

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DOS ALIMENTOS**

**AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-
QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DE
HAMBÚRGUERES DE FRANGOS
SUPLEMENTADOS COM FOLHAS DE OLIVEIRAS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Suelem Lima da Silva

**Santa Maria, RS, Brasil
2014**

**AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E
MICROBIOLÓGICAS DE HAMBÚRGUERES DE FRANGOS
SUPLEMENTADOS COM FOLHAS DE OLIVEIRAS**

Suelem Lima da Silva

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Área de Qualidade dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos.**

Orientador: Prof. Alexandre José Cichoski

**Santa Maria, RS, Brasil
2014**

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos
Alimentos**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E
MICROBIOLÓGICAS DE HAMBÚRGUERES DE FRANGOS
SUPLEMENTADOS COM FOLHAS DE OLIVEIRAS**

elaborada por
Suelem Lima da Silva

Como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos

COMISSÃO EXAMINADORA:

Alexandre José Cichoski, Dr.
(Presidente/Orientador)

Cristiano Ragagnin Menezes, Dr. (UFSM)
(Co-orientador)

Ernesto Hashime Kubota, Dr. (UFSM)
(Examinador)

Marília Assunta Sfredo, Dra (IFRS-Erechim)
(Examinador)

Santa Maria, 01 de julho de 2014.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Sidnei Lima da Silva e Carmen Regina Lima da Silva, que sempre me apoiaram e estiveram ao meu lado, incentivando-me a lutar pelos meus sonhos. Ao meu irmão Eduardo e minha irmã querida Suzel, meu muito obrigada por sempre compartilhar e torcer em cada conquista alcançada. Família, obrigada por existirem, amo vocês eternamente.

Ao Bruno Castro Kuintchner pelo carinho, palavras de incentivo, companheirismo, amizade e compreensão.

Ao meu orientador, Prof. Alexandre José Cichoski, por todos os ensinamentos que me foram passados ao longo desses dois anos, pela paciência e disposição incansável.

Aos Professores Ernesto Hashime Kubota, Cristiano Ragagnin Menezes, Roger Wagner e Marília Assunta Sfredo pelas colocações realizadas na dissertação, explicações, sempre com a maior boa vontade.

À Cristiane Marangoni por ter fornecido a matéria-prima para a realização deste trabalho e pela atenção de sempre.

As minhas colegas de trabalho Heloisa, Cristine, Débora, Amanda, Mayara, Mariana, Vanessa, Taiane, Larissa e Carla por toda a ajuda e amizade dedicada nesses dois anos. Obrigada por terem dado a mim o privilégio de ter convivido com vocês, pessoas dedicadas, dispostas a aprender. Sentirei muitas saudades da nossa equipe.

Aos funcionários do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos Carlos, Magé, Marialene, Moisés, Aline, Thiago, Liana e Ana Paula pela grande ajuda, dedicação em ensinar e pelos momentos de descontração.

À CAPES pelo apoio financeiro através da concessão da bolsa de Mestrado.

Por fim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a realização do meu trabalho.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos
Universidade Federal de Santa Maria

AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DE HAMBÚRGUERES DE FRANGOS SUPLEMENTADOS COM FOLHAS DE OLIVEIRAS

AUTOR: Suelem Lima da Silva

ORIENTADOR: Alexandre José Cichoski

CO-ORIENTADOR: Cristiano Ragagnin de Menezes

Local e Data de Defesa: Santa Maria, 01 de julho de 2014.

A carne de frango, em razão da elevada concentração de ácidos graxos insaturados, além de ser muito manipulada na elaboração de produtos cárneos, é altamente susceptível aos processos de oxidação e crescimento microbiológico, que limitam sua estabilidade e vida útil. O uso de folhas de oliveiras representa uma alternativa na prevenção desses problemas, além de permitir aproveitamento dos resíduos da colheita das oliveiras. O objetivo deste trabalho foi avaliar durante período de armazenamento de 120 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, características físico-químicas e microbiológicas de hambúrgueres elaborados com carnes de peito de frangos que receberam folhas de oliveiras em suas dietas. Foram adicionados à ração diferentes concentrações de folhas de oliveiras, sendo T1 (sem folhas de oliveiras), T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração) e T3(10g de folhas de oliveiras/ kg de ração). A carne de frango foi processada no formato de hambúrgueres, embalados em sacos plásticos permeáveis ao oxigênio e armazenados a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 120 dias. Foram realizadas análises de pH, ácidos graxos, oxidação lipídica (dienos conjugados, peróxidos, TBARS), oxidação proteica (carbonil), cor instrumental, composição centesimal, a_w e avaliação microbiológica (mesófilos, psicrotróficos, *Enterobactérias* e *Staphylococcus* spp.). Nos tratamentos com folhas de oliveiras não foi verificada alteração significativa ($p > 0,05$) no pH, a_w e composição centesimal. O perfil de ácidos graxos e a oxidação lipídica foram influenciados pela adição das folhas de oliveiras na ração ($p < 0,05$), enquanto que a oxidação de proteínas não ($p > 0,05$). Em relação às bactérias mesófilas, psicrotróficas, *Enterobactérias* e *Staphylococcus* spp., os tratamentos contendo folhas de oliveiras, apresentaram efeito significativo ($p < 0,05$) frente ao desenvolvimento dessas bactérias nos hambúrgueres crus. Na análise da cor objetiva, os tratamentos com folhas de oliveiras não influenciaram na variável L^* e a^* , porém b^* sim. Portanto, os hambúrgueres elaborados com carnes de peito de frangos suplementados com folhas de oliveiras apresentaram menor evolução das reações oxidativas lipídicas e crescimento microbiano.

Palavras-chave: Antioxidante. Carne. Microbiologia.

ABSTRACT

Master Dissertation
Graduate Program in Food Science and Technology
Federal University of Santa Maria

EVALUATION OF PHYSICAL-CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF CHICKEN BURGERS SUPPLEMENTED WITH LEAVES OLIVE

AUTHOR: Suelem Lima da Silva

ADVISOR: Alexandre José Cichoski

CO-ADVISOR: Cristiano Ragagnin de Menezes

Place and Date of Defense: Santa Maria, July 01, 2014.

Chicken meat, due to the high concentration of unsaturated fatty acids, beyond very manipulated in the preparation of meat products, is highly susceptible to oxidation and microbiological growth, which limit its stability and shelf-life. The use of natural antioxidants, such as olive leaves, are an alternative in prevention these problems, and allows the use of residues from olive harvest. The objective of this study was to evaluate during storage period of 120 days at -18°C , physico-chemical and microbiological characteristics of burgers with chicken breast meat that received olive leaves in their diets. Added in different concentrations of ration olive leaves, being T1 (without olive leaves and addition of sodium erythorbate), T2 (5g olive leaves/ kg feed) e T3 (10g olive leaves/ kg feed). The chicken meat was processed in the form of burgers, plastic bags permeable to oxygen packaged and stored to -18°C for 120 days. Were performed pH, fatty acids, lipid oxidation (conjugated dienes, peroxides and TBARS), protein oxidation (carbonyl), instrumental color, proximate composition, water activity and microbiological evaluation (mesophilic, psychrotrophic, *enterobactérias* and *staphylococcus* spp.). No significant changes ($p > 0,05$) in pH, water activity and proximate composition in raw and cooked samples. The fatty acids profile and lipid oxidation were influenced by the olive leaves in the feed ($p < 0.05$), already not protein oxidation ($p > 0.05$). Mesophile, psychrotrophic, *enterobactérias* and *staphylococcus* spp., treatments containing olive leaves showed significant effect ($p < 0.05$) compared to the development of these bacteria in raw burgers. In the analysis of objective color, treatments with olive leaves not affect the L^* and a^* variables, but the variable b^* yes. There, hamburgers with chicken breast supplemented with olive leaves showed the lowest evolution of oxidative lipidic reactions and microbial growth.

Key-words: Antioxidant. Meat. Microbiology.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1 Qualidade da carne de frango	11
2.2 Hambúrguer de frango	12
2.2.1 Fatores que influenciam a qualidade do hambúrguer	13
2.2.2 Contaminação microbiológica	14
2.2.3 Composição de ácidos graxos	16
2.2.4 Oxidação lipídica	17
2.2.5 Oxidação proteica	19
2.3 Antioxidantes naturais	20
2.3.1 Folhas de oliveiras (<i>Olea europaea</i> L. variedade <i>Ascolano</i>).....	21
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
3.1 Criação dos frangos	24
3.2 Elaboração dos hambúrgueres.....	24
3.3 Cozimento dos hambúrgueres.....	27
3.4 Análises físico-químicas e microbiológicas.....	28
3.4.1 pH.....	29
3.4.2 Teor de gordura.....	30
3.4.3 Perfil de ácidos graxos	30
3.4.4 Dienos conjugados.....	31
3.4.5 Peróxidos	31
3.4.6 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	32
3.4.7 Oxidação de proteínas	33
3.4.8 Determinação da cor	34
3.4.9 Composição centesimal	34
3.4.10 Atividade de água (a_w).....	36

3.4.11 Análises microbiológicas.....	36
3.5 Análise estatística dos resultados	38
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
4.1 Análises físico-químicas.....	39
4.1.1 pH	39
4.1.2 Composição de ácidos graxos.....	43
4.1.3 Dienos conjugados	51
4.1.4 Peróxidos.....	54
4.1.5 TBARS.....	58
4.1.6 Oxidação proteica.....	62
4.1.7 Cor.....	64
4.1.8 Composição centesimal.....	72
4.1.9 Atividade de água (a_w)	75
4.2 Análises microbiológicas.....	77
4.2.1 Número de colônias de bactérias mesófilas aeróbias totais	77
4.2.2 Número de colônias de bactérias psicotróficas	80
4.2.3 <i>Enterobactérias</i>	84
4.2.4 <i>Staphylococcus</i> spp.	87
5 CONCLUSÃO.....	91
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93

1 INTRODUÇÃO

Manter a qualidade da carne e dos produtos cárneos é fundamental para a competitividade da cadeia produtiva, onde a etapa de processamento das carnes é uma das mais importantes para a obtenção de um produto livre de contaminação e com maior vida útil. Um dos produtos cárneos mais consumidos atualmente é o hambúrguer, pois além de ter fácil preparo, é amplamente ofertado em lancherias para as pessoas que dedicam pouco tempo às refeições. Porém, este tipo de alimento, nem sempre é conservado de forma adequada nos locais onde é vendido cru para ser preparado em casa. Além disso, quando é fabricado artesanalmente, por ser muito manipulado, acaba acarretando em maior probabilidade de aumento das reações oxidativas e contaminação microbiológica.

Decorrente disto, pesquisas estão sendo realizadas para tentar encontrar produtos naturais capazes de controlar os processos oxidativos e microbiológicos, resultando em produtos mais saudáveis ao consumidor, como por exemplo, os antioxidantes naturais, que reduzem a velocidade das reações de oxidação dos compostos lipídicos presentes nos alimentos, sequestrando ou impedindo a formação de radicais livres. Seu uso é uma tecnologia promissora, uma vez que muitas substâncias vegetais possuem propriedades antioxidantes e antimicrobianas.

Um dos antioxidantes naturais que estão sendo estudados é o uso de folhas de oliveiras, que é uma fonte significativa de antioxidantes, sendo realizados testes *in vitro* comprovando também seu efeito antimicrobiano, e também testes *in vivo* na suplementação de suínos e aves, mostrando efeitos positivos sobre a oxidação lipídica. No Brasil ainda há poucos estudos com a utilização de folhas de oliveiras na dieta de frangos e posterior elaboração de um produto cárneo para consumo em geral, podendo tornar os resultados deste estudo um referencial de interesse para as indústrias frigoríficas.

O estudo com folhas de oliveiras no Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos da UFSM, começou com a dissertação de Cavalheiro (2013) que ao extrair compostos fenólicos por ultrassom e determinar ácidos graxos e minerais em cinco variedades de folhas de oliveiras, concluiu que a variedade *Ascolano* foi uma das que apresentou maior conteúdo de ácidos graxos e minerais. Marangoni (2013)

utilizou apenas folhas de oliveiras da variedade *Ascolano* na suplementação de frangos e avaliou as características físico-químicas e microbiológicas de carnes de coxa e sobrecoxa encontrando resultados positivos das folhas de oliveiras sobre a redução da oxidação e crescimento microbiano. O presente estudo pretendeu verificar se mesmo após o processamento da carne, as folhas de oliveiras adicionadas na ração dos frangos continuaram tendo bons resultados frente às características físico-químicas, oxidativas e microbiológicas, dando assim continuidade ao estudo com folhas de oliveiras.

Portanto o objetivo do trabalho foi avaliar as características físico-químicas (pH, a_w , cor), oxidativas (lipídeos e proteínas) e microbiológicas (bactérias mesófilas, psicrotróficas, enterobactérias e *Staphylococcus* spp.) em hambúrgueres com carnes de peito de frango que receberam folhas de oliveira na dieta, armazenados durante 120 dias a -18 °C, determinando seu uso ou não na suplementação de frangos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Qualidade da carne de frango

A indústria avícola brasileira têm sido a maior exportadora (3.918 mil toneladas), terceira maior produtora (12.308 mil toneladas) e a quarta maior consumidora mundial de carne de frango (41,80 quilos por pessoa) (UBABEF, 2014). Como consequência, a cadeia produtiva de frangos torna-se bem sucedida fazendo com que o setor industrial busque por constante aprimoramento tecnológico e principalmente pela qualidade dos produtos finais.

O conteúdo de lipídeos da carne de frango é muito variável dependendo principalmente da porção da carcaça e se está associada com a pele, local onde grande parte dos lipídeos estão depositados. Além disso, os lipídeos da carne de frango possuem elevados níveis de ácidos graxos insaturados (especialmente poli-insaturados), tendo aspecto positivo e saudável aos consumidores (BONOLI et al., 2007).

O filé de peito de frango é o corte mais magro, onde cada 100 g de peito de frango sem pele fornecem 25 g de proteínas e 3,75 g de lipídeos (TORRES et al., 2000). Porém, devido a carne de frango ser rica em ácidos graxos insaturados, e que durante seu processamento a mesma ser altamente manipulada, e quando moída ocorrer a incorporação de ar e de metais dos equipamentos, além de elevação da temperatura devido fricção da carne em contato com as superfícies dos equipamentos, ocorre maior probabilidade de contaminação microbiológica e aumento das reações oxidativas.

