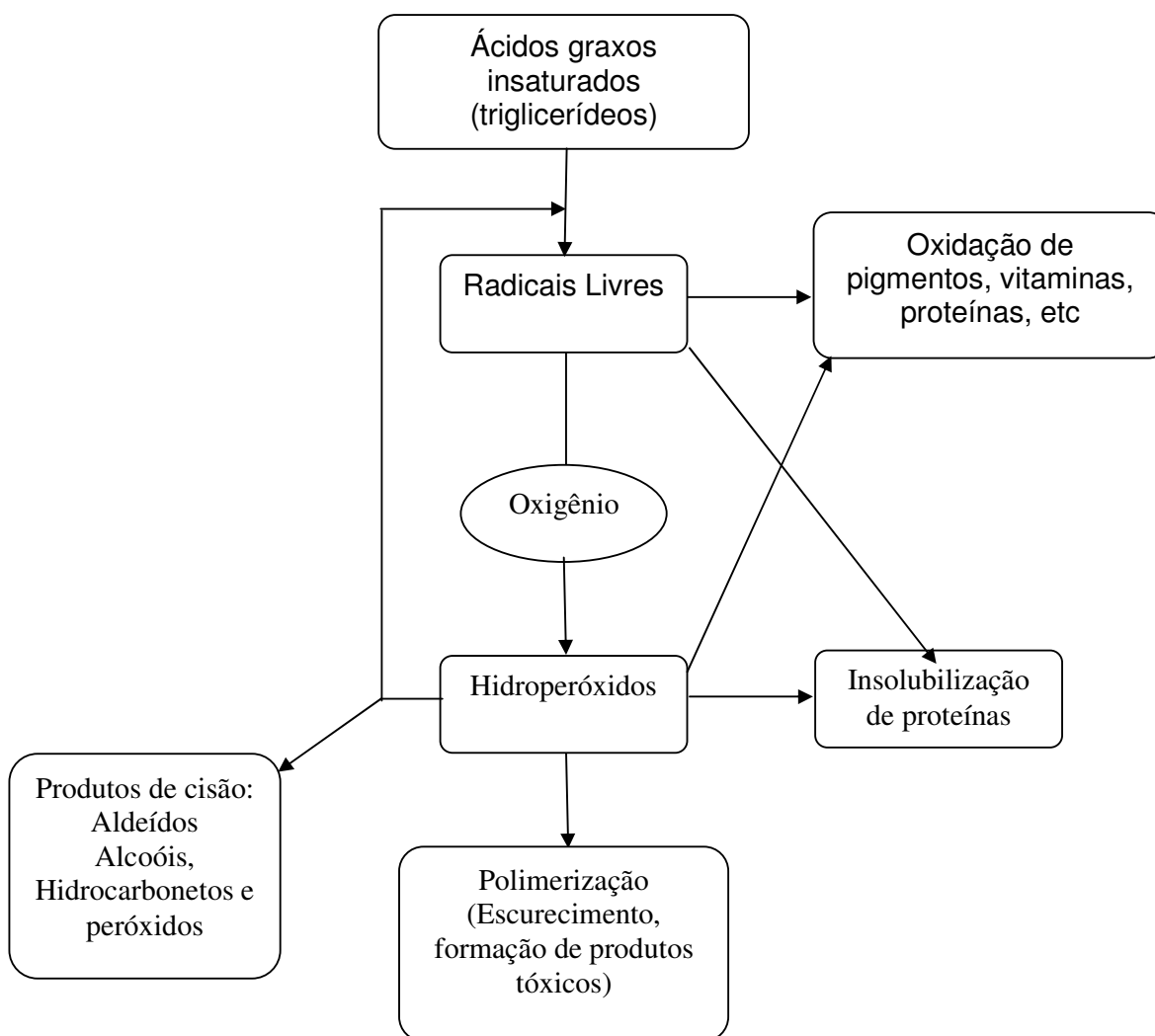


Figura 2.2. Esquema geral da oxidação lipídica (Jadhav et al., 1996)

2.5.1 Mecanismos 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 autooxidação.

2.5.1.1 Oxidação Enzimática

A oxidação lipídica pode ocorrer por catálise enzimática, nomeadamente por ação da lipoxigenase. Esta enzima atua sobre os ácidos graxos poli-insaturados (por exemplo: ácidos linoléico e linolênico, e seus ésteres), catalisando a adição de oxigênio à cadeia hidrocarbonada poli-insaturada. O resultado é a formação de peróxidos e hidroperóxidos com duplas ligações conjugadas, os quais podem se envolver em diferentes reações degradativas, semelhantes às observadas para os processos de autooxidação, originando diversos produtos (Halliwell et al., 1995). O processo de catálise enzimática decorre com maior especificidade, em termos de substrato e de produtos finais, de que o processo de autooxidação.

Um aspecto importante da atuação da lipoxigenase é o que se relaciona com a sua capacidade para co-oxidar substratos (carotenoides, tocoferóis, clorofila, proteínas, etc.), sendo responsável pela iniciação de novos processos oxidativos (Hamilton et al., 1983).

2.5.1.2 Fotoxidação

O mecanismo de fotoxidação de gorduras insaturadas é promovido essencialmente pela radiação UV em presença de sensibilizadores (por exemplo: clorofila, mioglobina), e envolve a participação de oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) como intermediário reativo.

O processo envolve reações via radicais livres, cujo resultado é a formação de hidroperóxidos diferentes dos que se observam na ausência da luz e de sensibilizadores, e que por degradação posterior originam aldeídos, alcoóis e hidrocarbonetos (Jadhav et al., 1996; Hamilton et al., 1983).

A velocidade da reação não é afetada por sequestrantes de radicais peroxila (*scavengers*) e é inibida pelos carotenos (Berset et al., 1996); Sims et al., 1980).

2.5.1.3 Autooxidação

A autooxidação é o principal mecanismo de oxidação de alimentos, está associada à reação do oxigênio com ácidos graxos insaturados e ocorre em três etapas distintas: iniciação, propagação e terminação (Cosgrove et al., 1987, Porter et al., 1995).

Na etapa de iniciação há a formação dos radicais livres do ácido graxo, devido à remoção de um átomo de hidrogênio de um grupamento metil, adjacente à dupla ligação do ácido graxo insaturado, deixando um elétron desemparelhado no carbono (Kahl; Hildebrandt, 1986).

Radical livre é qualquer espécie química capaz de existir independentemente, que contém um ou mais elétrons não pareados ocupando orbitais atômicos ou moleculares. Em geral, são instáveis e reagem com diversos compostos e estruturas celulares (Halliwell; Gutteridge, 2000).

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).

Na 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 se liguem entre si formando compostos estáveis (Nicki et al., 2005). Formam-se os produtos secundários de oxidação, obtidos por cisão e rearranjo dos peróxidos (epóxidos, compostos

voláteis e não voláteis) (Silva et al., 1999). Um diagrama esquemático do mecanismo da autooxidação lipídica é apresentado na Figura 2.3.

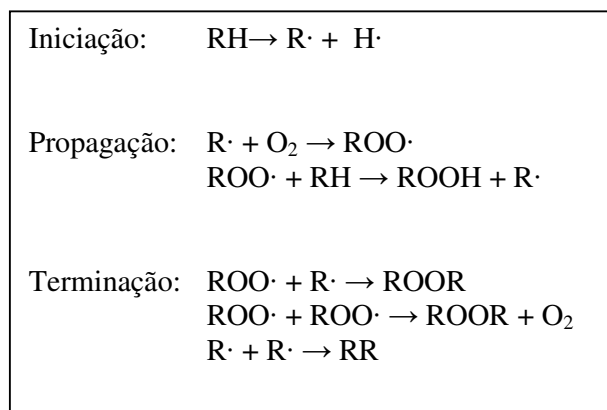


Figura 2.3 – Mecanismo geral da autooxidação lipídica

Onde:

RH = ácido graxo insaturado; $R\cdot$ = radical livre;

$ROO\cdot$ = radical peróxido e

$ROOH$ = hidroperóxido

A oxidação lipídica é considerada importante causa de deterioração das carnes e derivados. Os fenômenos envolvidos nestas alterações são diversos e complexos e, por esta razão, de difícil controle. Assim, a utilização de antioxidantes e cuidados dispensados nas diversas fases da cadeia do produto, inclusive “*in vivo*”, são importantes para amenizar os efeitos oxidativos indesejáveis. Estes procedimentos poderão amenizar as oxidações e, desta forma, auxiliar na garantia da qualidade e na segurança alimentar, durante a vida útil dos produtos (Shimokomaki et al., 2006).

2.6 – Aplicação tecnológica de antioxidantes em produtos alimentícios

2.6.1 – Carnes e derivados

O uso de condimentos como antioxidantes naturais em produtos cárneos tem sido objeto de estudo em diversas matrizes como sistemas modelo, hambúrgueres, almôndegas, embutidos e cortes marinados.

2.6.1.1 – Carnes de Frango

Alguns estudos sobre a aplicação de extratos vegetais em produtos cárneos podem ser encontrados na literatura. Nissen et al. (2000) estudaram a aplicação de extrato de alecrim (1000 ppm) em carne de pescoço de frango mecanicamente separada, mostrando que o produto resultante apresentou boa estabilidade em relação à oxidação lipídica durante o armazenamento.

Bragagnolo et al. (2005, 2007) verificaram, através da formação de radicais livres detectados por espectroscopia de ressonância paramagnética (EPR) e de produtos secundários da oxidação lipídica, que 0,1% de folhas moídas de alecrim foram um excelente antioxidante quando adicionado em peito de frango submetido à alta pressão. Beltran et al. (2004) obtiveram resultados semelhantes em frango moído, com adição de sal e de extrato de alecrim, e processado sob alta pressão, porém o alecrim apresentou pouco efeito antioxidante nas amostras cozidas.

Estudos dos efeitos antioxidantes e antimicrobianos dos extratos etanólicos e metanólicos de chá verde, chá preto e erva mate na CMS (carne mecanicamente separada) de frango, não apresentaram proteção antimicrobiana, no entanto todos demonstraram ação antioxidante quando comparados com as amostras sem tratamento (Milani et al., 2001). Foi demonstrado em estudo comparativo que o efeito antioxidante de extratos hidroetanólico e metílico de casca de maçã, folhas de alcachofra e erva mate em CMS de frango, mantidas sob refrigeração a 5°C por 9 dias e congelamento a -18°C por 4 meses. Constatou-se através do

índice de TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) que o extrato metílico de erva mate apresentou maior poder antioxidante com determinação de 1,68mg de malonaldeído/kg amostra, e os demais extratos testados com 7,95mg de malonaldeído/kg de amostra, (Milani et al., 2001).

Hoffmann (2003) avaliou a aplicação de antioxidante natural proveniente de extrato bruto de caqui e de extrato de alecrim em diferentes concentrações aplicadas em CMS de frango. O extrato bruto de caqui apresentou efeito antioxidante, sem diferença em relação ao extrato de alecrim.

Furtado et al. (2004a), aplicaram os extratos hidroetanólicos de marcela (*Achyrocline satureioides*) e de erva mate (*Ilex paraguariensis*) em linguiça, mantida a 5°C por 35 dias. Os extratos apresentaram ação protetora contra a rancificação da linguiça, sendo que o extrato hidroetanólico de marcela apresentou ação superior ao extrato etanólico de erva mate.

Souza (2006) verificou a ação antioxidante dos extratos aquoso obtidos da casca de batata inglesa em cortes de frango. O extrato foi obtido através de uma separação sequencial, utilizando-se solventes de polaridade crescente, segundo Simões et al (1999). Durante 8 meses sob temperatura de congelamento os extratos demonstraram ser efetivos no controle da oxidação lipídica. A qualidade sensorial do produto não foi afetada pela incorporação do extrato purificado, mas houve redução nos valores dos atributos sensoriais (sabor da carne) quando do uso do extrato aquoso.

2.7 – Avaliação da oxidação lipídica pelo teste do ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) e malonaldeído

Existem vários métodos utilizados no controle de qualidade de alimentos que contém gordura, caso dos produtos cárneos. Testes como índice de peróxido e TBA (ácido 2-tiobarbitúrico) geram informações importantes em relação ao estado oxidativo e consequente tendência a rancidez do alimento analisado.

A fração fosfolipídica da carne mecanicamente separada (CMS) de ave, por exemplo, é altamente insaturada e, portanto, muito susceptível a oxidação, mostrando um grande potencial para produzir substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) (Dawson; Gartner, 1983).

O teste de TBA quantifica o malonaldeído, um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados, formado durante o processo oxidativo (Osawa et al., 2005). O malonaldeído é um aldeído de cadeia curta, cuja concentração tem sido utilizada para estimar a intensidade da peroxidação lipídica em sistemas biológicos, em células e tecidos.

A reação envolve o ácido 2-tiobarbitúrico com o malonaldeído (figura 2.4), produzindo um composto de cor vermelha, medido espectrofotometricamente a 532 nm (de acordo com a metodologia, esse comprimento de onda pode variar, situando-se ao redor de 500 a 550 nm) (Osawa et al., 2005).

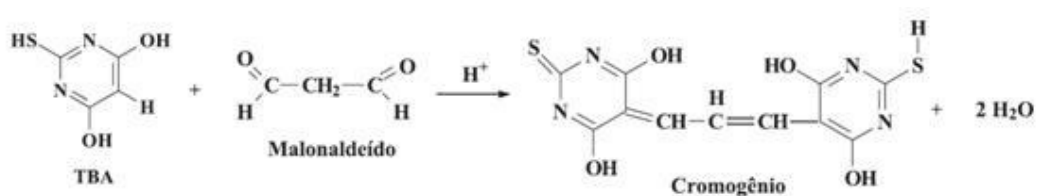


Figura 2.4 - Reação do teste de TBA entre o ácido 2-tiobarbitúrico e o malonaldeído, formando o composto colorido, medido espectrofotometricamente (OSAWA et al., 2005).

Diversos autores sugerem metodologias diferenciadas para a análise de TBA. Para Fernández et al. (1997) por exemplo, o teste de TBA quando realizado com o procedimento de destilação, é considerado ser mais sensível e também mais adequado para amostras com alto teor de gordura (> 10%), onde a turbidez pode ocorrer nas amostras extraídas.

O presente trabalho foi realizado com a finalidade de verificar a ação antioxidante do extrato de manjerona sobre lingüiça frescal, porém, ainda não foram encontrados outros trabalhos que avaliam a atividade do extrato de manjerona nesse produto.

Os estudos dos antioxidantes naturais são de extrema importância para obtenção de produtos com vida de prateleira segura e com qualidades sensoriais adequadas.

3 – MATERIAL E MÉTODOS

3.1 – Materiais

3.1.1 – Matéria prima

As amostras de manjerona (*Origanum majorana L.*) utilizadas neste estudo foram adquiridas de uma empresa de fracionamento de ervas e temperos, localizada na cidade de Palhoça - SC, importadas por Cotia Vitória Serviços e Comércio S/A e distribuídas por JTC Distribuidora Ltda. Estas amostras são originárias do Egito, com data de fabricação em 06/2008, validade em 06/2010 e lote 3833/B.

Para o preparo das linguiças frescas de frango foram utilizados cortes resfriados de frango, filé de coxas e sobrecoxas do mesmo lote, marca Nobre.

Os ingredientes e envoltórios foram adquiridos na empresa Tripoeste Ltda, localizada na cidade de Chapecó-SC.