Logo, alguns cuidados devem ser feitos para minimizar os problemas de contaminação microbiológica e de oxidação, sendo estes os principais causadores da baixa vida útil de alguns produtos cárneos. Baracho et al. (2006) afirmaram que o bem-estar, boas práticas de manejo e adequado processamento da carne de frango devem ser observados em todos os momentos para se ter um sistema eficaz de produção avícola. Os parâmetros que afetam a qualidade da carne são complexos e ocorrem em toda a cadeia produtiva.

Portanto, a compreensão de todos os pontos críticos aliado às tecnologias que reduzam os fatores de risco, bem como o investimento na resolução dos problemas, poderão levar a um melhor controle e gestão, com conseqüente redução de perdas e carne de melhor qualidade.

2.2 Hambúrguer de frango

O hambúrguer teve origem na Alemanha, na cidade de Hamburgo, sendo degustado crú. Em 1889 apareceu nas mesas de um restaurante em Washington e, a partir da década de 20, difundiu-se nos Estados Unidos de tal forma, que não se pensa no estilo de vida norte-americano sem ele. Chegou ao Brasil nos anos 50 e se tornou um alimento popular depois que a primeira rede de *fast food* começou a produzi-lo em larga escala (NASCIMENTO, OLIVEIRA & NASCIMENTO, 2005).

Tornou-se um alimento popular pela praticidade e por conter nutrientes que alimentam e saciam a fome rapidamente, combinando com o modo de vida que vem se instalando nos centros urbanos (ARISSETO, 2003). Além disso, o hambúrguer é uma alternativa para o aproveitamento das carnes menos nobres, sendo muito importante para se ter um empreendimento vantajoso na indústria, com a criação de produtos de qualidade, com preços baixos e geração de renda (GADEKAR et al., 2008).

Pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Hambúrguer (BRASIL, 2000) “entende-se por hambúrguer o 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”. Pode ser um produto crú, semi-frito, cozido, frito, congelado ou resfriado, sendo permitido no máximo 4,0% de proteína não-cárnica na forma agregada.

Devido o hambúrguer ser submetido a um processo de manipulação excessiva, quando na seleção da carne e na moldagem do produto, acaba favorecendo a instalação e a veiculação de patógenos. Considerando-se tais características, tornam-se necessárias a avaliação de sua qualidade higiênico-sanitária do ponto de vista microbiológico e a adoção de práticas adequadas para sua preparação e conservação, a fim de garantir que o consumo ocorra de forma

segura e livre de contaminação (LIMA & OLIVEIRA, 2005). Há uma constante busca em se tentar eliminar ou reduzir ao máximo a flora microbiana e oxidações dos produtos cárneos com o mínimo de alteração das características organolépticas.

Decorrente do exposto é importante que se faça a aplicação de compostos com atividades antimicrobianas e antioxidantes com o objetivo de evitar as reações químicas que promovam sabores e odores indesejáveis. Desta forma, serão mantidos de maneira efetiva a palatabilidade, a aceitabilidade e o valor nutricional do alimento (POURCHET-CAMPOS, 1996).

2.2.1 Fatores que influenciam a qualidade do hambúrguer

O hambúrguer apresenta fatores intrínsecos e extrínsecos que promovem o crescimento de micro-organismos. Aspectos intrínsecos (a_w elevada, pH próximo de 7, potencial de óxido-redução positivo ou negativo e composição química rica em nutrientes) e extrínsecos (umidade relativa, movimentação do ar, atmosfera, sanitização do ambiente, maquinário e utensílios, tempo de armazenamento, temperatura e manipulação do produto) devem ser considerados no surgimento de problemas microbiológicos e oxidativos em produtos cárneos (CLARK & TAKACS, 1980; ICMSF, 1983; DELAZARI, 1984; DOWNES & ITO, 2001; INPPAZ, 2001).

Outro fator importante que se deve ter o máximo controle é o pH *post-mortem* da carne utilizada, uma vez que não afeta somente as taxas de crescimento de micro-organismos, mas também sua sobrevivência durante a estocagem, aquecimento, secagem e outras formas de processamento. O pH inicial pode ser satisfatório, mas devido à microbiota competitiva pode tornar-se desfavorável, decorrente do crescimento de um número limitado de micro-organismos, que podem alterar o pH para um valor mais favorável para o crescimento de muitos outros micro-organismos (FRAZIER & WESTHOFF, 2000).

Estes fatores influenciam decisivamente na microbiota capaz de contaminar e se proliferar nos produtos cárneos, tendo importância sob o ponto de vista da saúde pública. Além da questão de saúde, Frazier e Westhoff (2000) afirmaram que conhecer os fatores que favorecem ou inibem o crescimento microbiano é essencial

no entendimento dos princípios de deterioração e preservação dos alimentos, tanto refrigerados quanto congelados.

2.2.2 Contaminação microbiológica

A legislação brasileira (BRASIL, 2001) estabelece limites de tolerância máxima para amostra indicativa de 5×10^3 UFC/ g para *Staphylococcus* coagulase positiva/g e Coliformes a 45 °C, ausência de *Salmonella* sp/ 25g e 3×10^3 UFC/ g para Clostridium Sulfito redutor a 46 °C/ g. Nos hambúrgueres são frequentemente encontrados colônias de bactérias de *S. aureus*, *E. coli* e *Salmonella* sp. (PEZZOTTI et al., 2001) e dependendo da linhagem, podem provocar surtos de toxinfecções alimentares. Além disso, estes micro-organismos indicam o grau de higiene, manipulação e estocagem dos hambúrgueres, determinando se os mesmos estão aptos para serem consumidos.

A microbiota normal de produtos à base de carne de frango moída elaborados em condições higiênicas é composta predominantemente, por bactérias gram-negativas e por gram-positivas (JAY, 2005). No grupo das bactérias gram-negativas encontram-se as bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, e nela temos a *Salmonella* sp. que caracteriza-se normalmente por ser patogênica e estar presente em fezes de animais e pessoas portadoras. *Escherichia coli* faz parte da microbiota intestinal dos homens e dos animais, sua presença em alimentos é indicativa de contaminação fecal (KONEMAN et al., 2001; JAY, 2005). *Yersinia enterocolitica* e *Klebsiella* sp. são encontradas geralmente em produtos cárneos após contato destes com material fecal, água ou utensílios contaminados.

Já no grupo das gram-positivas encontram-se *Staphylococcus* sp. que estão presentes na microbiota da pele e nas mucosas dos seres humanos, sendo que o *S. aureus* produz toxinas termoestáveis, responsáveis por toxinoses alimentares *Bacillus* sp. e *Clostridium* sp. são formadores de esporos e comuns no solo, na água, no ar e na vegetação, sendo os *Clostridium* sp. também encontrados no trato intestinal de animais e seres humanos. O *C. perfringens* tipo A produz uma enterotoxina, sobretudo em produtos cárneos moídos e cozidos (KONEMAN et al., 2001; LE LOIR, BARON & GAUTIER, 2003).

Além destes micro-organismos, considera-se importante a realização do método da Contagem Total de Aeróbios Mesófilos em Placas (CTP), que fornece estimativa do número total de bactérias aeróbias no alimento, em vez de determinado micro-organismo (NASCIMENTO & NASCIMENTO, 2000). Este método tem sido utilizado como um dos indicadores microbiológicos para avaliar a qualidade dos alimentos com base em sua condição sanitária. A contagem da população microbiana capaz de crescer como colônias visíveis sob as condições testadas laboratorialmente é estimada em Unidades Formadoras de Colônias por grama de alimento (UFC/g) (ELLIOTT, 1980).

As bactérias aeróbias mesófilas não são usadas na avaliação dos riscos de toxinfecções alimentares, porém constituem um dos mais seguros grupos de bactérias indicadoras de qualidade microbiológica (CARVALHO, 1995). A contagem microbiana no produto final reflete a qualidade da matéria-prima, a eficácia dos métodos de limpeza e desinfecção na indústria de processamento, tipo de manipulação, tempo e temperatura usada durante a produção, transporte e/ou estocagem do alimento (SANT'ANA, CONCEIÇÃO & AZEREDO, 2002). Pode ser utilizada na detecção dos pontos de contaminação durante o processamento, fornecendo noção sobre determinadas alterações incipientes do alimento, além de estimar a vida de prateleira do produto (ELLIOT, 1980; MORTON, 2001).

É possível visualizar, que a melhor maneira de se avaliar a segurança do alimento envolve a contagem do número de colônias de bactérias presentes na amostra. A CTP foi criada para esta finalidade, sendo o método mais usado mundialmente para determinar a qualidade sanitária de produtos alimentares (UCDAVIS, 1987).

Embora a legislação brasileira vigente (BRASIL, 2001) não estabeleça limite de tolerância para o número total de colônias de bactérias aeróbias mesófilas por grama de hambúrguer, tem sido observado que contagem acima de 10^5 UFC/g em carne moída fresca compromete o produto em relação à sua qualidade higiênico-sanitária (MORTON, 2001).

2.2.3 Composição de ácidos graxos

Comparado com outras fontes de gordura animal, o frango tem as mais altas quantidades de ácidos graxos insaturados, entre 65-68% (MOTTRAM, CROSSMAN & EVERSLED, 2001; LEE & FOGLIA, 2000). O teor de ácidos graxos poli-insaturados da carne de frango também tem sido relatado por ser mais alto do que o de outras carnes, incluindo ácidos graxos ômega 3, como o eicosapentaenóico (C20:5) e docosahexaenóico (C22:6) (JAHAN, PATERSON, & SPICKETT, 2004; VALSTA, TAPANAINEN & MANNISTO, 2005; FERIOLI & CABONI, 2010). Porém, devido às altas concentrações de ácidos graxos poli-insaturados, a carne de frango apresenta problemas relacionados com a oxidação lipídica (RACANICCI et al., 2008). Os principais ácidos graxos saturados da carne são o palmítico (C16:0), o esteárico (C18:0) e o mirístico (C14:0). O ácido oléico (C18:1) é o monoinsaturado mais abundante, seguido do palmitoléico (C16:1). Os ácidos linoléico (C18:2), linolênico (C18:3) e araquidônico (C20:2) são os principais poli-insaturados (RHEE et al., 1988).

Estudos de intervenção nutricional têm reforçado a restrição de consumo de ácidos graxos saturados (AGS) e colesterol dietéticos (devido a altas concentrações de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e colesterol sérico, um fator de risco para as doenças do coração) e o aumento do consumo de ácidos graxos essenciais, especialmente da família ômega 3, na redução de risco de doença cardiovascular (ALMEIDA, 2002; POTENÇA et al., 2010). Portanto, uma alta razão de ácidos graxos insaturados/ saturados na dieta pode ser desejável, pois poderia diminuir a susceptibilidade do indivíduo às doenças cardiovasculares, coronarianas e cerebrais (LAWRIE, 2005).

A composição em ácidos graxos da carne de frango é uma combinação da deposição direta de ácidos graxos através da dieta, com a síntese endógena de lipídeos (CORTINAS et al., 2004), onde a formação de óxidos de colesterol, as alterações na composição de ácidos graxos e a consequente formação de compostos voláteis provenientes da oxidação lipídica, são um dos responsáveis pela perda de qualidade e das características nutricionais durante o processamento e o armazenamento da carne de frango (MARIUTTI & BRAGAGNOLO, 2009).

Portanto, para se tentar controlar a oxidação dos ácidos graxos é necessário que seja limitada a quantidade e a disponibilidade de oxigênio em contato com o alimento, o grau de insaturação dos ácidos graxos, a presença de metais e enzimas, ativadores como a luz e o aporte energético em geral (HAMILTON, 1994).

2.2.4 Oxidação lipídica

Os produtos da oxidação lipídica são indesejáveis não somente pela modificação das características organolépticas, mas também pela destruição de constituintes essenciais, ocasionando o decréscimo do valor nutricional da carne e a formação de compostos tóxicos para o organismo humano (malonaldeídos e óxidos de colesterol) tornando-o impróprio para o consumo (KAHL & HILDEBRANDT, 1986; SOUZA, 2006; PADILHA, 2007; BRUM, 2009; YUNES, 2010).

A oxidação se inicia logo após a morte do animal e está relacionada com a formação de radicais livres. Os principais substratos envolvidos na oxidação são os ácidos graxos poli-insaturados que compõem os fosfolipídeos das membranas celulares e triacilgliceróis (SOARES et al., 2009; ALMEIDA et al., 2012). O desenvolvimento da reação oxidativa agrava-se durante o armazenamento da carne de frango mesmo sob congelamento, pois, enquanto as reações deteriorativas (microbiológicas e enzimáticas) podem ser inibidas com o emprego de baixas temperaturas, a oxidação lipídica ocorre normalmente a temperaturas baixas, embora numa velocidade reduzida, além disso, este processo destrói as membranas intracelulares, diminuindo a suculência e o peso da carcaça (MELTON, 1983; GRAU et al., 2000; GARDINI, 2001; GOMES et al., 2003).

Predominantemente, os lipídeos encontrados na carne de frango são os triglicerídeos, podendo também apresentar pequenas quantidades de monoglicerídeos, diglicerídeos e ácidos graxos livres, estando acumulados em quantidades microscópicas no interior das células musculares, geralmente localizadas nos tecidos conectivos (COBOS et al., 1994). O processo de oxidação inicia-se na ligação carbono-hidrogênio adjacente à dupla ligação da cadeia de carbono, podendo ser catalisado por um grande número de fatores, especialmente

ambientais (umidade, calor, luz e oxigênio), presença de metais (cobre, ferro e manganês), de enzimas e de pigmentos (ADAMS, 1999).

A auto-oxidação pode ser explicada em três fases: iniciação, propagação e terminação. O radical hidroxila (HO^\bullet) é provavelmente o radical livre mais importante para a iniciação do processo de oxidação nos tecidos animais, uma vez que ele pode rapidamente remover um átomo de hidrogênio do ácido graxo insaturado (ADAMS, 1999). Os principais alvos do radical hidroxila são os lipídeos, especialmente os ácidos graxos insaturados da membrana celular, as proteínas e o DNA (COMBS, 1998).

Os ácidos graxos insaturados da membrana celular são muito suscetíveis aos radicais livres. Sua estrutura química permite a retirada de um átomo de hidrogênio de um dos grupos $-\text{CH}_2-$ da cadeia carbônica, e a consequente formação de um radical livre de carbono, iniciando assim, o processo de peroxidação lipídica. Estes radicais de carbono, que são instáveis e suscetíveis ao oxigênio molecular, reestruturam-se rapidamente na forma de dienos conjugados, dando origem ao radical peroxila (retirada de um átomo de hidrogênio de outro ácido graxo insaturado intacto, propagando a reação em cadeia até que todo o ácido graxo insaturado da membrana seja completamente oxidado a hidroperóxido).

Os hidroperóxidos são degradados na presença de metais como Cu^{+2} e Fe^{+2} em estado livre (íons) ou ligados a proteínas (ex.: mioglobinas), liberando radicais que dão sequência à cadeia de reações de oxidação, e outros produtos de clivagem (ex.: malonaldeídos). Acredita-se que esta degradação oxidativa dos ácidos graxos insaturados da membrana fosfolipídica leve a mudanças físico-químicas que resultem em disfunções da membrana celular (COMBS, 1998).

A autooxidação termina quando todo o oxigênio estiver esgotado ou houver formação de compostos inativos, onde dois radicais se combinam com produtos estáveis (produtos secundários da oxidação) obtidos por cisão e rearranjo dos peróxidos (BERGER & HAMILTON, 1995; SILVA et al., 1999). Isto caracteriza a terceira e última etapa do processo de oxidação, denominado "terminação". Estes compostos conferem ao alimento sabores e odores desagradáveis que são característicos do ranço oxidativo.

2.2.5 Oxidação proteica

Produtos primários da oxidação lipídica (hidroperóxidos) e produtos secundários da oxidação lipídica (aldeídos e cetonas) podem reagir com proteínas, e causar a oxidação proteica (VILJANEN, 2005). O início da oxidação lipídica em sistemas cárneos acontece mais rapidamente do que a oxidação das proteínas musculares e, assim, radicais e hidroperóxidos formados a partir de lipídeos insaturados atacariam cadeias laterais susceptíveis de aminoácidos produzindo carbonilas (LUND et al., 2011; ESTÉVEZ, 2011). Alterações na susceptibilidade de substratos protéicos para com enzimas proteolíticas têm sido consideradas como a maior causa para a baixa digestibilidade das proteínas e por isso, menor valor nutricional das proteínas oxidadas (LUND et al., 2011).

A carbonilação é uma modificação não enzimática e irreversível de proteínas que envolvem a formação de grupos carbonilas induzida pelo estresse oxidativo e outros mecanismos. A determinação de grupos carbonil nas proteínas oxidadas tem se tornado um dos métodos bioquímicos mais utilizados na investigação do dano oxidativo protéico (REZNICK & PACKER, 1994; ESTÉVEZ, 2011). A oxidação direta das cadeias laterais de aminoácidos como lisina, arginina, treonina e prolina tem sido destacada como o principal caminho para a oxidação proteica. A abstração de um átomo de hidrogênio de um carbono vizinho a um grupo amino por espécies reativas de oxigênio leva à formação de um radical carbono. Posteriormente, formas oxidadas de íons metálicos como ferro e cobre aceitam esse elétron do radical carbono, formando um grupo imino, o qual é espontaneamente hidrolisado formando o aldeído correspondente (LUND et al., 2011; ESTÉVEZ, 2011).

Portanto, o uso de substâncias para preservar e estender o “shelf-life” (tempo de prateleira) dos alimentos é essencial, os quais podem derivar de fontes comerciais e sintéticas até os mais exóticos compostos isolados naturalmente dos alimentos (FINLEY & Jr, 1986; ADEGOKE, 1998). Porém, devido à possível toxicidade dos antioxidantes sintéticos e à demanda atual por produtos mais saudáveis, o uso de antioxidantes naturais representa uma alternativa na prevenção da oxidação lipídica e proteica em carne de frango (SELANI, 2010).

2.3 Antioxidantes naturais

O uso de antioxidantes naturais para reduzir a oxidação não é um conceito novo e os estudos nesta área vêm desde meados de 1980 (RHEE et al., 1988). A partir do início dos anos 80, o interesse em encontrar antioxidantes naturais para o emprego em produtos alimentícios aumentou consideravelmente, uma vez que os antioxidantes sintéticos podem causar várias patologias como aumento do peso do fígado e significativa proliferação do retículo endoplasmático (POKORNY, 1991; ZHENG & WANG, 2001; MELO & GUERRA, 2002; YILDIRIM, 2001). Além disso, a utilização dos antioxidantes naturais tem como vantagens a aceitação imediata do consumidor e sua utilização não é limitada pela legislação.

Os antioxidantes naturais retardam as alterações oxidativas e a rancificação dos alimentos, onde seus mecanismos de ação ocorrem pela doação de hidrogênio, doação de elétrons ou pela formação de um complexo entre lipídeo e o anel aromático do antioxidante (CARVALHO, 2005). Produtos conhecidos como fitoquímicos, extraídos de plantas, tem demonstrado possuir potencial para preservação de alimentos. Neste sentido estudos tem comprovado propriedades antimicrobianas e antioxidantes de extratos obtidos de plantas (HSIEH, MAU & HUANG, 2001; WONG & KITTS, 2006; ALMEIDA et al., 2008). Alguns experimentos tem avaliado o efeito de extratos de plantas contra alterações microbianas e oxidativas em produtos cárneos (MILANI et al., 2001; TERRA et al., 2008), sendo que a importância dos compostos fenólicos nesta atividade foi destacada (ASOLINI, TEDESCO & CARPES, 2006).

Os compostos dos antioxidantes naturais têm sido isolados de diferentes partes de plantas tais como sementes, frutas, folhas e raízes, podendo funcionar como agentes redutores, inibidores de radicais livres, quelantes ou sequestrantes do oxigênio singlete e como desativadores de metais pró-oxidantes (PRATT, 1992; RICE-EVANS et al., 1995; KAHKONEN et al., 1999). As plantas têm excelentes propriedades antioxidantes, onde os constituintes fenólicos podem reter ou retardar o início da oxidação lipídica, influenciando tanto na decomposição de hidroperóxidos nos alimentos, como também, em tecidos animais (WETTASINGHE & SHAHIDI, 1999). Nota-se que a aplicação de antioxidantes naturais tem abrangido toda a

cadeia de produção de carnes, não se restringindo apenas aos produtos finais (DURAN & PADILLA, 1993; PEREIRA, 2009).

Também se tem estudado o uso de extratos e óleos essenciais de plantas incorporados às dietas animais com intuito de promover melhor desempenho e melhor qualidade da carne obtida a partir destes animais (AMADOR, 2013). Extratos herbais podem estimular as enzimas digestivas, aumentar a digestibilidade e absorção de nutrientes, possuir atividade antibacteriana e atividade antioxidante (KAMEL, 2000; BOTSOGLOU et al., 2002; UTIYAMA, 2004). O potencial antioxidante dos óleos essenciais está relacionado à presença de compostos fenólicos, flavonóides e terpenóides em sua estrutura química, que podem interceptar e neutralizar os radicais livres, impedindo a propagação do processo oxidativo (TRAESEL et al., 2011). Além disso, os antioxidantes naturais devem ser usados preferencialmente, misturados às matérias-primas, pois são mais eficazes do que quando adicionados no produto final.

2.3.1 Folhas de oliveiras (*Olea europaea* L. variedade *Ascolano*)

A oliveira é classificada como uma árvore de porte médio, que apresenta troncos contorcidos e robustos, folhas persistentes, com aspecto lanceolado, e frutos pequenos, com formatos que variam de elipsoidal a globosos (CRUZ et al., 2012). Algumas oliveiras costumam viver durante centenas de anos, sendo a alta longevidade uma de suas características (DÍEZ et al., 2011). Isso se deve principalmente ao fato das oliveiras serem muito resistentes as alterações de temperatura, adaptando-se bem em regiões que apresentam verões quentes e secos e invernos frios e úmidos (EPAMIG, 2002; VILLA & OLIVEIRA, 2012).

Em todo o mundo existem mais de 200 variedades de oliveiras, sendo que, muitas vezes, variedades idênticas possuem nomes distintos dependendo da região em que são cultivadas (CABALLERO, 2012). A capacidade das oliveiras em sintetizar substâncias farmacologicamente ativas, encontradas tanto nos frutos quanto no azeite e folhas, tem sido explorada há muito tempo. Na antiguidade, já se conhecia a capacidade das folhas de oliveira em curar infecções bacterianas, viróticas e fúngicas, quando eram utilizadas na forma de chás (EL & KARAKAYA,

2009). Também se utilizavam as folhas como emplastos para auxiliar a cicatrização de ferimentos (PACETTA, 2012). Atualmente, tem sido relatado na literatura que os extratos das folhas de oliveiras apresentam ação antioxidante, hipotensiva, hipoglicemiante, hipouracêmica, entre outras (BENAVENTE-GARCÍA et al., 2000). Essas atividades estão relacionadas principalmente com o elevado teor de compostos fenólicos presentes nas folhas (KIRITSAKIS et al., 2010).

Com sua alta capacidade antioxidante e alto conteúdo de polifenólicos, o extrato de folhas de oliveiras exerce efeito contra a formação dos radicais livres, que são os precursores das reações de oxidação lipídica. Os principais compostos fenólicos das folhas de oliveiras são a oleuropeína, seguido por hidroxitiroso, que podem ter muitos efeitos benéficos na saúde humana. Além disso, as suas biodisponibilidades são elevadas e não apresentam efeitos tóxicos, podendo ser adicionados aos alimentos que serão expostos a níveis elevados de O_2 (ERBAY & ICIER, 2010).

Também são encontradas, em menores concentrações, outras substâncias, como tiroso, ácido cafeico, ácido *p*-cumarínico, ácido vanílico, vanilina, luteolina, rutina, verbascosídeo, luteolina-7-glucosídeo, apigenina-7-glucosídeo e diosmetina-7-glucosídeo (TASIOULA-MARGARI & OLOGERI, 2001). Essas substâncias apresentam elevada capacidade de sequestrar radicais livres, agindo como potentes antioxidantes, que poderiam ser utilizados em alimentos para prevenir a oxidação (principalmente de lipídeos), aumentando a vida útil dos produtos alimentícios (XYNOS et al., 2012). Alguns pesquisadores já utilizaram os compostos fenólicos presentes nas folhas com esse objetivo, aplicando-os no azeite de oliva e enriquecendo ainda mais esse produto (JAPÓN-LUJÁN & CASTRO, 2008; ACHAT et al., 2012). Além da utilização em produtos alimentícios, as folhas de oliveiras têm sido consideradas matéria-prima com potencial de utilização na alimentação de animais (MOLINA-ALCAIDE & YÁNEZ-RUIZ, 2008), colaborando também para a melhora na qualidade da carne, como foi demonstrado por Botsoglou et al. (2010) e Paiva-Martins et al. (2009), que relataram que o uso de folhas de oliveiras na alimentação animal promoveu redução da oxidação lipídica na carne.

Dimitrios (2006) observou que, os fenóis presentes nas folhas de oliveiras apresentaram atividade antimicrobiana frente a um amplo espectro de micro-

organismos e que melhoraram assim a vida de prateleira dos alimentos. Extratos de folhas de oliveiras foram testados quanto a sua atividade antimicrobiana frente a *B. cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus* (Gram +), *E. coli*, *Salmonella enteritidis* (KOUTSOUMANIS et al., 1998) e *C. albicans* e *C. neoformans* (fungos).

Mais recentemente compostos fenólicos extraídos de folhas de oliveiras apresentaram atividade antimicrobiana em relação a *Helicobacter pylori*, *Campylobacter jejuni*, *Staphylococcus aureus* (SUDJANA et al., 2009.), *Salmonella Enteritidis* (LEE & LEE, 2010).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Todo o processo de colheita e processamento das folhas de oliveiras, além da elaboração das dietas, seleção, criação, abate e desossa dos frangos, foram realizados por Marangoni (2013).

3.1 Carne de frango

Foram utilizadas carnes de fêmeas da raça Cobb as quais foram submetidas a três tipos de dietas: T1 (controle) sem adição de folhas de oliveiras, T2 com 5 g de folhas de oliveiras por kg de ração e T3 com 10 g de folhas de oliveiras por kg de ração. Os frangos foram abatidos aos 42 dias com peso médio de 2,3kg, sendo os peitos desossados e sem pele, congelados a -18°C em blocos e armazenados durante 120 dias.

3.2 Elaboração dos hambúrgueres

Após 120 dias de armazenamento, os blocos de carnes de peito de frangos foram transportados em caixas térmicas com gelo até a planta piloto de carnes do DTCA (Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos) da Universidade Federal de Santa Maria. Os blocos foram descongelados em refrigerador vertical Frost Free RFE38 (Electrolux do Brasil S.A) com temperatura de funcionamento de aproximadamente $7\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. Foi realizada a higienização de todos os utensílios e maquinários utilizados, com água, detergente neutro e álcool 70 °GL.

Foi desenvolvida uma formulação básica de hambúrguer de frango (controle), baseada nas determinações legais (BRASIL, 2000) e em estudos realizados por Terra (1998), Bomdespacho (2010) e Huber (2012). Os ingredientes utilizados na elaboração dos hambúrgueres estão apresentados na tabela 1. A variação na formulação ocorreu pelo uso do antioxidante eritorbato de sódio que foi adicionado nos hambúrgueres do tratamento T1 (controle), enquanto nos hambúrgueres

elaborados com carnes de peito de frangos suplementados com folhas de oliveiras (T2 e T3) não foi adicionado o eritorbato de sódio.

Tabela 1- Ingredientes utilizados na elaboração dos hambúrgueres de carnes de peito de frangos armazenados durante 120 dias a -18 °C.