3.1.2 – Embalagens

As embalagens utilizadas foram bandejas de isopor e filme PVC adquiridas no comércio local.

3.1.3 – Equipamentos

Para a análise de DPPH foi utilizado o espectrofotômetro UV-Visível marca Agilent Technologies, modelo 8453E.

Para a concentração do extrato de manjerona foi utilizado o equipamento Rotavapor® MARCONI, modelo MA 120 (Figura 3.1).

A desidratação do concentrado foi realizada com o equipamento Liofilizador® EDWARDS (Figura 3.2).

Na análise do teor de fenólicos totais do extrato de manjerona e para as leituras de TBA na linguiça frescal de frango foi utilizado o espectrofotômetro UV-Visível PerkinElmer (Lambda Z 150).



Figura 3.1 – Evaporador Rotativo



Figura 3.2 – Liofilizador

3.2 – Métodos

3.2.1 - Obtenção do extrato seco de manjerona

Ao produto vegetal seco (manjerona) foi adicionada água destilada (14,5 gramas em 100 ml, respectivamente) em erlenmeyers protegidos por papel alumínio.

As amostras ficaram em estufa a 27°C por 24 horas, sendo que nas seis primeiras horas eram submetidas à agitação manual a cada meia hora.

Posteriormente, estas amostras foram filtradas e adicionou-se novamente água destilada ao sólido, mantendo-se em estufa por mais 24 horas, como descrito anteriormente.

Transcorrido este período, os dois filtrados foram reunidos e concentrados em evaporador rotativo a 60°C. No final obteve-se um produto semelhante a um xarope, como mostra a Figura 3.3.

Esse produto foi distribuído em várias placas de Petri e posteriormente congelado em freezer a -80°C. Para a obtenção do extrato seco de manjerona, essas placas de Petri foram levadas ao liofilizador, onde foram desidratadas até a obtenção do pó (Figura 3.4).

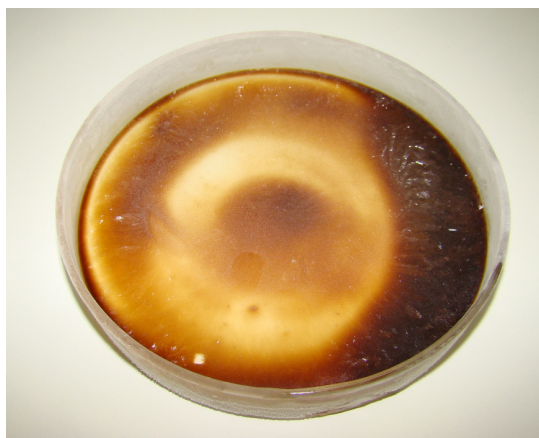


Figura 3.3 – Extrato aquoso de manjerona antes da desidratação.



Figura 3.4 – Extrato aquoso de manjerona

3.2.2 –Atividade antioxidante *in vitro* pela captura de radicais livres com o teste do DPPH

A metodologia foi fundamentada na medida da extinção da absorção do radical difenilpicrilhidrazil (DPPH) em 515 nm (Miranda e Fraga, 2006). A determinação da atividade antioxidante foi realizada em triplicata, por método espectrofotométrico. A técnica consistiu na incubação por 10 minutos, de 500 µL de uma solução etanólica de DPPH 0,1 mM com 500 µL de soluções contendo concentrações crescentes de extrato de manjerona em etanol. Procedeu-se da mesma forma para a preparação da solução denominada “controle”, porém substituindo 500 µL da amostra por 500 µL de solvente etanol. Para a solução denominada “branco” foi utilizado solvente etanol. O percentual de captação do radical DPPH foi calculado em termos da porcentagem de atividade antioxidante (AA%), conforme a seguinte expressão:

$$AA\% = 100 - \{[(\text{Abs. amostra} - \text{Abs. branco}) \times 100] \div \text{Abs. controle}\}.$$

A determinação foi feita em espectrofotômetro UV-Visível marca Agilent Technologies, modelo 8453E. Para verificação de interferentes da metodologia empregada,

diluiu-se o extrato de manjerona em etanol, na mesma faixa de concentração em estudo. Analisaram-se as amostras em espectrofotômetro em comprimento de onda de 515 nm, com o objetivo de avaliar a absorbância das diferentes concentrações das amostras. Após, determinou-se a faixa de concentração na qual não ocorreria inferência da coloração do extrato. Após a avaliação da faixa de concentração ideal, calculou-se a concentração de extrato necessária para capturar 50% do radical livre DPPH (IC₅₀) por análise de regressão (Carbonari, 2005).

3.2.3 – Avaliação do teor de compostos fenólicos totais

A análise do teor de fenólicos totais do extrato de manjerona foi efetuada de acordo com Molin (2009) com adaptações. Em tubos de ensaio, foram adicionados 0,04 g do extrato diluído na solução aquosa de acetona 50% na proporção de 1:25, 2 mL de água destilada e 0,25 mL de reagente de Folin-Ciocalteu. Após 3 minutos a temperatura ambiente (25°C) adicionou-se 0,25 mL de uma solução saturada de carbonato de sódio (75 g/L). Os tubos foram colocados em banho-maria a 37°C durante 30 min para o desenvolvimento da cor. A leitura da absorbância no comprimento de onda de 765 nm foi realizada em espectrofotômetro UV-visível, (Lambda Z 150). Foi efetuada a diluição de 9,5 mL de acetona 50% e água destilada 50% e 0,5 mL da amostra, pela alta concentração observada. O aparelho foi zerado com a solução aquosa de acetona 50%. O ácido pirocatecol foi utilizado como padrão. Para o preparo da curva de calibração foram utilizados alíquotas (0,25 mL) de uma solução de acetona e ácido pirocatecol nas seguintes concentrações: 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05 mg/mL. Para a leitura em espectrofotômetro UV-visível foi realizada a diluição de 9,5 mL de acetona 50% e água destilada 50% e 0,5 mL de amostra. O método para a obtenção do branco foi o mesmo realizado para os extratos descritos acima, incluindo a solução de pirocatecol. O conteúdo total de fenólicos nos extratos foi calculado a partir da curva padrão.

Os resultados foram expressos em mg/g (de resíduo seco) em equivalente de ácido pirocatecol (mg/g/EAP).

3.2.4 – Aplicação do extrato de manjerona na linguiça frescal de frango

3.2.4.1 – Elaboração das linguiças frescas de frango

Para avaliação da atividade antioxidante do extrato de manjerona em linguiça frescal de frango, foram produzidos quatro lotes com diferentes concentrações de extrato contendo: linguiça sem adição de antioxidante, linguiça com adição de eritorbato, linguiça contendo concentrações de 0,125% e 0,250% de extrato aquoso de manjerona, respectivamente (Tabela 3.1).

Os lotes de linguiça frescal de frango foram produzidos de acordo com a legislação vigente (MAPA, 2003). A matéria prima foi moída em disco de 10 mm e homogeneizada com os demais ingredientes. A formulação utilizada neste trabalho é comumente utilizada em pequenas e médias indústrias do setor cárneo. Sendo o extrato de manjerona um produto hidrófilo, o veículo utilizado para inserir o extrato na formulação da linguiça, foi o amido de milho.

Para todos os lotes, foram adicionados na formulação 3% de água gelada.

Tabela 3.1 – Formulação dos diferentes lotes da linguiça frescal de frango/kg massa.

Lotes	Sal (g)	Eritorbato (g)	Água (ml)	Extrato (g)
1	10	-	100	-
2	10	1	100	-
3	10	-	100	1,25
4	10	-	100	2,5

3.2.4.2 – Plano de Amostragem

As linguças frescas controle e as adicionadas com o extrato aquoso de manjerona foram armazenadas durante 21 dias a 5°C ($\pm 1^\circ\text{C}$), submetidas à iluminação artificial por 12 horas/dia para simular uma gôndola de supermercado. As amostras para análise foram coletadas nos 1º, 6º, 10º, 12º, 14º e 21º dias e avaliadas em relação ao pH e TBARS.