Ingredientes (%)	T1 (controle)	T2	T3
Carne de frango	88,0	88,25	88,25
Água gelada	6,00	6,00	6,00
Sal (Azevedo Banto S.A. COM. IND.)	0,50	0,50	0,50
Proteína texturizada de soja Duplogel MF (Marsul Proteínas Ltda.)	4,00	4,00	4,00
Tripolifosfato de sódio ET- SBC- 210 (NUTRIFOS BR)	0,15	0,15	0,15
Eritorbato de sódio 70875 (INS 316) (Duas Rodas Industrial ®)	0,25	0	0
Condimento misto para cortes de aves 717/2 (IM027/14) (Duas Rodas Industrial ®)	1,00	1,00	1,00
Cebola em pasta (De Nez Produtos Alimentares Ltda.)	0,10	0,10	0,10
TOTAL	100,00	100,00	100,00

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na ração); T2 (5g de folhas de oliveiras/ Kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ Kg de ração).

Os ingredientes foram pesados separadamente em recipientes plásticos em balança digital de carga máxima de 5 kg (Toledo Exata II SC). Posteriormente, as carnes de peito foram cortadas ao meio e retirou-se a gordura aderente. As carnes foram moídas em moedor modelo PJ22 (Indústria Jamar Ltda.- Tupã/ SP- Brasil), sendo utilizado disco com abertura de 5 mm de diâmetro (Figura 1A).

A carne moída e os ingredientes foram adicionados na misturadeira modelo MJI35 (Indústria Jamar Ltda.- Tupã/ SP- Brasil) (Figura 1B) conforme sequência indicada na tabela 1. Inicialmente adicionou-se a água (10 °C) e 50% da carne, misturou-se por 5 minutos e posteriormente adicionou-se o restante da carne e o sal, para melhor extração das proteínas miofibrilares. A cada 5 minutos foram adicionados os demais ingredientes totalizando 35 minutos, sendo que entre a elaboração de cada tratamento, a misturadeira foi higienizada.

Terminada a mistura dos ingredientes, a massa cárnea obtida foi colocada em uma embutideira manual modelo EJI-09 (Indústria Jamar Ltda.- Tupã/ SP- Brasil)

(Figura 1C) e embutida em tripa artificial de polietileno de 90 mm de diâmetro (Figura 1D), para melhor homogeneidade dos hambúrgueres. Após o embutimento, as peças foram colocadas em freezer horizontal DA550 (Metalfrio Solutions Ltda.- SP/ SP- Brasil) à -18°C (Figura 1E), durante 15 horas, para melhor fatiamento dos hambúrgueres. Transcorrido o tempo, as peças foram cortadas em fatiadeira série 062, nº 11261 (Máquinas Lo Pumo S. A.- Porto Alegre/ RS- Brasil) (Figura 1F), obtendo-se hambúrgueres com 1,5 cm de espessura e 6 cm de diâmetro.

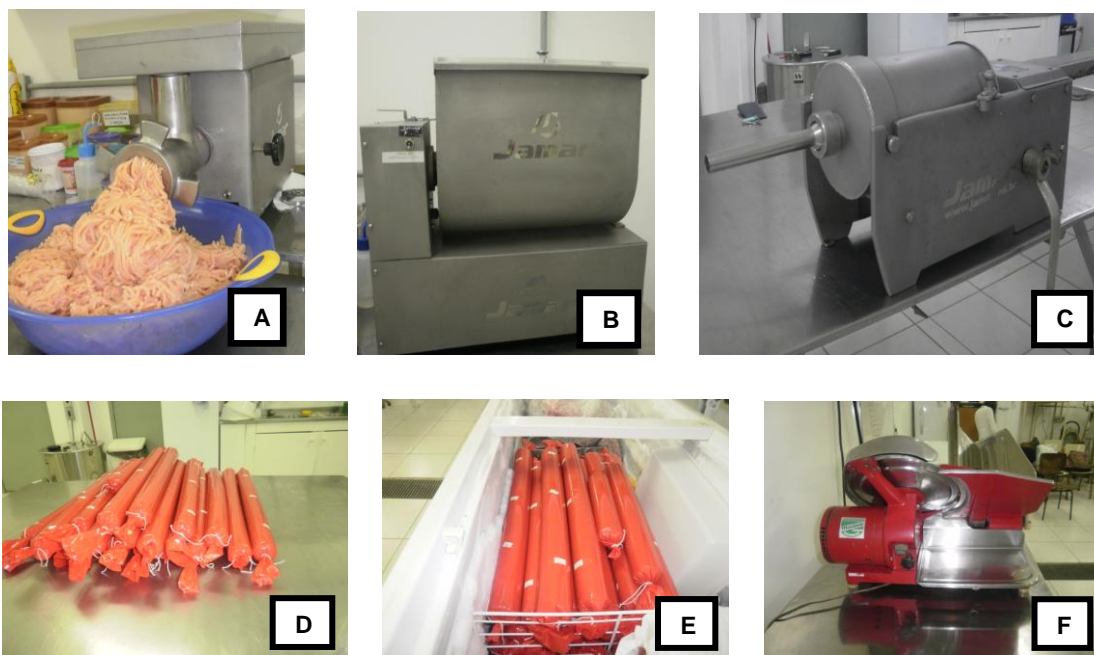


Figura 1- Seqüência de elaboração dos hambúrgueres com carnes de peitos de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveira na dieta. **A:** moedor; **B:** misturadeira; **C:** embutideira; **D:** massa cárnea embutida em tripa artificial de polietileno; **E:** peças com massa cárnea no freezer horizontal; **F:** fatiadeira. **G:** hambúrguer após o fatiamento; **H:** hambúrguer embalado.

Após o fatiamento foram retirados resquícos de tripa aderidos aos hambúrgueres que apresentaram peso médio de 36 gramas (Figura 2A), sendo posteriormente envoltos em sacos de Polietileno de Alta Densidade (PEAD) (Figura 2B) com 7,5 µm de espessura, baixa barreira ao oxigênio (>15 cm³/ m².dia) e alta barreira ao vapor de água (< 8 g/ (m².dia), fechados e armazenados a -18 °C em freezer vertical FE26/ 220V (Electrolux Brasil S.A.) durante 120 dias. As análises

físico-químicas e microbiológicas foram realizadas mensalmente em triplicata verdadeira.



Figura 2- Hambúrgueres com carnes de peitos de frangos fatiados e embalados.

3.3 Cozimento dos hambúrgueres

Foi realizado no Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análises Laboratoriais (NIDAL) do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos (DTCA) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Os hambúrgueres crus foram retirados do freezer e deixados 30 minutos em temperatura (23 ± 4 °C) antes do cozimento. Procurou-se retirar do hambúrguer cru a alíquota necessária para realização das análises do produto cru, e o restante foi para o cozimento para se obter os resultados do produto cozido.

As amostras foram colocadas sobre um grill com fundo antiaderente GBZ120V 220V (Copyright© 2009 Appllica Consumer Products, Inc.) (Figura 3A) não untado, para que nenhum produto causasse interferência nos resultados, até atingirem temperatura interna de 85 °C. Utilizou-se a temperatura de 85 °C para se observar se os compostos das folhas de oliveiras continuariam presentes nos hambúrgueres propiciando um produto com melhor qualidade para o consumidor. Durante o cozimento, manteve-se o grill aberto para melhor controle da temperatura de cozimento, sendo que os hambúrgueres ficaram cozinhando durante 50 minutos.

A temperatura de cozimento foi controlada através de um termômetro digital de penetração com termo-par Thermocouple Type K (Digi-Sense®) (Figura 3B), inserido no sentido horizontal até o centro da amostra, sendo o mesmo constantemente inserido em cada pedaço revezando entre si. Quando a amostra atingiu 50 °C no seu interior, o hambúrguer foi virado para que o cozimento fosse

homogêneo. Após o cozimento, os hambúrgueres foram deixados em repouso atingindo temperatura interna de 65 °C, e cortados em pedaços menores (1,0 cm comprimento x 0,5 cm largura) para facilitar a homogeneização das amostras durante as análises.

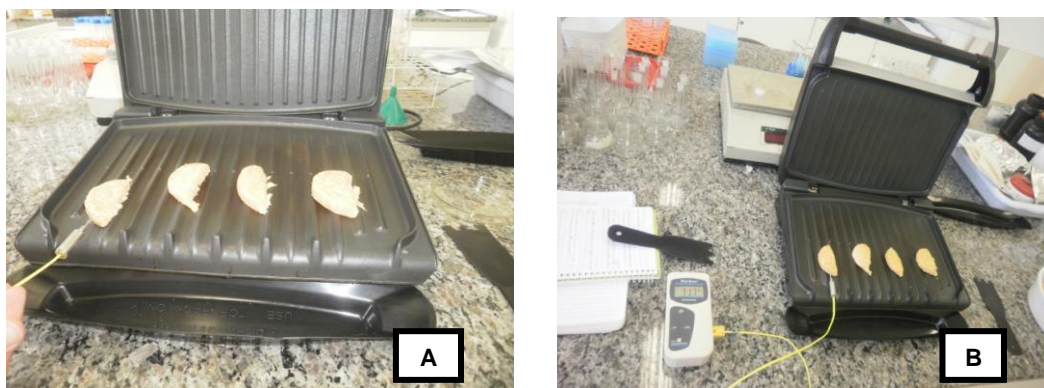


Figura 3- Cozimento dos hambúrgueres de carnes de peitos de frangos suplementados com folhas de oliveira na dieta. **A**: cozimento dos hambúrgueres em grill com fundo antiaderente; **B**: medição da temperatura interna de cozimento dos hambúrgueres.

3.4 Análises físico-químicas e microbiológicas

Foram realizadas nas carnes utilizadas para a elaboração dos hambúrgueres, após descongelamento em refrigerador vertical Frost Free RFE38 (Electrolux do Brasil S.A) com temperatura de funcionamento de aproximadamente $7\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ durante 24 horas, e nos hambúrgueres congelados a -18 °C que foram descongelados por 30 minutos na temperatura de $23 \pm 4\text{ °C}$ até atingir temperatura interna de -4 °C .

Na figura 4 é apresentado o esquema das análises físico-químicas e microbiológicas das carnes de peitos de frangos e dos hambúrgueres armazenados a -18 °C .

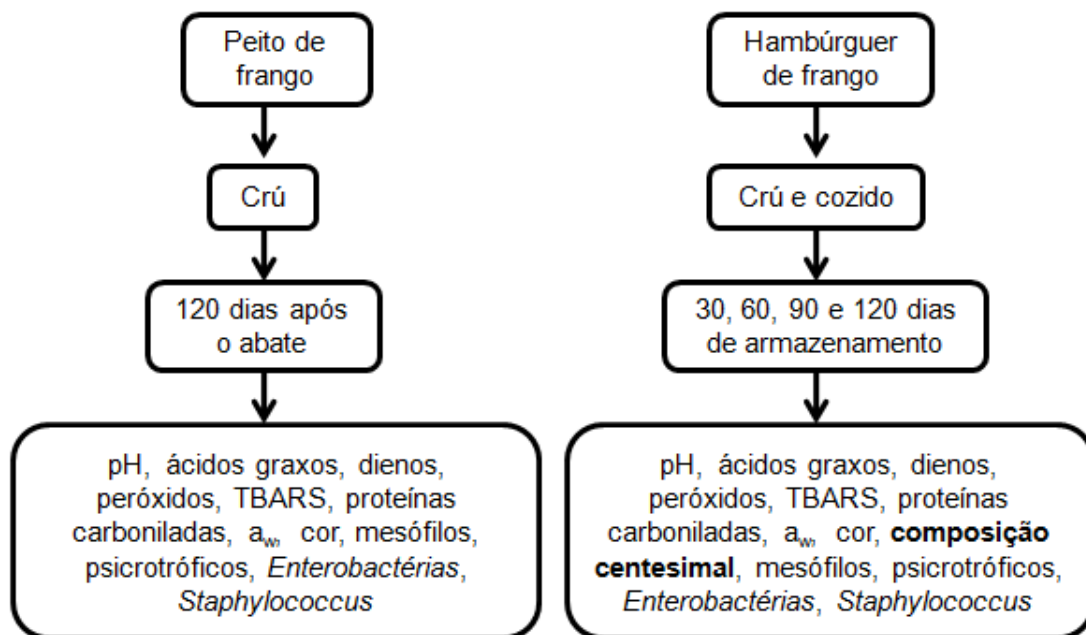


Figura 4- Esquema das análises físico-químicas e microbiológicas realizadas nas carnes de peito de frangos após 120 dias de armazenamento a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, e dos hambúrgueres elaborados e armazenados durante 120 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3.4.1 pH

O pH foi determinado em potenciômetro Digimed (DM-20) com eletrodos de penetração modelo DME-CV2 (eletrodo tipo difusão). Três gramas de amostra foram pesadas em balança analítica AG 200 (GEHAKA, SP) diluídas em 30 mL de água destilada (TERRA & BRUM, 1988) e levadas ao turrax ULTRA 380 (Raker Solutions Ltda., POA- RS) durante 1 minuto na velocidade de 10000 rpm para melhor homogeneização.

Os recipientes com os tampões pH 4,0 e 7,0 foram retirados do refrigerador e colocados em béquer com água morna até atingirem $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, temperatura esta medida com termômetro de mercúrio tipo vareta (HG ® BRASIL). Após a calibração dos eletrodos, procedeu-se o início das leituras, sendo que após o término de cada leitura, os eletrodos foram enxaguados com água destilada e secos com algodão. As amostras apresentaram, no momento das leituras, temperatura de aproximadamente $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

3.4.2 Teor de gordura

A determinação de lipídeos foi realizada pelo método de Bligh & Dyer (1959) que consiste na extração da gordura da amostra em clorofórmio. Após a extração da fase clorofórmica, retirou-se com pipeta volumétrica 2 mL da extração em bquer de 50 mL previamente seco, e colocou-se em estufa a 105 °C por 2 horas. Transcorrido o tempo os béqueres foram colocados em dessecador onde permaneceram durante 30 minutos. Após, foram pesados e calculados o teor de gordura pela diferença de peso dos béqueres, sendo os resultados expressos em porcentagem.

Da mesma fase clorofórmica retirou-se 10 mL com pipeta volumétrica e colocou-se em tubos de ensaio que foram secos em bomba a vácuo Q355J (QUIMIS®), em banho-maria a 40 °C. Após o término da secagem, foram pesadas alíquotas de 0,01g de gordura para determinação de dienos conjugados e 0,05g de gordura para determinação de peróxidos.

3.4.3 Perfil de ácidos graxos

Da fase clorofórmica retirou-se com pipeta volumétrica 3,5 mL que foram colocados em tubos de ensaio 13mm x 100mm (diâmetro x comprimento). O clorofórmio foi evaporado em bomba à vácuo a 40 °C e então realizou-se a saponificação com a adição de 1mL de solução metanólica de hidróxido de potássio e permanência por 10 minutos em banho a 100 °C. Em seguida foi feita a esterificação através da adição de 3 mL de solução metanólica de ácido sulfúrico, seguida de mais 10 minutos em banho-maria a 100 °C e posterior recuperação dos lipídeos em hexano (HARTMAN & LAGO, 1973).

Utilizou-se cromatógrafo gasoso com detector de ionização em chama e injeção automática com amostrador Varian (GC-FID/ Varian Star 3400 CX) para a identificação e quantificação dos ácidos graxos. O gás utilizado foi o nitrogênio com vazão de 1,7 mL/ minuto, pressão de 15 psi; vazão *split* de 1:50; programação de temperatura de 50 °C (2 minutos), 180 °C (20 °C/ min.); 220 °C (3 °C/ min.); coluna (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) e temperaturas do injetor e detector de 230 °C.

Para a identificação dos ácidos graxos, foram realizadas comparações dos tempos de retenção dos analitos com o padrão Mix-37 FAME (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), e os resultados foram expressos em percentual da área total.

3.4.4 Dienos conjugados

Foram determinados de acordo com metodologia descrita por Recknagel (1984), a qual prevê a partir da alíquota de 0,01 g de gordura, obtida pelo método de Bligh & Dyer (1959), uma dissolução dos lipídeos livres de clorofórmio em 3 mL de ciclohexano e leitura em espectrofotômetro FEMTO Cirrus 8051 com cubeta de quartzo (1cm) em 232 nm contra o branco de ciclohexano. Os resultados de dienos conjugados foram expressos em Abs./ mg lipídeo/ mL de ciclohexano, conforme equação 1.

$$\text{Dienos Conjugados} = \left(\frac{A}{\text{Peso amostra}} \right) \times 3 \quad (1)$$

Sendo:

A= absorbância lida a 232 nm

Peso da amostra em mg

3.4.5 Peróxidos

Em 0,05g de gordura adicionou-se com micropipeta de 10-100 µL o volume de 50 µL de tiocianato de potássio e de sulfato ferroso, conforme Método Cd 8-53 (AOCS, 2003). A leitura da absorbância foi feita em espectrofotômetro JENWAY 6300 (JENWAY Ltda.) com cubeta de vidro em 500 nm, contra o branco contendo todos os reagentes, exceto a amostra, sendo zerado o espectro com solução de clorofórmio em metanol na razão de 7:3. Os valores de peróxidos foram expressos em miliequivalente de peróxidos/ kg de gordura, conforme equação 2.

$$\text{Índice de Peróxidos} = \frac{\left(\frac{A}{P} \right) \times 55,84}{1000} \quad (2)$$

Sendo:

A= absorvância lida a 500 nm

P= peso de gordura

55,84= massa atômica do Fe

3.4.6 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Para avaliar a extensão da oxidação dos lipídeos, realizou-se o teste das substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico, pesando-se 10 gramas da amostra, seguindo a metodologia descrita por Raharjo et al. (1992), homogeneizando a amostra em turrax ULTRA 380 (Raker Solutions Ltda., POA- RS) das amostras previamente à etapa da filtragem. Os tubos de ensaio contendo 1 mL do filtrado e 1 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,08M, foram aquecidos em banho-maria a 40 °C por 80 minutos (WANG et al., 2002) e após resfriarem foi realizada leitura em espectrofotômetro JENWAY 6000 (JENWAY Ltda.) em 531 nm.

Para determinar o fator de conversão foi utilizada uma curva com o padrão 1, 1, 3, 3- tetraetoxipropano (TEP) (1 mL de solução estoque diluído em 50 mL de água destilada), seguindo as mesmas condições de análise das amostras. A curva foi composta por 7 pontos de diferentes concentrações (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5). Para os cálculos da curva padrão, a concentração e a absorvância foram plotados no eixo x e y, respectivamente.

A equação da reta foi determinada por regressão linear, a partir da qual se obteve a concentração da amostra através do coeficiente angular da equação da reta. Os resultados do TBARS foram expressos em mg malonaldeído/ kg amostra utilizando a equação 3:

$$TBARS = \frac{\left[A \times F \times \text{peso amostra (g)} \right]}{10} \quad (3)$$

Sendo:

A= absorvância lida a 531 nm

F= fator calculado pela equação da reta (coeficiente angular)

3.4.7 Oxidação de proteínas

Foi determinado pelo método proposto por Levine et al. (1990), baseado na reação da dinitrofenilhidrazina (DNPH) com os grupos carbonil. Pesou-se em balança analítica AG 200 (GEHAKA, SP) 0,666g de amostra dos hambúrgueres crus em tubos falcons de 50 mL e adicionaram-se 10 mL de KCl 0,15M. As amostras foram homogeneizadas em turrax por 1 minuto, sendo levadas à centrífuga MTD III PLUS (Servylab Ltda.) a 3500 rpm por 15 minutos.

Da amostra homogeneizada foram retiradas alíquotas de 500 µL, sendo colocadas em tubos de ensaio (cada triplicata verdadeira tinha 5 tubos, sendo 2 com HCl e 3 com DNPH). Nos tubos com HCl (brancos), foram adicionados 2 mL de ácido clorídrico 2M, e nos demais tubos foram adicionados 2 mL de DNPH. Os tubos permaneceram no escuro por 1 hora, e a cada 15 minutos homogeneizados em agitador de tubos Vórtex Mixer (Coleman XH-C), para homogeneizar as amostras e ativar as reações.

Adicionou-se 2,5 mL de ácido tricloroacético 20 % (TCA), para precipitar as proteínas das amostras, feito novamente a homogeneização em agitador de tubos (vórtex) e levados à centrífuga 80- 2B (Edulab Ltda.) a 3500 rpm por 15 minutos. Foi feito o descarte do sobrenadante dos tubos, ficando somente com o pellet (proteína precipitada), fazendo-se 4 lavagens com etanol:acetato de etila (1:1), até sumir a cor amarela do pellet. Terminadas as lavagens, os tubos de ensaio foram invertidos e colocados em capela de fluxo laminar para evaporar o solvente. As amostras foram então redissolvidas em 1mL de guanidina, fazendo-se a homogeneização no

agitador de tubos (vórtex) até dissolver o pellet e as leituras feitas em espectrofotômetro JENWAY 6300 (JENWAY Ltda.) a 370nm.

A quantidade de proteínas carboniladas foi expressa em nmol carbonil/ mg proteína, utilizando um coeficiente de absorção de $2,2 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Nas amostras de hambúrguer cozido não foi possível realizar esta análise, uma vez que foram testadas pesagens maiores e não formou pellet, devido ter ocorrido uma grande desnaturação proteica no cozimento. O teor protéico foi determinado em espectrofotômetro FEMTO Cirrus 8051 com cubeta de quartzo (1 cm) em 280 nm, sendo utilizados apenas os tubos com os brancos (HCl 2M) (LEVINE et al., 1990).

3.4.8 Determinação da cor

Foi avaliada pelo sistema CIELAB usando o aparelho Minolta Chroma Meter CR-300, (MINOLTA, Osaka, Japão), sendo os resultados expressos em L* (luminosidade), a* (onde -a* representa direção ao verde e +a* direção ao vermelho), b* (onde -b* representa direção ao azul e +b* direção ao amarelo), com fonte iluminante D65, calibrado em placa padrão de porcelana branca. As amostras foram colocadas sobre um prato branco de cerâmica, e para cada tratamento, foi obtido um valor médio a partir de três leituras feitas intercaladas em cada lado do hambúrguer, totalizando seis leituras.

3.4.9 Composição centesimal

Foi realizada no hambúrguer crú aos 120 dias de armazenamento, sendo analisados umidade, cinzas e proteína conforme metodologia descrita pela Association Of Official Analytical Chemists (AOAC, 2005). O teor de gordura foi medido seguindo-se a metodologia de Bligh & Dyer (1959).

3.4.9.1 Umidade

Inicialmente as cápsulas de porcelana foram identificadas, colocadas numa bandeja de alumínio e levadas em estufa (Nova Ética) a 105 °C por 1 hora, para

retirar qualquer resquício de umidade. Posteriormente as cápsulas foram retiradas da estufa com auxílio de uma pinça, e colocadas em dessecador por 20-30 minutos para esfriar e fazer a pesagem da cápsula vazia. Pesou-se nas cápsulas 2 a 5 gramas de hambúrguer crú descongelado, levou-se novamente à estufa a 105 °C por 24 horas. Fez-se a retirada das cápsulas na estufa com auxílio de pinça, sendo colocadas em dessecador por 20-30 minutos e efetuada a pesagem. A porcentagem de umidade das amostras foi calculada através da equação 4.

$$\% \text{ Umidade} = \frac{\left[\text{Cápsula + amostra úmida} \right] - \left[\text{Cápsula + amostra seca} \right]}{\left[\text{Cápsula + amostra úmida} \right] - \text{Cápsula}} \times 100 \quad (4)$$

3.4.9.2 Cinzas

Finalizada as pesagens das cápsulas para determinação da % de umidade, com auxílio de uma pinça, as mesmas cápsulas foram colocadas na mufla HW 1000 (GP Científica Ltda.) a 500 °C por 24 horas. As cápsulas foram então colocadas em dessecador por 30 minutos e pesadas. A porcentagem de cinzas nas amostras foi calculada através da equação 5.

$$\% \text{ Cinzas} = \frac{\left[\text{Cápsula + cinzas} \right] - \text{Cápsula}}{\text{amostra úmida}} \times 100 \quad (5)$$

3.4.9.3 Proteína

Baseada na determinação de nitrogênio, obtido através do processo de digestão ácida pelo método Macro-Kjeldahl. Inicialmente identificou-se os tubos, pesando 0,5 gramas de amostra em papel, adicionando 10 mL de ácido sulfúrico e 3 gramas de mistura catalítica, levando ao bloco digestor (400 °C por 4 horas). Foram adicionados aos tubos 75 mL de água destilada e 3 gotas de fenolftaleína. Nos respectivos erlemmeyers foram adicionados 20 mL de ácido bórico 4% e 3 gotas de

um indicador de proteína (solução alcoólica de vermelho de metila 0,2% e solução de verde de bromocresol 0,2% - 1:5, respectivamente).

Colocou-se primeiramente o erlemmeyer no Kjeldahl, cuidando para que o coletor sempre estivesse submerso, e depois foi encaixado o tubo correspondente. Adicionou-se 40 mL de hidróxido de sódio (NaOH) para alcalinizar o meio, uma vez que o nitrogênio só é liberado em meio alcalino. A destilação ocorreu até o volume de 150 mL no erlemmeyer. Em seguida fez-se as titulações das amostras destiladas com HCl 0,1N, cessando até a amostra atingir coloração levemente rósea. A porcentagem de protídeos nas amostras foi calculada através da equação 6.

$$\% \text{ Protídeos} = \frac{\left[V \times f \times 0,0014 \times 6,25 \right] \times 100}{\text{Peso da amostra}} \quad (6)$$

Sendo:

V= volume gasto de HCl após a correção do branco (mL)

f= fator de correção do HCl 0,1N

6,25= fator de conversão da relação N/ proteína

3.4.10 Atividade de água (a_w)

A a_w foi determinada no equipamento Aqualab Drew Point Meter 4 Tev (© 2008-2012 Decagon Devices, Inc.), sendo feitas três leituras de cada triplicata. O aparelho foi ligado 15 minutos antes para estabilização. As amostras ficaram armazenadas nos recipientes plásticos fornecidos pelo fabricante do aparelho até a metade, tendo-se o cuidado de colocar as tampas dos recipientes até as amostras atingirem a temperatura ótima do aparelho ($25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$).

3.4.11 Análises microbiológicas

Foram preparadas três placas de cada diluição para todas as triplicatas verdadeiras, sendo as contagens expressas em \log_{10} UFC/ g (Unidades Formadoras de Colônia por grama de amostra). Devido os hambúrgueres terem aproximadamente

36 gramas, coletou-se 12,5 gramas das amostras que foram diluídas em 125 mL de água peptonada 0,1% (1:10), acondicionadas em sacos plásticos estéreis para posterior homogeneização em aparelho Stomacher modelo W (Bag Mixer ®) durante 1 minuto. As séries de diluições foram feitas em tubos pré-esterilizados contendo 9 mL de água peptonada 0,1%.

Os micro-organismos analisados foram bactérias mesófilas aeróbias totais, psicotróficas, *Enterobactérias* e *Staphylococcus* spp., conforme metodologia descrita em Brasil (2003). O número de colônias dos micro-organismos analisados e contados em contador de colônias eletrônico CP-600 PLUS (Phoenix Lufenco) foi multiplicado por 10, devido terem sido utilizadas placas de petri pequenas (6 cm de diâmetro) e inoculados 0,1 mL de amostra, e o resultado foi transformado em \log_{10} UFC/ g.

3.4.11.1 Bactérias mesófilas aeróbias totais

Pipetou-se 0,1 mL de cada diluição e depositou-se no fundo de placas de petri estéreis (semeadura em profundidade). Em seguida, foram adicionados aproximadamente 15 mL de Ágar para Contagem (PCA) fundido e resfriado até atingir temperatura de 45 °C. Após a homogeneização e solidificação do meio de cultura, as placas foram incubadas invertidas em estufa B50IGITAL (DeLeo Equipamentos) a 36 °C por 48 horas.

3.4.11.2 Bactérias psicotróficas aeróbias totais

Inicialmente foi adicionado em placas de petri estéreis aproximadamente 15 mL de PCA fundido e resfriado até atingir temperatura de 45 °C. Após a solidificação do meio, adicionou-se 0,1 mL de cada diluição e espalhou-se a alíquota com o auxílio de uma alça de Drigalski (semeadura em superfície). Em seguida as placas foram incubadas invertidas em refrigerador vertical Frost Free RFE38 (Electrolux do Brasil S.A) a 7 °C \pm 1 °C por 7 dias.