Para cada dia de análise utilizou-se uma bandeja com aproximadamente 100g amostra de linguça frescal de frango, sendo que para cada uma foram realizadas análises em triplicata.

Foram realizadas análises de pH e TBARS para a matéria prima in natura no 1º dia.

3.2.5 - Índice de TBARS - Oxidação dos lipídeos

O nível de oxidação dos lipídios foi medido através do teste com o ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) de acordo com Raharjo et al. (1992), onde o malonaldeído foi obtido da amostra pelo processo de extração, seguindo as recomendações de Shaidi et al. (1985), no que se refere à adição de sulfanilamida para as amostras que contém nitrito.

Em béquer de 50 mL foi adicionado 5g de amostra, posteriormente 0,5mL de butil-hidroxitolueno (BHT) 0,15%, 2mL de sulfanilamida 1,5% e 18mL de ácido tricloroacético (TCA) 5%, homogeneizado e deixado reagir por 10 minutos. O conteúdo do béquer foi filtrado em papel filtro, completando o balão com solução de TCA 5%. Após, foram retirados 2mL do conteúdo do balão e colocados em tubo de ensaio com tampa juntamente com 2mL de TBA. Os tubos foram colocados em banho-maria a 40 °C por 80 minutos, resfriamento até temperatura ambiente e leitura em espectrofotômetro em comprimento de onda de 531nm. Os valores de TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) são expressos em mg de malonaldeído/Kg de amostra, calculados a partir da curva padrão.

3.2.6 – Determinação de pH

Para determinar o pH foi utilizado 10g de cada amostra, homogeneizadas em 100 ml de água destilada por 5 minutos e, a seguir foi procedida a leitura do pH (Terra e Brum, 1988).

4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 – Fenólicos

A análise de compostos fenólicos totais do extrato liofilizado de *O. majorana* apresentou um teor de 7,0 mg.g⁻¹.

De acordo com Shahidi et al. (1992), antioxidantes fenólicos funcionam como sequestradores de radicais livres e como quelantes de metais, apresentando ação tanto na etapa de iniciação quanto na etapa de propagação durante o processo oxidativo. Então, compostos fenólicos podem prevenir a oxidação lipídica.

Segundo Jolivet et al., 1971 e Baser et al., 1993 a manjerona é rica em componentes fenólicos principalmente em timol e carvacrol. Em extratos de manjerona foram observados os compostos fenólicos ácido rosmarínico, ácido fenilpropiónico, 4-(3,4-dihidroxibenzoil-oximetil) e fenil-B-D-glucopiranosideo, com alta atividade antioxidante (Nakatani, 1997).

Os produtos intermediários formados pela ação destes antioxidantes são relativamente estáveis devido à ressonância do anel aromático apresentada por estas substâncias (Nawar et al., 1985). Diversos autores realizaram estudos visando verificar o potencial antioxidante dos ácidos fenólicos, com o objetivo de substituir os antioxidantes sintéticos, largamente utilizados na conservação de alimentos lipídicos por aumentarem a vida útil de muitos produtos (Duran et al., 1993).

A extração pode ser um fator que influenciará no resultado de compostos fenólicos. A água extrai com eficiência os compostos fenólicos com atividade antioxidante devido à sua polaridade. Em estudo realizado com cogumelos “ling Chih”(*Ganoderma tsugae*), o extrato metanólico apresentou maior atividade antioxidante, porém baixa concentração de compostos fenólicos (24,0 a 35,5 mg/g) (Mau et al., 2005a). Já no extrato aquoso, a concentração de fenólicos obtida foi de 40,86 a 42,34 mg/g (Mau et al., 2005b). Este resultado pode ter ocorrido devido a alterações químicas durante a extração, que reduziram a capacidade antioxidante destes compostos.

4.2 – Atividade Antioxidante do Extrato de Manjerona *in vitro*

Na determinação do IC_{50} foi elaborada a curva de calibração com diferentes concentrações do extrato, pois o IC_{50} deve ser calculado em intervalo de linearidade do índice DPPH. Os resultados demonstram que o percentual antioxidante aumenta proporcionalmente com a concentração de extrato adicionado atingindo o valor máximo de 93,22% de atividade antioxidante para a concentração de $0,25 \text{ mg mL}^{-1}$ (Tabela 4.1).

Tabela 4.1 – Porcentagem da neutralização do DPPH do extrato aquoso de *Origanum majorana* em diferentes concentrações.

Concentração (mg mL^{-1})	A.A. (%)
0,25	93,22
0,175	84,07
0,1	70,48
0,075	63,19
0,05	61,23
0,025	53,68
0,01	52,98
0,0075	38,88
0,005	33,24
0,0025	21,28

A correlação entre a atividade antioxidante (%) e a concentração de extrato utilizado (Figura 4.1) forneceu um IC_{50} de $0,04 \text{ mg mL}^{-1}$, que é a concentração de extrato necessária para causar 50 % de atividade antioxidante. De acordo com a definição de Sousa et al. (2007), quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será seu IC_{50} e consequentemente maior a sua atividade antioxidante. Esta concentração é alta, se comparada com antioxidantes por excelência como o ácido ascórbico ($IC_{50} = 0,002 \text{ mg mL}^{-1}$) e o BHT ($IC_{50} = 0,005 \text{ mg mL}^{-1}$).

Entretanto, considerando-se antioxidantes naturais, o extrato vegetal de *Ginkgo biloba* é considerado com alta atividade antioxidante, pois possui um IC_{50} de $0,039 \text{ mg mL}^{-1}$ (Mensor et al., 2001), sendo que diversas plantas reconhecidamente antioxidantes como a erva-mate (*Ilex paraguariensis*) tem IC_{50} com esta magnitude (Rivelli, et al., 2007; Cansian et al.,

2008). Portanto, os resultados obtidos para a atividade antioxidante, utilizando o método do DPPH, mostram que o extrato avaliado apresentou atividade antioxidante satisfatória.

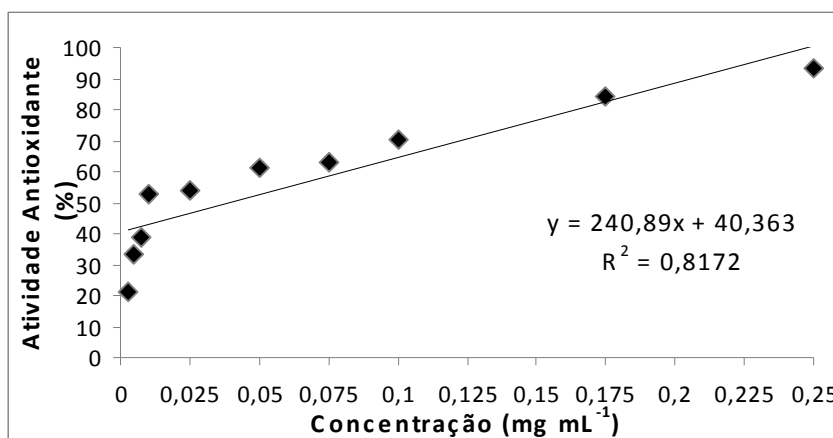


Figura 4.1 – Curva de calibração da atividade antioxidante do extrato de manjerona (*O. majorana*).