3.4.11.3 *Enterobactérias*

Pipetou-se 0,1 mL de cada diluição e depositou-se no fundo de placas de petri estéreis (semeadura em profundidade). Em seguida, foram adicionados aproximadamente 8 mL de Ágar Verde Vermelho Bile Glucose (VRBG) fundido e resfriado até atingir temperatura de 45 °C. Após a solidificação do meio, adicionou-se uma sobrecamada de 8 mL de VRBG. Em seguida as placas foram incubadas invertidas em estufa B50IGITAL (DeLeo Equipamentos) a 36 °C por 24 horas.

3.4.11.4 *Staphylococcus* spp.

Inicialmente foi adicionado em placas de petri estéreis aproximadamente 15 mL de Ágar Baird-Parker (BP) fundido e resfriado até atingir temperatura de 45 °C. Após a solidificação do meio, adicionou-se 0,1 mL de cada diluição e espalhou-se a alíquota com o auxílio de uma alça de Drigalski (semeadura em superfície). Em seguida as placas foram incubadas invertidas em estufa B50IGITAL (DeLeo Equipamentos) a 36 °C por 48 horas.

3.5 Análise estatística dos resultados

Os resultados experimentais foram analisados através do programa estatístico STATISTICA versão 7.0, utilizando análise de variância (ANOVA) com nível de significância de 5%, e para detecção da diferença mínima entre as médias o teste de Tukey (StatSoft, Inc, Tulsa – OK, EUA).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análises físico-químicas

4.1.1 pH

Os valores de pH das carnes de peito de frangos suplementados com folhas de oliveiras na dieta e armazenados por 120 dias a -18 °C, encontram-se na tabela 2.

Tabela 2- Valores de pH das carnes de peito de frangos suplementados com folhas de oliveiras na dieta armazenados por 120 dias a -18 °C.

Variável	T1	T2	T3
pH	5,9 ^A ± 0,16	5,8 ^A ± 0,07	5,9 ^A ± 0,09

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na ração); T2 (5g de folhas de oliveiras/ Kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ Kg de ração).

**Médias ± desvios padrões seguidos por letras maiúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente ($p > 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Logo após o descongelamento, as carnes pertencentes aos tratamentos T1 (controle), T2 e T3 apresentaram valores médios de pH de 5,9, 5,8 e 5,9 respectivamente, não diferindo significativamente ($p > 0,05$) entre si, indicando que as folhas de oliveiras não influenciaram sobre os valores de pH (Tabela 2). Quando da determinação do pH em filés de peito de frangos aos 2 e 20 dias de armazenamento a -18 °C, foram encontrados valores entre 5,7 e 5,8 (NUNES, 2003) e de 5,98 (GALARZ, 2008), respectivamente. Venturini, Sarcinelli & Silva (2007), afirmaram que carnes de peito de frangos devem apresentar pH 24 horas *post-mortem* entre 5,7 e 5,9. Sendo assim, no presente trabalho os valores de pH encontrados em todos os tratamentos mostraram que as carnes utilizadas na elaboração dos hambúrgueres estavam de acordo com os valores encontrados na literatura, mesmo após 120 dias de armazenamento a -18 °C (Tabela 2).

Os resultados também demonstraram o processo de seleção, criação, abate, processamento e congelamento, foram realizadas cuidadosamente dentro dos

princípios de Boas Práticas de Produção (BPP), sendo muito importante para manter a qualidade da matéria-prima utilizada, pois ao privilegiar a qualidade do ambiente de criação, abate e processamento e o bem-estar animal, conseqüentemente pode ser assegurada a eficiência produtiva e a qualidade do produto, com valores de pH entre 5,7 e 5,9 (VENTURINI, SARCINELLI & SILVA, 2007).

Na tabela 3 estão apresentados os valores de pH dos hambúrgueres crus e cozidos a 85 °C, elaborados com as carnes de peito de frangos suplementados com folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18 °C.

Tabela 3- Valores de pH nos hambúrgueres crus e cozidos a 85 °C, elaborados com carnes peito de frangos suplementados com folhas de oliveiras na dieta, armazenados durante 120 dias a -18 °C.

Hambúrguer crú			
Dias	T1	T2	T3
30	6,4 ^{Aa} ± 0,01	6,2 ^{Aa} ± 0,02	6,2 ^{Aa} ± 0,03
60	6,3 ^{Aa} ± 0,03	6,2 ^{Aa} ± 0,03	6,2 ^{Aa} ± 0,01
90	6,4 ^{Aa} ± 0,03	6,2 ^{Aa} ± 0,02	6,1 ^{Aa} ± 0,04
120	6,1 ^{Aa} ± 0,05	6,0 ^{Aa} ± 0,00	6,0 ^{Aa} ± 0,03
Hambúrguer cozido			
30	6,4 ^{Aa} ± 0,01	6,3 ^{Aa} ± 0,03	6,3 ^{Aa} ± 0,04
60	6,4 ^{Aa} ± 0,01	6,3 ^{Aa} ± 0,02	6,3 ^{Aa} ± 0,02
90	6,5 ^{Aa} ± 0,05	6,4 ^{Aa} ± 0,01	6,4 ^{Aa} ± 0,07
120	6,2 ^{Aa} ± 0,04	6,0 ^{Aa} ± 0,05	6,0 ^{Aa} ± 0,07

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na dieta); T2 (5g de folhas de oliveiras/ Kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ Kg de ração).

**Médias ± desvios padrões seguidos por letras maiúsculas/ minúsculas iguais nas colunas/ linhas não diferem significativamente (p> 0,05) entre si pelo teste de Tukey.

Quando analisados os valores de pH nos hambúrgueres crus ao longo do tempo, percebeu-se que os tratamentos não diferiram significativamente (p> 0,05) (Tabela 3). Contudo os hambúrgueres do tratamento T1 (controle) sempre apresentaram os maiores valores de pH, variando de 6,1 a 6,4. Os tratamentos T2 e T3 apresentaram valores de pH entre 6,0 e 6,2. Além disso, aos 120 dias de armazenamento o T1 (controle) e T2 apresentaram queda nos valores de pH (6,1 e

6,0 respectivamente), enquanto que no tratamento T3 esta redução ocorreu a partir do 90º dia de armazenamento (pH de 6,1) (Tabela 3).

A diminuição nos valores de pH pode ser devido a multiplicação de bactérias acidófilas, as quais não foram analisadas no presente estudo, que podem ter competido com a flora microbiana existente fazendo com que diminuísse o pH. Ao fazer a média dos valores de pH dos hambúrgueres crus, os tratamentos T1 (controle), T2 e T3 apresentaram pH de 6,30, 6,15 e 6,12, respectivamente. O maior valor de pH apresentado no T1 (controle) pode ser devido adição de eritorbato de sódio, pois além deste ingrediente ter apresentado pH de 7,49, o mesmo não foi adicionado nos tratamentos T2 e T3.

Quando o eritorbato de sódio foi misturado aos demais ingredientes da formulação como: sal (pH 6,33), polifosfato de sódio (pH 8,62), condimento (pH 6,07), cebola em pasta (pH 3,35) e proteína texturizada de soja (pH 7,80), a mistura dos mesmos resultou em pH médio de 7,52 (T1- controle). Já os tratamentos T2 e T3 a média de pH dos ingredientes misturados foi de 6,43.

Ao observar os valores de pH da carne *in natura* (Tabela 2) e dos hambúrgueres crus (Tabela 3), percebeu-se que a manipulação das carnes quando na retirada da gordura aderente aos filés de peito de frangos, a moagem, assim como a higienização dos equipamentos e utensílios utilizados, podem também ter contribuído para a variação nos valores encontrados após o processamento da carne, devido ter ocorrido aumento nos resultados de pH. Fato esse, que pode estar correlacionado com o número de colônias dos micro-organismos estudados, uma vez que após o processamento, também verificou-se aumento significativo no número de colônias, indicativo de problemas no processo e/ou ingredientes (SANT'ANA, CONCEIÇÃO & AZEREDO, 2002).

Ao analisar o número de colônias de bactérias (mesófilas aeróbias totais- Tabela 27, psicrótrólicas- Tabela 29, *Enterobactérias*- Tabela 31 e *Staphylococcus* spp.- Tabela 32), parece haver uma relação entre o maior número de colônias de bactérias com o maior valor do pH final, o que se justifica, pois quanto maior o número de colônias destas bactérias mais intensa é a sua atividade metabólica sobre o alimento, gerando compostos alcalinos que elevam o pH do meio (RANGEL, 2009).

Porém, embora os valores de pH dos hambúrgueres formulados com carnes contendo folhas de oliveiras (T2 e T3) tenham aumentado após o processamento da carne, os mesmos foram menores do que os valores encontrados por Selani (2010), que analisando hambúrgueres com carnes de coxas e sobrecoxas de frangos armazenados a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, encontrou pH médio de 6,52 em hambúrgueres armazenados durante 90 dias contendo extratos de cascas de uvas.

No entanto, percebeu-se no presente estudo que as folhas de oliveiras fornecidas via dieta aos frangos, tiveram melhor ação sobre os valores de pH do que o uso de extratos de cascas de uvas adicionados diretamente na carne, uma vez que apresentaram pH médio de 6,12 após 120 dias de armazenamento (Tabela 3), valor esse inferior ao encontrado por Selani (2010) (pH de 6,52). Além disso, Selani (2010) observou aumento nos valores de pH nos hambúrgueres com o antioxidante natural (cascas de uvas) em relação ao uso de antioxidante sintético (eritorbato de sódio), contrariando os resultados da presente pesquisa, pois os hambúrgueres com folhas de oliveiras apresentaram os menores valores de pH (Tabela 3).

Quando analisados os resultados dos hambúrgueres crus dentro de cada período de armazenamento, também se percebeu que os tratamentos não diferiram significativamente ($p > 0,05$) entre si. Porém, ressalta-se que os hambúrgueres contendo folhas de oliveiras (T2 e T3), sempre apresentaram os menores valores de pH em relação ao T1 (controle). Portanto, embora no presente estudo os valores de pH entre os tratamentos não tenham diferido significativamente ($p > 0,05$), o uso de folhas de oliveiras na ração de frangos pode ter influenciado mais os valores de pH nos hambúrgueres crus por terem apresentado os menores números de colônias de bactérias, uma vez que micro-organismos psicotróficos são produtores de proteases que elevam o pH devido à formação de aminas (TERRA & BRUM, 1988).

Comparando os valores de pH antes e após o cozimento (Tabela 3) os hambúrgueres pertencentes aos tratamentos T2 e T3 aumentaram os valores de pH após o cozimento até o 90º dia de armazenamento, atingindo valor máximo de 6,4. O tratamento T1 (controle), aos 30 dias manteve o pH igual quando comparado cru e cozido, porém aumentou ao longo do período, atingindo valor máximo de 6,5 aos 90 dias de armazenamento. Aos 120 dias somente os valores de pH do T1 (controle) aumentaram. Quando comparados os valores de pH dos hambúrgueres cozidos

dentro de cada período (Tabela 3), se observou que os hambúrgueres do tratamento T1 (controle) continuaram apresentando sempre os maiores valores de pH, e dos tratamentos T2 e T3 os menores valores, porém não diferiram significativamente ($p > 0,05$) entre si.

Selani (2010), encontrou pH médio de 6,56 em hambúrgueres com carnes de coxas e sobrecoxas de frangos cozidos a 72 °C contendo extrato de cascas de uvas aos 90 dias de armazenamento a -18 °C. No presente estudo, encontrou-se pH médio de 6,25 aos 120 dias de armazenamento a -18 °C em hambúrgueres elaborados com carnes de peito de frangos contendo folhas de oliveiras na dieta (T2 e T3) e cozidos a 85 °C. Mesmo que a presente pesquisa tenha utilizado diferentes matérias-primas, temperaturas de cozimento, ingredientes e 30 dias de armazenamento a mais em relação a Selani (2010), as folhas de oliveiras na ração de frangos mostraram-se mais eficazes no controle do pH do que o uso de extratos de cascas de uvas, pois no presente estudo os tratamentos T2 e T3 apresentaram menor valor de pH (6,25) quando comparado a Selani (2010) que encontrou pH de 6,56.

Além disso, pôde-se verificar que nos hambúrgueres cozidos a 85 °C (Tabela 3) os tratamentos T2 e T3 aumentaram em média 0,11 os valores de pH. Selani (2010) verificou aumento de 0,18 nos valores de pH após cozimento de 72 °C. Portanto, mesmo após temperatura de cozimento 13 °C superior a utilizada por Selani (2010), os hambúrgueres pertencentes aos tratamentos T2 e T3 apresentaram valores de pH inferiores aos valores encontrados nos hambúrgueres que continham extratos de cascas de uvas.

4.1.2 Composição de ácidos graxos

A quantidade de gordura e a composição de ácidos graxos influenciam diretamente na qualidade da carne e dos produtos cárneos, uma vez que quanto maior a quantidade de gordura e de ácidos graxos insaturados, maior será a susceptibilidade à oxidação (PADILHA, 2007). Devido a carne de peito de frango ter baixo teor de gordura, e na elaboração dos hambúrgueres ter-se retirado toda a pele e gordura aderente às carnes de peito, e não adicionado nenhum tipo de gordura, as

carnes utilizadas e os hambúrgueres elaborados apresentaram 2% de gordura. Portanto, os hambúrgueres foram considerados produtos “light” por terem teor de gordura inferior a 3% (BRASIL, 1998). Quanto à composição de ácidos graxos nas carnes, foram identificados 16 tipos os quais estão apresentados na tabela 4.

Tabela 4- Composição de ácidos graxos (%) nas carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenadas por 120 dias a -18 °C.

Ácido Graxo (%)	T1	T2	T3
C11:0 (undecanóico)	0,09 ^A	0,05 ^A	0,06 ^A
C14:0 (mirístico)	0,32 ^A	0,27 ^B	0,28 ^{AB}
C14:1 (miristoléico)	0,14 ^A	0,06 ^B	0,08 ^B
C16:0 (palmítico)	17,20 ^B	23,04 ^A	23,74 ^A
C16:1 (palmitoléico)	2,98 ^A	2,62 ^A	2,57 ^A
C17:0 (haptadecanóico)	0,05 ^A	0,03 ^A	0,02 ^A
C18:0 (esteárico)	7,34 ^A	7,31 ^A	7,41 ^A
C18:1n9 cis (oléico)	19,57 ^B	26,74 ^A	26,89 ^A
C18:2n6 cis (linoléico)	16,36 ^A	15,72 ^A	15,59 ^A
C18:3n3 (α- linolênico)	3,10 ^B	4,20 ^A	4,60 ^A
C18:3n6 (γ- linolênico)	2,00 ^B	2,54 ^A	2,77 ^A
C20:1 (eicosanóico)	0,57 ^A	0,55 ^A	0,59 ^A
C20:2 (eicosadienóico)	1,90 ^B	2,70 ^A	2,91 ^A
C20:3n6 (eicosatrienóico)	1,12 ^B	2,45 ^A	2,67 ^A
C22:6n3 (docosahexaenóico)	1,50 ^B	2,50 ^A	2,80 ^A
C24:1 (nervônico)	0,19 ^C	0,54 ^B	0,70 ^A
Total de saturados	25,00	30,70	31,51
Total de monoinsaturados	23,45	30,51	30,83
Total de poli-insaturados	25,98	30,11	31,34
Total de insaturados	49,43	60,62	62,17

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na ração); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Médias seguidas por letras maiúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente (p> 0,05) entre si pelo teste de Tukey.

Dentre os ácidos graxos (Tabela 4), os principais quantitativamente foram o ácido mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), palmitoléico (C16:1), esteárico (C18:0), oléico (C18:1n9 cis), linoléico (C18:2n6 cis), linolênico (C18:3n3), e eicosadienóico (C20:2). Os ácidos graxos palmítico, oléico e linoléico apresentaram as maiores

concentrações, sendo que os tratamentos T2 e T3 diferiram significativamente ($p < 0,05$) do T1 (controle) para os ácidos palmítico e oléico, diferença essa que pode ser explicada através do estudo de Cavalheiro (2013), que ao analisar folhas de oliveiras verificou presença de aproximadamente 25% do ácido palmítico e 20% do oléico.

Para o ácido linolênico os tratamentos T2 e T3 também apresentaram os maiores valores diferindo ($p < 0,05$) do T1 (controle). Cavalheiro (2013) quantificou que as folhas de oliveiras têm 41% do ácido linolênico, o que pode explicar as maiores concentrações encontradas nas carnes de peito de frangos que foram suplementados com folhas de oliveiras. Fazendo o somatório dos ácidos graxos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI), poli-insaturados (AGPI) e insaturados (AGI), percebeu-se que prevaleceu os ácidos graxos insaturados em relação aos saturados para todos os tratamentos, porém o T2 e T3 apresentaram as maiores concentrações (Tabela 4).

Comparando com os resultados encontrados por Padilha (2007), que analisou a influência do antioxidante natural de erva mate na suplementação de frangos e avaliou carnes de peito durante 120 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ percebeu-se que a carne, apresentou quantidade inferior de ácidos graxos saturados e insaturados e maior oxidação lipídica (TBARS). Estes resultados evidenciam que a inclusão de folhas de oliveiras na ração de frangos torna-se uma opção a ser considerada para obtenção de carnes com maior conteúdo qualitativo de ácidos graxos e maior estabilidade oxidativa, uma vez que os tratamentos T2 e T3 apresentaram maiores quantidades de ácidos graxos insaturados, além de oxidação lipídica (TBARS) sete vezes inferior ao reportado por Padilha (2007), mesmo após 120 dias de armazenamento a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

A composição média de ácidos graxos durante 120 dias de armazenamento a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ nos hambúrgueres crus e cozidos a $85\text{ }^{\circ}\text{C}$, elaborados com as carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta estão apresentados na tabela 5.

Tabela 5- Composição média de ácidos graxos (%) nos hambúrgueres crus e cozidos a 85 °C, elaborados com carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, durante os 120 dias de armazenamento a -18 °C.

Ácido graxo (%)	Hambúrguer crú			Hambúrguer cozido		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3
C11:0 (undecanóico)	0,01 ^B	0,04 ^B	0,09 ^A	0,01 ^B	0,02 ^B	0,07 ^A
C14:0 (mirístico)	0,30 ^A	0,27 ^A	0,28 ^A	0,25 ^A	0,23 ^A	0,26 ^A
C14:1 (miristoléico)	0,04 ^A	0,03 ^A	0,05 ^A	0,01 ^A	0,03 ^A	0,04 ^A
C16:0 (palmítico)	17,58 ^B	22,44 ^A	23,33 ^A	12,90 ^B	18,30 ^A	19,91 ^A
C16:1 (palmitoléico)	2,92 ^A	2,54 ^A	2,65 ^A	2,55 ^A	2,25 ^A	2,32 ^A
C17:0 (haptadecanóico)	0,01 ^B	0,02 ^B	0,07 ^A	0,01 ^B	0,03 ^{AB}	0,06 ^A
C18:0 (esteárico)	7,60 ^A	7,22 ^A	7,31 ^A	7,21 ^A	6,83 ^A	6,80 ^A
C18:1n9 cis (oléico)	19,32 ^B	26,31 ^A	26,73 ^A	15,03 ^C	23,00 ^B	23,83 ^A
C18:2n6 cis (linoléico)	15,91 ^A	15,85 ^A	15,90 ^A	13,94 ^A	13,79 ^A	14,00 ^A
C18:3n3 (α- linolênico)	3,00 ^C	4,10 ^B	4,80 ^A	2,80 ^C	3,70 ^B	4,50 ^A
C18:3n6 (γ- linolênico)	2,24 ^B	2,74 ^A	2,48 ^A	1,28 ^B	1,97 ^A	2,12 ^A
C20:1 (eicosanóico)	0,57 ^A	0,58 ^A	0,61 ^A	0,53 ^A	0,54 ^A	0,56 ^A
C20:2 (eicosadienóico)	1,94 ^B	2,88 ^A	2,97 ^A	1,45 ^B	1,89 ^{AB}	2,04 ^A
C20:3n6 (eicosatrienóico)	1,80 ^B	2,55 ^A	2,76 ^A	1,23 ^B	2,14 ^A	2,39 ^A
C22:6n3 (docosaheptaenóico)	1,61 ^B	2,70 ^A	2,99 ^A	1,15 ^B	2,44 ^A	2,52 ^A
C24:1 (nervônico)	0,10 ^A	0,07 ^A	0,06 ^A	0,07 ^A	0,05 ^A	0,04 ^A
Total de saturados	25,50	29,99	31,08	20,38	25,41	27,10
Total de monoinsaturados	22,95	29,53	30,10	18,19	25,87	26,79
Total de poli-insaturados	26,50	30,82	31,90	21,85	25,93	27,57
Total de insaturados	49,45	60,35	62,00	40,04	51,80	54,36

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na ração); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Médias seguidas por letras maiúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente ($p > 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Novamente, os principais ácidos graxos foram o mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), palmitoléico (C16:1), esteárico (C18:0), oléico (C18:1n9 cis), linoléico (C18:2n6 cis), linolênico (C18:3n3), e eicosadienóico (C20:1), embora tenham reduzido seus valores após o cozimento a 85 °C (Tabela 5). Também observou-se que os ácidos graxos que apresentaram as maiores concentrações foram o palmítico, oléico e linoléico, onde os tratamentos T2 e T3 diferiram significativamente ($p < 0,05$) do T1 (controle) para os dois primeiros ácidos graxos.

Conforme o estudo de Cavalheiro (2013), que determinou a composição de ácidos graxos de folhas de oliveiras, as mesmas têm aproximadamente 25% do ácido palmítico, 20% do oléico e 41% do linolênico. Portanto, devido as folhas de oliveiras terem em maior percentual estes ácidos graxos, verificou-se que os mesmos ficaram depositados nos tecidos e continuaram estando presentes em maiores concentrações mesmo após o processamento das carnes e elaboração dos hambúrgueres.

Ao fazer o somatório dos ácidos graxos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI), poli-insaturados (AGPI) e insaturados (AGI), novamente todos os tratamentos apresentaram maiores valores de ácidos graxos insaturados em relação aos saturados, onde os hambúrgueres com as carnes de peito de frangos suplementados com folhas de oliveiras na dieta (T2 e T3), continuaram apresentando as maiores concentrações (Tabela 5).

Na tabela 6 estão apresentados os ácidos graxos encontrados em maiores concentrações nos hambúrgueres crus elaborados com as carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados durante 120 dias a -18 °C.

Ao analisar os resultados, percebeu-se que os ácidos graxos palmítico, oléico e linolênico continuaram presentes sempre em maiores concentrações nos hambúrgueres dos tratamentos T2 e T3, diferindo significativamente ($p < 0,05$) do T1 (controle) durante todo o período de armazenamento. Porém, em relação ao ácido graxo palmítico (C16:0) os tratamentos T2 e T3 apresentaram quantidades superiores e significativas ($p < 0,05$) ao tratamento T1 (controle) até o 90º dia de armazenamento (Tabela 6).

Com relação aos ácidos mirístico (C14:0), palmitoléico (C16:1) e linoléico (C18:2n6 cis) os tratamentos não diferiram ($p > 0,05$) entre si (Tabela 6), o que pode ser devido as folhas de oliveiras serem ricas em ácido palmítico, oléico e linolênico (CAVALHEIRO, 2013). Portanto, o uso de folhas de oliveiras na dieta de frangos resulta em produtos benéficos à saúde, uma vez que são contêm ácidos graxos altamente ricos em ômega 3 (C18:3n3) (41%).

Tabela 6- Principais ácidos graxos (%) nos hambúrgueres crus elaborados com carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18 °C.

Dia	Ácido graxo	T1	T2	T3
30	C14:0	0,29 ^a	0,25 ^a	0,26 ^a
	C16:0	17,40 ^b	22,92 ^a	23,69 ^a
	C18:0	7,51 ^a	7,28 ^a	7,38 ^a
	C16:1	3,05 ^a	2,58 ^a	2,64 ^a
	C18:1	19,48 ^b	26,69 ^a	26,56 ^a
	C20:2	0,54 ^b	0,57 ^{ab}	0,60 ^a
	C18:2n6	16,42 ^a	15,85 ^a	15,63 ^a
	C18:3n3	0,28 ^c	0,40 ^b	0,47 ^a
60	C14:0	0,31 ^a	0,28 ^a	0,27 ^a
	C16:0	16,90 ^b	22,74 ^a	23,52 ^a
	C18:0	7,62 ^a	7,25 ^a	7,29 ^a
	C16:1	2,89 ^a	2,52 ^a	2,57 ^a
	C18:1	19,52 ^b	26,55 ^a	26,72 ^a
	C20:2	0,58 ^a	0,54 ^a	0,56 ^a
	C18:2n6	15,96 ^a	16,02 ^a	16,17 ^a
	C18:3n3	0,33 ^c	0,43 ^b	0,48 ^a
90	C14:0	0,32 ^a	0,29 ^a	0,31 ^a
	C16:0	17,60 ^b	22,15 ^{ab}	23,28 ^a
	C18:0	7,59 ^a	7,19 ^a	7,35 ^a
	C16:1	2,85 ^a	2,55 ^a	2,68 ^a
	C18:1	19,35 ^b	25,97 ^a	26,58 ^a
	C20:2	0,59 ^a	0,57 ^a	0,58 ^a
	C18:2n6	15,78 ^a	16,14 ^a	16,00 ^a
	C18:3n3	0,29 ^c	0,39 ^b	0,50 ^a
120	C14:0	0,29 ^a	0,27 ^a	0,28 ^a
	C16:0	18,44 ^a	21,97 ^a	22,85 ^a
	C18:0	7,68 ^a	7,17 ^b	7,24 ^{ab}
	C16:1	2,91 ^a	2,53 ^a	2,71 ^a
	C18:1	18,92 ^b	26,02 ^a	26,65 ^a
	C20:2	0,56 ^b	0,59 ^{ab}	0,61 ^a
	C18:2n6	15,47 ^a	15,38 ^a	15,81 ^a
	C18:3n3	0,32 ^c	0,41 ^b	0,49 ^a

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na ração); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Letras minúsculas iguais nas mesmas linhas, indicam que os tratamentos não diferiram significativamente ($p > 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Na tabela 7 estão listados os principais ácidos graxos encontrados nos hambúrgueres cozidos a 85 °C. Analisando os resultados da tabela 7, verificou-se que após o cozimento ocorreu redução nas concentrações de todos os ácidos graxos. Para os ácidos oléico (C18:1) e linolênico (C18:3n3), o comportamento foi o mesmo do que nos hambúrgueres crus, ou seja, os tratamentos T2 e T3 apresentaram quantidades significativamente maiores ($p < 0,05$) ao tratamento T1 (controle) durante todo o período analisado. Além disso, percebeu-se que os ácidos graxos oléico e linolênico foram mais resistentes à temperatura de 85 °C do que o C16:0, pois os tratamentos T2 e T3 sempre diferiram significativamente ($p < 0,05$) do T1 (controle).

Com relação ao ácido palmítico (C16:0), o mesmo não foi tão resistente à temperatura de 85 °C devido os tratamentos T2 e T3 terem diferido do T1 (controle) apenas no 30º dia de armazenamento. Esperava-se que o ácido palmítico presente nas folhas de oliveiras sempre resultasse em produtos com maior concentração devido as mesmas terem 20% desse ácido graxo. Porém o ácido palmítico presente nas folhas não foi capaz de manter os hambúrgueres cozidos dos tratamentos T2 e T3 com maior concentração em relação ao tratamento T1 (Tabela 7).

Portanto, pode-se dizer que o uso de folhas de oliveiras na suplementação de frangos e posterior elaboração de um produto cárneo cozido a 85 °C teve ótimos resultados sobre a qualidade de hambúrgueres, uma vez que grande parte dos ácidos graxos presentes nas folhas de oliveiras continuaram em maiores concentrações nos hambúrgueres, mantendo o produto benéfico à saúde mesmo após tratamento térmico, pois continuou tendo alta quantidade de ômega 3 (C18:3n3).