Cabe salientar que diferentes autores tem apresentado valores de IC₅₀ de antioxidantes naturais com grandes diferenças, dificultando a comparação dos resultados. Em estudo realizado por Jun et al., (2001) a concentração inibitória de um componente isolado da manjerona foi de 0,0014 mg mL⁻¹. Jesus (2007) relata em estudos realizados com óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) que o mesmo apresentou um IC₅₀ 0,0004 mg mL⁻¹. Diversos autores avaliaram a atividade antioxidante de óleos essenciais de algumas plantas e encontraram os seguintes resultados: *Hippomarathrum microcarpum* com IC₅₀ de 10,7 mg mL⁻¹, *Chaerophyllum libanoticum* com IC₅₀ superior a 30,0 mg mL⁻¹, *Rosmarinus officinalis* com IC₅₀ de 20,0 mg mL⁻¹, *Artemisia fragrans* com IC₅₀ de 7,8 mg mL⁻¹, *Cinnamomum camphora* com IC₅₀ de 12,9 mg mL⁻¹, *Artemisia austriaca* com IC₅₀ de 8,0 mg mL⁻¹ e *Petroselinum crispum* L. com IC₅₀ de 80,2 mg mL⁻¹ (Özer et al., 2007; Demirci et al., 2007; Wang et al. 2007; Delazar et al., 2007; Cansian et al., 2009; Zhang et al., 2006).

A validação de métodos analíticos para a determinação da atividade antioxidante de extratos, juntamente com o desenvolvimento de procedimentos de extração eficientes, são importantes ferramentas para o ótimo uso de antioxidantes provenientes de fontes naturais em

diferentes tipos de alimentos. A análise da atividade antioxidante é importante, pois auxilia na seleção dos extratos antioxidantes que podem ser usados em alimentos por serem efetivos (Schwarz et al., 2001).

Através dos resultados da concentração inibitória ($IC_{50} = 0,04 \text{ mg mL}^{-1}$) obtida para o extrato aquoso de manjerona, foi determinada a concentração deste extrato para aplicação como antioxidante no produto linguiça de frango (Tabela 4.1 e Figura 4.1).

4.3 – Avaliação do pH das diferentes formulações

Os resultados obtidos para o pH estão apresentados na Tabela 4.2 e na Figura 4.2. O pH da linguiça frescal de frango é uma variável que depende de vários fatores, dentre os quais o estado de conservação da linguiça bem como de suas condições microbiológicas.

Os valores médios de pH obtidos ficaram entre 5,90 e 6,30 nos diferentes lotes analisados, comportamento similar ao trabalho de Malavota *et al.*, (2006) que estudou a análise micológica de linguiça de frango embalada em atmosfera modificada.

Segundo a literatura os valores normais para coxa de frango são de pH entre 6,4 e 6,7 e também para carne de peito e coxa de frangos valores de 5,94 e 6,10, respectivamente (Olivo, 2006). Enquanto que para carne de sobrecoxa desossada manualmente, um pH de aproximadamente 5,8 e 6,2 (Beraquet, 2001). Portanto, os resultados de pH para a carne *in natura* mantiveram-se em média dentro dos valores normais recomendados pela literatura.

Tabela 4.2 – Valores de pH da linguiça das diferentes formulações de linguiça de frango durante o tempo de estocagem.

Lotes	Dias analisados					
	1º	6º	10º	12º	14º	21º
Lote 1 (sem antioxidante)	6,25	6,15	6,02	6,02	6,09	5,98
Lote 2 (Eritorbato)	7,13	5,98	6,06	5,92	6,21	6,02
Lote 3 (0,125% extrato)	6,29	5,90	5,96	5,92	6,18	6,03
Lote 4 (0,25% extrato)	6,30	6,10	5,98	6,04	6,15	6,12

Na Tabela 4.2 observa-se que os valores médios de pH encontrados em todos os lotes foram numericamente muito próximos e não apresentaram grandes variações ao longo dos 21 dias de estocagem. Estes valores são considerados satisfatórios para este tipo de produto já que não existe nenhum parâmetro para esta variável na legislação vigente.

A adição do extrato aquoso de manjerona não afetou o pH inicial das linguiças frescas de frango formuladas com diferentes concentrações do extrato em questão, onde a concentração de 0,125% apresentou o menor valor (5,90) no 21º dia, não havendo aumento ou diminuição expressiva comparado aos outros lotes no 1º dia. Todos os tratamentos adquiriram aproximadamente o mesmo valor de pH (~6,12). A amostra *in natura* e moída apresentou um pH de 6,48.

Brum (2009) descreve em seu trabalho a ação antioxidante natural de marcela (*Achyrocline satureioides*) e de erva mate (*Ilex paraguariensis*) na elaboração de linguiça toscana, e mostra que os valores de pH não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) entre todos os tratamentos realizados.

Sallam et al. (2004) em seus resultados avaliou a atividade antioxidante do alho em linguiça de frango e mostra que o pH variou de 6,65, na amostra controle, para 6,78 na amostra formulada. Após 21 dias de armazenamento, não houve diferença significativa entre o pH da linguiça formulada com alho das outras formulações de linguiça de frango, que ficaram entre 6,85-6,90.

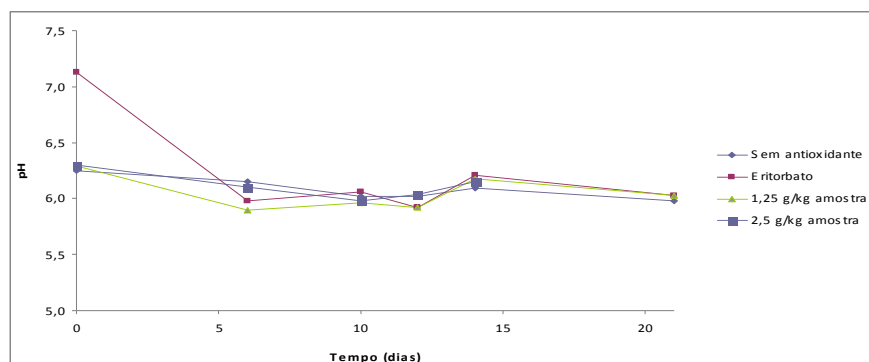


Figura 4.2 – Evolução do pH ao longo do tempo de estocagem

4.4 – Avaliação do índice de TBARS das diferentes formulações

Os resultados obtidos para TBARS estão apresentados na Figura 4.4. O teste de TBARS quantifica malonaldeído, um dos principais produtos da decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos polinsaturados, formado durante o processo oxidativo.

Em relação aos valores médios de TBARS, observa-se que a aplicação do extrato de manjerona proporcionou melhores resultados em relação à estabilidade oxidativa das amostras quando comparada ao controle negativo (sem adição de antioxidante), apresentando diferença em relação a esse último.

O lote 3, com 0,125% de extrato, obteve diferença entre os valores de TBARS, indicando estabilidade oxidativa até o 12º dia de armazenamento, após este período o valor de TBARS foi maior que 0,5 mg malonaldeído/kg de amostra. Portanto, esta concentração de extrato não deve ser considerada eficiente para o produto analisado.

A amostra com extrato a 0,25% foi a que apresentou melhor desempenho, pois não apresentou diferença ($p>0,05$) em relação à amostra com Eritorbato de Sódio (controle positivo).

Uma vez que os valores das substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) representam o conteúdo dos produtos secundários (principalmente aldeídos) formados durante a oxidação lipídica e contribuem para a perda de odores em alimentos (Wanasundara; Shahidi, 1998), pode-se dizer que o extrato natural de manjerona teve um efeito significativo na redução dos compostos formados pela oxidação lipídica. Seu efeito foi comparado de forma positiva em relação ao antioxidante Eritorbato de Sódio. Segundo esses mesmos autores, antioxidantes naturais podem ser mais eficientes do que antioxidantes sintéticos.

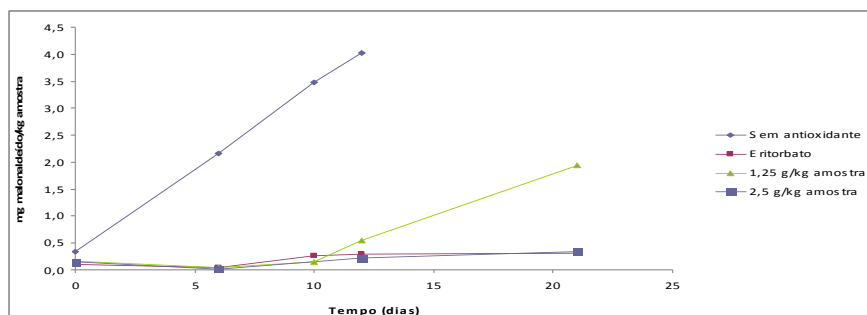


Figura 4.3 – Resultados do índice de TBARS

Nota-se que no 6º dia do monitoramento houve uma redução no valor de TBARS encontrado para o lote com adição de eritorbato, lote com 0,125% e lote com 0,25% de extrato aquoso de manjerona. Alguns estudos têm demonstrado um aumento nos valores de TBARS até certo ponto durante o período de estocagem, seguido então pela redução desses valores (Babji et al., 1998). Igene e Pearson (1979) estabeleceram que, durante a avaliação da oxidação lipídica em alimentos estocados, os decréscimos dos valores de TBARS ocorrem provavelmente devido a interações entre o malonaldeído e as proteínas.

Os antioxidantes sintéticos e/ou naturais são amplamente utilizados e eficazes na proteção da oxidação nos lipídios insaturados, entretanto, a utilização de antioxidantes sintéticos causa alguns problemas como a instabilidade em altas temperaturas e as limitações da legislação, direcionando o consumidor e consequentemente o fabricante, a dar preferência a fontes de agentes antioxidantes naturais (Dapkevicius *et al.*, 1998).

Encontrar um antioxidante natural equivalente a um antioxidante sintético é importante para a saúde humana, pois alguns antioxidantes sintéticos têm atividade carcinogênica e seu uso na indústria de alimentos é maior ou mesmo predominante em relação ao uso do antioxidante natural (Bozkurt, 2006).

Dentre do exposto, verifica-se que as pesquisas envolvendo agentes antioxidantes em espécies vegetais devem continuar, pois as mesmas se mostram de suma importância para a indústria alimentícia. Neste ramo as pesquisas de agentes antioxidantes se mostram importantes no sentido de obter aditivos alimentícios com menos efeitos colaterais possíveis, características indesejáveis estas que são observadas nos atuais antioxidantes empregados em produtos alimentícios.

5 – CONCLUSÕES

Os resultados obtidos comprovam que a atividade antioxidante do extrato aquoso de manjerona foi satisfatória na redução da oxidação lipídica da lingüiça frescal de frango.

As amostras com 0,25% do extrato exibiram a menor atividade antioxidante durante todo o período de armazenamento, demonstrando que o extrato aquoso de manjerona tem um efeito significativo na redução da oxidação do produto analisado.

Considerando a preocupação com os efeitos adversos que os antioxidantes sintéticos podem causar ao organismo, observa-se que os extratos de plantas podem apresentar-se como uma alternativa para a substituição dos antioxidantes sintéticos.

Mais estudos são fundamentais para melhor entendimento dos mecanismos de ação do extrato de manjerona sobre a oxidação lipídica em produtos cárneos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIA. **Compêndio de normas e padrões para alimentos**. Resoluções da ex-Comissão Nacional de Normas e Padrões de Alimentos (CNNPA), do Ministério da Saúde. 1978-1987.
- ADDIS, P. B.; CSALLANY, A. S.; KINDOM, S. E. **Some lipid oxidation products as xenobiotics**. In: FINLEY, J. W.; SCHWASS, D. E. *Xenobiotics in Foods and Feeds*. Washington: American Chemical Society, 1983. p. 234:85. (ACS Symposion Series).
- AHN, J.I., U. GRÜN and L.N. FERNANDO. Antioxidant properties of natural plant extracts containing polyphenolic compounds in cooked ground beef. **J. Food Sci.**, 67: 1364-1369. 2002.
- ALMEIDA, Cleide Oliveira de. **Avaliação físico-química e microbiológica de lingüiça Toscana porcionada e armazenada em diferentes embalagens, sob condições de estocagem similares às praticadas em supermercado**. Dissertação Mestrado. Campinas, SP, 2005.
- BARATTA, M.T.; DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G. BIONDI, D.M. RUBERTO, G. Chemical composition, antimicrobial and oxidative activity of laurel, sage, rosemary, oregano and coriander essential oils. **Journal of Essential Oils Research**. 10:618-627, 1998.
- Baser, K. H. C., Kirimer, N., & TuÈ men, G. (1993). Composition of the essential oil of *Origanum majorana* L. from Turkey. **J. Essent. Oil Res.**, 5, 577±579.
- BELTRAN, E. *et al.* Use of antioxidants to minimize rancidity in pressurized and cooked chicken slurries. **Meat Science**, Barking, v. 66, n. 3, p. 719-725, 2004.

BERAQUET, N. J.; BRESSAN, M. C.; LEMOS, A. L. S. C. Características de qualidade de carne de peito de frango utilizando a análise de componente principal. **Bol. SBCTA**, v. 35, p. 74-84, 2001.

BERSET, C.; CUVELIER, M-E.; **Sciences des Aliments**. 1996, 16, 219.

BOZKURT A., TOSCANO P., Lal A. **Mesoscale Microdroplet Based Combustion Power Generation using an Ultrasonic Droplet Generator**. 6th International Workshop on Micro and Nanotechnology for Power Generation and Energy Conversion Application (PowerMEMS 2006), Berkeley, CA, December 2006, pp. 5-8.

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**, Heidelberg, v. 221, n. 5, p. 610-615, 2005.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) – **Instrução Normativa nº 4. Anexo III - Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de lingüiça**. D.O.U., 05 de abril de 2000. Disponível na internet via www. URL: agricultura.gov.br/sda/dipoa. Acessado em janeiro de 2003.

BRUM, E. B. **Antioxidante natural de Marcela (*Achyrocline satureioides*) e de erva mate (*Ilex paraguariensis*) na elaboração de lingüiça toscana**. Dissertação de mestrado. Santa Maria. UFSM, 2009.

CANSIAN, R.L.; MOSSI, A.J.; ASTOLFI, V.; OLIVEIRA, D.; TONIAZZO, G.; PAROUL, N.; SERAFINI, L.A.; TREICHEL, H. Atividade antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de Ho-Sho (*Cinnamomum camphora* Ness e Eberm var Linaloolifera fujita). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. In press, 2009.

CANSIAN, R.L.; MOSSI, A.J.; MOSELE, S.H.; TONIAZZO, G.; TREICHEL, H.; PAROUL, H.; OLIVEIRA, J.V.; OLIVEIRA, D.; MAZUTTI, M.; ECHEVERRIGARAY, S.

Genetic conservation and medicinal properties of mate (*Ilex paraguariensis* St Hil.). **Pharmacognosy Reviews**. v. 2 (4), p. 326-338, 2008.

CANTO, A.P. **Porque e para que foi criado o cGMP**. **Revista Banas Qualidade**. São Paulo, v. 8, n. 78, p. 88-89, ago. 1998.

CARBONARI, K. A. **Avaliação do Potencial Antioxidante (*In vitro* e *In vivo*) e Antiinflamatório de *Ouratea parviflora*, *Polymnia sonchifolia* e *Marlierea obscura***. Florianópolis, 2005. 108 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Saúde) - Universidade Federal de Santa Catarina.

CARDOSO, M. G. **Boletim agropecuário: plantas aromáticas e condimentares**. Lavras, MG: UFLA, 2005. p. 83.

CHIPAULT, J.R. *et al.* The antioxidant properties of natural spices. **Food Research**, v. 17, p. 46-55, 1952.

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.

COUPLAND, J. N.; MCCLEMENTS, D. J.; **Trends Food Sci. & Technol.** 1996, 7, 83.

CUPPETT, S. L.; HALL III, C. A. Antioxidant activity of the Labiatae. **Advances in Food and Nutrition Research**, New York, v. 42, p. 245-271, 1998.

COSGROVE, J. P. et al. The kinetics of autoxidation of polyunsaturated fatty acids. **Lipids, Heidelberg**, v. 22, n. 5, p. 299-304, Apr. 1987.

DAPKEVIVIVUS, A.; VENSKUTONIS, R.; VAN BEEK, T.A.; LINSSEN, P. H. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. **J. Sci. Food Agric.** 77: 140-146, 1998.

DAWSON, L. E.; GARTNER, R. Lipid oxidation in mechanically deboned poultry. **Food Technology**, Chicago, v. 37, n. 6, p. 112-116, June 1983.

DELAZAR, A.; NASERI, M.; NAHAR, L.; MOGHADAM, S.B.; ESNAASHARI, S.; NAZEMIYEH, H.; SARKER, S.D. GC-MS Analysis and antioxidant activities of essential oils of two cultivated *Artemisia* species. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 43, (1), p. 112-114, 2007.

DEMIRCI, B.; KOSAR, M.; DEMIRCI, F.; DINÇ, M.; BASER, K.H.C. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of *Chaerophyllum libanoticum* Boiss. et Kotschy. **Food Chemistry**, v. 105, p. 1512-1517, 2007.

DEUTSCHES Arzneibuch 10. Ausgabe. Frankfurt: Deutscher Apotheker. 1992.

DURÁN, R.M.; PADILLA, R.B. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. **Grassas y aceites**. 44(2): 101-106, 1993.

FERNÁNDEZ, J.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A.; FERNÁNDEZ-LOPEZ, J. A. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. **Food Chemistry**, London, v. 59, n. 3, p. 345-353, July 1997.

FRANKEL, E. N.; HUANG, S.-W.; KANNER, J.; GERMAN, J. B.; **J. Agric. Food Chem.** 1994, 42, 1054.

FRANKEL, E. N.; **Trends Food Sci. & Technol.** 1993, 4, 220.

FURTADO, A. S. *et al.* **Atividade antioxidante do extrato de *Achyrocline satureioides* (Marcela) em lingüiça.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 19., 2004, RECIFE. Anais...Recife, 2004a.

- GROSSMAN, L. **Óleos essenciais na culinária, cosmética e saúde**. São Paulo: Optonline, 2005. 300 p.
- HALLIWELL, B.; GUITTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 3th ed. New York: Oxford Science Publications, 2000. 936p.
- HALLIWELL, B.; MURCIA, M. A.; CHIRICO, S.; ARUOMA, O. I.; **Crit. Ver. Food Sci. Nutr.** 1995, 35, 7.
- HAMILTON, R. J.; ROSSELL, J. B.; HUDSON, B. J. F.; LÖLIGER, J.; **In Rancidity in Foods**; ALLEN J. C., HAMILTON R. J., Ed.; Applied Science Publishers LTD.; London, 1993, p. I.
- HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, E. *et al.* Antioxidant effect rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) extracts on TBARS and colour of model raw pork batters. **Meat Science**, Barking, v. 81, n. 2, p. 410-417, Feb. 2009.
- HOFFMANN, R.S. **Antioxidante natural na proteção da carne mecanicamente separada (CMS) de frango**. 2003. 135 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- IBRAC** - Indústria Brasileira de Aditivos e Condimentos. Teoria e Prática na Industrialização de Carnes. Departamento Técnico - IBRAC. Rio Claro, 1980. [manual teórico-prático].
- JESUS, D. N. C. de. **Avaliação dos efeitos da adição do óleo essencial de orégano (*origanum vulgare*) na dieta, sobre a fisiologia e a produtividade de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*)**. Dissertação de mestrado. Universidade de Brasília. Fac. De Agro. E Med. Veterinária. 2007.
- JADHAV, S.J.; NIMBALKAR, S.S.; KULKARNI, A.D.; MADHAVI, D. L.; RAJALAKSHMI, D.; NARASIMHAN, S.; **In Food Antioxidants: Technological,**

Toxicological, and Health Perspectives; MADHAVI D. L., DESHPANDE S. S., SALUNKHE D. K., Ed.; Marcel Dekker Inc.; New York 1996; p. 5.

JOLIVET, J., Rey, P., & BOUSSARIE, M. F. (1971). Diferenciation de quelques huiles essentielles presentant une constitution voisine II. Essence de marjolaine. **Plants Med. Phytother.**, 5, 199±208.

JUN, W.J.; HAN, B. K.; YU, K. W.; KIM, M. S.; CHAM=NG, I.S.; KIM, H.Y.; CHO, H.Y. Antioxidant effects of *Origanum majorana* L. on superoxide anion radicals. **Food Chemistry**, v. 75, n. 4, p. 439-444, Dec. 2001.

KAHL, R.; HILDEBRANDT, A. G. Methodology for studying antioxidant activity and mechanisms of action of antioxidants. **Food and Chemical Toxicology**, Richmond, v. 24, n. 10/11, p. 1007-1014, Oct./Nov. 1986.

KARPINSKA, M., J. BOROWSKI and M. DANOWSKA- OZIEWICZ,. The use of natural antioxidants in ready-to-serve food. **Food Chem.**, 72: 5-9. 2001.

LAI, S. et al. Effects of oleoresin rosemary, tertiary butylhydroquinone, and sodium tripolyphosphate on the development of oxidative rancidity in restructured chicken nuggets. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 56, n. 3, p. 616-620, 1991.

MADSEN, H. L., BERTELSEN, G. Spices as antioxidants. **Trends in Food Science and Techology**, Amsterdan, v. 6, n. 8, p. 271-277, 1995.

MALAVOTA, L. C. M.; JUNIOR, C. A. C.; MACEDO, B. T.; LOPES, M. M.; SOUZA, V. G. de.; STUSSI, J. S. P.; PARDI, H. S.; MANO, S. B. Análise micológica de lingüiça de frango embalada em atmosfera modificada. **Rev. Bras. C. Vet.**, v. 13, n. 1, p. 3-9, jan./abr. 2006.

- MANCINI-FILHO, J.; VAN-VOIJ, A.; MANCINI, D.A.P., COZZOLINO, F.F.; TORRES, R.P. Antioxidant activity of cinnamon (*Cinnamomun zeylanicum*, Breyne) extracts. **Bol. Chim. Farmac.**, v.137, p. 443-447, 1998.
- MELO,E.A.; GUERRA, N.B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim SBCTA**, Campinas, SP, n. 36, p. 1-11, 2002.
- MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S; SANTOS, T. C.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, v. 53, p. 127-130, 2001.
- MILANI, L. I. G. *et al.* **Antioxidantes e antimicrobianos naturais para carne mecanicamente separada de frango.** In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 4., 2001, CAMPINAS. Anais...Campinas, 2001.p. 122.
- MILANI, L. I. G. *et al.* **Inibição natural da oxidação lipídica na carne mecanicamente separada de frango.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DOS ALIMENTOS, 18., 2002, PORTO ALEGRE. Anais...Porto Alegre, 2002a.
- MIRANDA, A.L. P.; FRAGA, C. A.M. **Atividade Seqüestradora de Radical Livre Determinação do Potencial Antioxidante de Substâncias Bioativas** in: Monge A., Ganellin, C. R. (ed.) *Practical Studies on Medicinal Chemistry IUPAC*. 2006.
- MOUETTE, M. G. Correspondences entre les formes galéniques des drogues végétales. **Lettre Phytotérique et Pharmaceutique**, Suppl. n. 4, p 53-54, 1988.
- MUKAI, F. H.; GOLDSTEIN, D. B. **Mutagenicity of malonaldehyde, a decomposition product of peroxidized polyunsaturated fatty acids.** *Science*, New York, v. 191, p. 868, 1976.
- NAWAR, W. W. Em *Lipids*; Fennema, O. R., ed.; Marcel Dekker: New York, 1985, p. 139.

- NAWAR, W. W. Lipids. In: FENNEMA, O. P. (Org.). Food Chemistry, 3rd ed. New York: Marcel Dekker, 1996. p. 225-319.
- NICKI, E. Lipid peroxidation: mechanisms, inhibition and biological effects. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Osaka, v. 336, n. 1, p. 1-9, Dec. 2005.
- NISSEN, L. R. et al. Protection of dehydrated chicken meat by natural antioxidants as evaluated by electron spin resonance spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 48, n. 11, p. 5548-5556, 2000.
- N. Nakatani. **Antioxidants from spices and herbs. In: Natural Antioxidants. Chemistry, Health Effects, and Applications.** Ed. F. Shahidi, AOCS Press, Champaign, IL (USA) 1997, pp. 64–75
- OLIVEIRA, S.R. **Ação antioxidante de extratos de alho (*Allium sativum* L.) e de cebola (*Allium cepa* L.) in vitro e em gordura de frango. 1991.** Tese de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal de Viçosa – UFV, 1991.
- OLIVO, R. et al. **Atualidades em Ciência e Tecnologia de Carnes**, São Paulo: Varela, 2006. 230 p.
- OLIVO, RUBISON. **O mundo do frango: cadeia produtiva da carne de frango.** Criciúma, SC, Ed. Do Autor, p. 678, 2006.
- OSAWA, C. C.; FELÍCIO, P. E. de; GONÇALVES, L. A. G. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 655-663, out./dez. 2005.
- ÖZER, H.; SÖKMEN, M.; GÜLLÜCE, M.; ADIGÜZEL, A. Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of *Hippomarathrum microcarpum* (Bieb.) from Turkey. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 937-942, 2007.

PEARSON, A. M. et al. Safety implications of oxidized lipids in muscle foods. **Food Technology**, Chicago, v. 37, n. 1, p. 121, Jan. 1983.

PEARSON, A.M.; LOVE, J.D.; and SHORLAND, F.B. Warmed-over-flavor in meat, poultry and fish. **Adv. Food Res.**, 23:1, 1977.

POKORNY, J., Natural antioxidants for food use. **Trends in Food Sci. Tech.**, 9: 223-227. 1991.

PORTER, N. A.; CALDWELL, S. E.; MILLS, K. A. Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. **Lipids**, North Carolina, v. 30, n. 4, p. 277-290, Apr. 1995.

PRÄNDL, O.; FISCHER, A.; SCHMIDHOFER, T. SINELL, H.J. **Tecnología y higiene de la carne**. Zaragoza: Ed. Acribia, 1994. 854 p.

RAHARJO, S.; SOFOS, J.N.; SCHMIDT, G.R. Improved Speed, Specificity, and Limit of Determination of an Aqueous Acid Extraction Thiobarbituric Acid-C18 Method for Measuring Lipid Peroxidation in Beef. **J. Agric. Food Chem.** v.40, n.11, p.2182-2165, 1992.

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

RIVELLI, D.P.; SILVA, V.V.; ROPKE, C.D.; MIRANDA, D.V.; ALMEIDA, R.L.; SAWADA, C.H.; BARROS, S.B.M. Simultaneous determination of chlorogenic acid, caffeic acid and caffeine in hydroalcoholic and aqueous extracts of *Ilex paraguariensis* by HPLC and correlation with antioxidant capacity of the extracts by DPPH[•] reduction. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 43 (2), 215-222, 2007.

SALLAM, K.; ISHIOBOROSHI, M.; K. SAMEJIMA. **Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage**. Lebenson Wiss Technol. Author manuscript; available in PMC 2007. Published in final edited form as: Lebenson Wiss Technol. 2003.

SARER, E.; SCHEFFER, J.J.C.; JANSSEN, A.M.; SVENDSEN, A.B.; **In Essential Oils and Aromatic Plants – Composition of the Essential Oil of Origanum majorana Grow in Different Localities in Turkey**, A. Svenden, B.; Scheffer, J.J.C. Eds.; M. Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers: Dordrecht, p 209, 1985.

SCHILCHER, H. **Phytopharmaka: Qualitätssicherung und-kontrolle, neue Verfahren und Zubereitungen**. In: MÜLLER, R.H.; HILDEBRAND, G.E. (Hrsg.) **Pharmazeutische Technologie: moderne Arzneiformen**. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1997. Cap. 6, p. 59-68

SCHWARZ, K. et al. Investigation of plants extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation. Comparison of antioxidant assays based on radical scavenging, lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compounds. **European food research and technology**, Berlin, v. 212, n. 3, p. 319-328, Feb. 2001.

SERAFINI, L.A.; BARROS, N.M.; AZEVEDO, J.L. **Biotechnologia na agricultura e na agroindústria. Guaíba: Agropecuária, 2001.**

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

SHAHIDI, E. et al. Effect of sulphanilamide on the TBA values of cured meats. **Journal Food Science**, v. 50, n. 1, p. 274-275, 1985.

SHAMBERGER, R. J.; ANDREONE, T. L.; WILLIS, C. E. Antioxidants and cancer. IV. Malonaldehyde has imitating as a carcinogenic. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 53, n. 6, p. 1771, Dec. 1974.

- SHARMA, A.; PADWAL-DESAI, S.R.; TEWARI, G.M.; BANDYOPADHYAY, C. Factors affecting antifungal activity of onion extractives against aflatoxin-production fungi. **Journal Food Science**. 741-744, 1981.
- SHELEF, L.A., O.A. NAGLIK and D.W. BOGEN,. Sensitivity of some common food-borne bacteria to the spices sage, rosemary and all spice. **J. Food Sci.**, 45: 1042-1044. 1980.
- SHERWIN, E. R.; **J. Am. Oil Chem. Soc.** 1978, 55, 809.
- SHIMOKOMAKI, M.; OLIVO, R.; TERRA, N. N.; FRANCO, B. D. G. M. **Atualidades em ciência e tecnologia de carnes**. São Paulo: Livraria Varela, 2006.
- SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 94-103, jan./mar. 1999.
- SILVA, L. P.; LOPES, M. M.; MANO, S.; MÁRSICO, E. T.; JÚNIOR, C. A. C.; TEODORO, A. J.; GUEDES, W. S. Influência da adição de polifosfato em lingüiça de frango. **Rev. Bras. C. Vet.**, v. 15, n. 1, p. 50-55, jan./abr. 2008.
- SIMÕES, C.M.O., et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS / Editora da UFSC, 819p., 1999.
- SIMS, R. J.; FIORITI, J. A.; **In CRC Handbook of Food Additives**, 2nd edition, vol. II; FURIA T. E., Ed.; CRC Press Inc. 1980; p. 13.
- SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA C. L. S.; ARAÚJO D. S. 2007
- SOUZA, M. A. de A. **Casca da batata inglesa (*Solanum tuberosum*) na proteção antioxidante da carne de frango**. 2006. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

TERRA, N.N., BRUM, M.A.R. **Carne e seus derivados: Técnicas de Controle de qualidade.** Santa Maria: Nobel, 1988. 121 p.

VERA, R. R.; CHANE-MING, J. Chemical composition of the essential oil of marjoram (*Origanum majorana*) from Reunion Island. **Food Chemistry**, v. 66, n. 2, p. 143-145, Aug. 1999.

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, 2007.

ZHANG, H.; CHEN, F.; WANG, X.; YAO, H-Y. Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oils and identification of its antioxidants constituents. **Food Research International**, v. 39, p. 833-839, 2006.

<http://buscatextual.cnpq.br/buscatextual/visualizaev.jsp?id=N727080&tipo=completo&idiomaExibicao=2>