Além disso, observou-se que as folhas de oliveiras quando adicionadas à ração de frangos torna o produto com maior concentração de ácidos graxos poli-insaturados, dentre os quais o ácido oléico é conhecido por reduzir os níveis de colesterol e de proteínas de baixa densidade (LDL) (SIMOPOULOS et al., 1999). O ácido linolênico tem influência no funcionamento cerebral, e juntamente com o ácido linoléico é mencionado como ácido graxo essencial que auxilia na inibição da formação de câncer de mama e metástases (PADILHA & PINHEIRO, 2004).

Tabela 7- Principais ácidos graxos (%) nos hambúrgueres cozidos a 85 °C, elaborados com carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados durante 120 dias a -18 °C.

Dias	Ácido graxo	T1	T2	T3
30	C14:0	0,24 ^a	0,20 ^a	0,22 ^a
	C16:0	11,95 ^b	18,51 ^a	19,74 ^a
	C18:0	6,96 ^a	6,84 ^a	6,87 ^a
	C16:1	2,59 ^a	2,28 ^a	2,17 ^a
	C18:1	13,44 ^b	23,15 ^a	22,69 ^a
	C20:2	0,50 ^b	0,55 ^a	0,57 ^a
	C18:2n6	13,52 ^a	13,49 ^a	12,62 ^a
	C18:3n3	0,25 ^c	0,36 ^b	0,43 ^a
60	C14:0	0,27 ^a	0,23 ^{ab}	0,22 ^b
	C16:0	13,49 ^a	18,43 ^a	18,29 ^a
	C18:0	7,32 ^a	6,81 ^b	6,85 ^{ab}
	C16:1	2,37 ^a	2,09 ^a	2,23 ^a
	C18:1	14,24 ^b	23,37 ^a	23,71 ^a
	C20:2	0,55 ^a	0,50 ^b	0,54 ^{ab}
	C18:2n6	14,50 ^a	13,67 ^a	14,62 ^a
	C18:3n3	0,29 ^b	0,40 ^a	0,44 ^a
90	C14:0	0,27 ^a	0,25 ^a	0,26 ^a
	C16:0	14,45 ^a	18,50 ^a	18,24 ^a
	C18:0	7,29 ^a	6,85 ^a	6,83 ^a
	C16:1	2,54 ^a	2,29 ^a	2,37 ^a
	C18:1	15,68 ^b	22,25 ^a	24,38 ^a
	C20:2	0,55 ^a	0,53 ^a	0,54 ^a
	C18:2n6	13,91 ^a	13,72 ^a	14,19 ^a
	C18:3n3	0,27 ^c	0,34 ^b	0,48 ^a
120	C14:0	0,24 ^a	0,25 ^a	0,23 ^a
	C16:0	15,72 ^a	18,27 ^a	19,39 ^a
	C18:0	7,26 ^a	6,84 ^{ab}	6,67 ^b
	C16:1	2,69 ^a	2,34 ^a	2,51 ^a
	C18:1	16,78 ^b	23,08 ^a	24,56 ^a
	C20:2	0,53 ^b	0,57 ^{ab}	0,58 ^a
	C18:2n6	13,82 ^a	14,29 ^a	14,57 ^a
	C18:3n3	0,30 ^c	0,38 ^b	0,45 ^a

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na dieta); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Letras minúsculas iguais nas mesmas linhas, indicam que os tratamentos não diferiram significativamente ($p > 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

4.1.3 Dienos conjugados

A reação de oxidação lipídica é desencadeada pela abstração de um átomo de hidrogênio de uma molécula de ácido graxo (AG) devido à ação de um potente agente oxidante. O radical alquil (\bullet L) oriundo da molécula de AG é estabilizado por ressonância para um sistema de dienos conjugados (DC), se este AG for poliinsaturado (RAMALHO & JORGE, 2006). Os valores de dienos conjugados nas carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ estão apresentados na tabela 8.

Tabela 8- Valores de dienos conjugados (Abs./ mg lip./ mL ciclohexano) das carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta armazenados por 120 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Variável	T1	T2	T3
Dienos conjugados	$0,3448^A \pm 0,014$	$0,3547^A \pm 0,003$	$0,2935^B \pm 0,015$

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na ração); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Médias \pm desvios padrões seguidos por letras maiúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente ($p > 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

As carnes de peito de frangos utilizadas na elaboração dos hambúrgueres pertencentes ao tratamento T3 apresentaram o menor valor de dienos conjugados (0,2935 Abs./ mg lip./ mL ciclohexano), diferindo significativamente ($p < 0,05$) dos valores determinados nos tratamentos T1 (controle) e T2 (0,3448 e 0,3547 Abs./ mg lip./ mL ciclohexano, respectivamente) (Tabela 8). Paiva-Martins et al. (2009) ao avaliarem o teor de dienos conjugados em suínos suplementados com 5% e 10% de folhas de oliveiras na dieta, observaram aos 8 dias de armazenamento a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, que as folhas de oliveiras tiveram influência sobre a formação de dienos conjugados, pois os suínos que não receberam folhas de oliveiras (controle) apresentaram valores seis vezes superior aos demais tratamentos.

No presente estudo, percebeu-se que a suplementação com 10g de folhas de oliveiras por kg de ração (1,0%), foi mais eficiente no controle da formação inicial da oxidação lipídica do que quando utilizada 5g de folhas de oliveiras (0,5%), pois

mesmo após 120 dias de armazenamento as carnes do tratamento T3 apresentaram menores teores de dienos conjugados quando comparado aos demais tratamentos (Tabela 8).

Na tabela 9 estão apresentados os valores de dienos conjugados nos hambúrgueres crus e cozidos a 85 °C, elaborados com carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18 °C.

Tabela 9- Valores de dienos conjugados (Abs./ mg lip./ mL ciclohexano) em hambúrgueres crus e cozidos a 85 °C suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18 °C.

Hambúrguer crú			
Dias	T1	T2	T3
30	0,4182 ^{Ba} ± 0,03	0,3241 ^{Bb} ± 0,01	0,3013 ^{Ab} ± 0,06
60	0,4224 ^{Ba} ± 0,02	0,3122 ^{Bb} ± 0,04	0,2813 ^{Ab} ± 0,01
90	0,4856 ^{Aa} ± 0,03	0,3477 ^{ABb} ± 0,02	0,2885 ^{Ac} ± 0,02
120	0,5167 ^{Aa} ± 0,02	0,3960 ^{Ab} ± 0,02	0,2982 ^{Ac} ± 0,01
Hambúrguer cozido			
30	0,4546 ^{Ba} ± 0,01	0,3277 ^{Bb} ± 0,06	0,1903 ^{Bc} ± 0,01
60	0,5092 ^{Aa} ± 0,03	0,3804 ^{Ab} ± 0,01	0,2884 ^{Ac} ± 0,02
90	0,5284 ^{Aa} ± 0,02	0,3940 ^{Ab} ± 0,02	0,3002 ^{Ac} ± 0,05
120	0,4540 ^{Ba} ± 0,02	0,4039 ^{Ab} ± 0,01	0,3369 ^{Ac} ± 0,03

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na ração); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Médias ± desvios padrões seguidos por letras maiúsculas/ minúsculas iguais nas colunas/ linhas não diferem significativamente (p> 0,05) entre si pelo teste de Tukey.

Aos 30 dias de armazenamento a -18 °C, os hambúrgueres crus dos tratamentos T1 (controle), T2 e T3 apresentaram valores de dienos conjugados de 0,4182, 0,3241 e 0,3013 Abs./ mg lip./ mL ciclohexano, respectivamente (Tabela 9). Quando analisados os resultados ao longo do tempo, verificou-se que o tratamento T1 (controle) aumentou seus valores, apresentando valor máximo de 0,5167 Abs./ mg lip./ mL ciclohexano aos 120 dias de armazenamento.

Os tratamentos T2 e T3 reduziram seus valores de dienos conjugados aos 60 dias de armazenamento e aumentaram a partir do 90º dia. Além disso, verificou-se

que o tratamento T3 foi o mais estável, pois não diferiu significativamente ($p > 0,05$) ao longo do tempo, o que pode indicar que o uso de 10 gramas de folhas de oliveiras é mais eficaz no controle inicial da oxidação lipídica do que 5 gramas.

O aumento nos valores de dienos conjugados nos hambúrgueres crus em relação às carnes de frangos estaria associado ao manuseio quando da elaboração dos hambúrgueres, como fatiamento e moagem, que promovem o rompimento da integridade das membranas celulares, promovendo liberação de ferro, cobre, metais de transição e enzimas responsáveis pela degradação de gorduras e proteínas (MATHIAS, 2008). Além disso, carnes moídas apresentam maior susceptibilidade do que os cortes íntegros ao crescimento microbiano e aumento da rancidez (BRANEN, 1978).

Quando analisados os resultados dos hambúrgueres crus dentro de cada período (Tabela 9), os tratamentos T2 e T3 sempre apresentaram os menores valores de dienos conjugados diferindo significativamente ($p < 0,05$) do tratamento T1 (controle). Porém, a partir do 90º dia de armazenamento, os hambúrgueres pertencentes ao tratamento T2, embora tenham apresentado os menores valores em relação ao tratamento T1, passaram a diferir significativamente ($p < 0,05$) do tratamento T3, indicando que quanto maior a concentração de folhas de oliveiras por quilo de ração mais compostos fenólicos se terá para combater ou reduzir a etapa inicial da oxidação.

Após cozimento de 85 °C observou-se que os hambúrgueres pertencentes ao tratamento T3 aos 30 dias de armazenamento, reduziram os valores de dienos conjugados quando comparado ao hambúrguer crú no mesmo período, porém aumentou no restante do tempo de armazenamento (Tabela 9). Já o tratamento T1 (controle) aumentou os valores até o 90º dia de armazenamento, sendo que somente aos 120 dias reduziu os valores de dienos conjugados. O tratamento T2 foi o único que apresentou aumento nos valores durante todo o período de armazenamento após o cozimento a 85 °C.

O aumento nos valores de dienos conjugados pode estar relacionado ao efeito do tratamento térmico utilizado (85 °C), pois o calor favorece o aumento da etapa de iniciação da oxidação lipídica, com a formação dos radicais livres do ácido

graxo devido à retirada de um hidrogênio do carbono alílico na molécula do ácido graxo (RAMALHO & JORGE, 2006).

Ao ser observado que o T1 (controle) foi o único tratamento que reduziu os valores de dienos conjugados aos 120 dias de armazenamento, isto pode indicar início da decomposição de peróxidos e formação dos produtos secundários da oxidação (MELTON et al., 1994). Nos hambúrgueres dos tratamentos T2 e T3, os valores de dienos conjugados nunca diminuíram quando analisados somente os hambúrgueres cozidos a 85 °C ao longo do tempo (Tabela 9). Salienta-se que o aumento nos valores de dienos conjugados indica que a etapa inicial da oxidação continua ocorrendo, ou seja, a oxidação é menor nos hambúrgueres pertencentes aos tratamentos T2 e T3.

Analisando os resultados de dienos conjugados nos hambúrgueres cozidos a 85 °C entre si (Tabela 9), percebeu-se que os tratamentos T2 e T3 sempre apresentaram os menores valores, diferindo significativamente ($p < 0,05$) do T1 (controle). Quando comparado os valores de dienos conjugados nos hambúrgueres cozidos a 85 °C (Tabela 9) com a quantidade de ácidos graxos (Tabela 7), percebeu-se que embora os tratamentos T2 e T3 tenham maiores quantidades de ácido linolênico (C18:3n3), os mesmos apresentaram menores valores de dienos conjugados, indicando que as folhas de oliveiras protegeram mais o ácido linolênico da oxidação do que o eritorbato de sódio, uma vez que o C18:3n3 quando oxidados formam dienos conjugados. Portanto, as folhas de oliveiras continuaram apresentando melhor controle na etapa inicial da oxidação mesmo após tratamento térmico de 85 °C. Fato este, que pode ser devido à permanência de compostos fenólicos presentes nas folhas de oliveiras que têm elevado poder antioxidante.

4.1.4 Peróxidos

A adição de O₂ molecular a um radical •L produz um radical peróxil (•LOO) que tem o poder de abstrair outro hidrogênio de um AG, produzindo hidroperóxidos lipídicos (LOOH) e um novo radical •L (RAMALHO & JORGE, 2006). Os valores de peróxidos nas carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de

oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18 °C estão apresentados na tabela 10.

Tabela 10- Valores de peróxidos (mEq. perox./ kg amostra) das carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta armazenados por 120 dias a -18 °C.

Variável	T1	T2	T3
Peróxidos	0,0744 ^A ± 0,01	0,0651 ^B ± 0,01	0,0436 ^C ± 0,01

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na ração); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Médias ± desvios padrões seguidos por letras maiúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente ($p > 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

As carnes pertencentes aos tratamentos T2 e T3 apresentaram os menores valores 0,0651 e 0,0436 mEq perox./ kg amostra, respectivamente diferindo significativamente ($p < 0,05$) do tratamento T1 (controle) que apresentou 0,0744 mEq perox./ Kg amostra (Tabela 10). Soyer et al. (2010) ao analisarem carnes de peito de frangos armazenados a -18 °C por 6 meses, encontraram aos 180 dias de armazenamento 2 mEq perox./ kg amostra.

O resultado encontrado por Soyer et al. (2010) quando comparado ao presente trabalho, evidencia que no abate, congelamento e transporte, foram empregadas boas práticas de produção e de fabricação, uma vez que mesmo após 120 dias de armazenamento os valores encontrados foram bem inferiores. Além disso, o uso conjunto de folhas de oliveiras na ração de frangos resultou em melhor ação frente à formação de peróxidos.

Na tabela 11 estão apresentados os valores de peróxidos nos hambúrgueres crus e cozidos a 85 °C elaborados com as carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18 °C.

Tabela 11- Índice de peróxidos (mEq./ Kg amostra) em hambúrgueres crus e cozidos a 85 °C, elaborados com carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18 °C.

Hambúrguer crú			
Dias	T1	T2	T3
30	0,8117 ^{Aa} ± 0,0001	0,7329 ^{Ab} ± 0,0002	0,4026 ^{Bc} ± 0,0002
60	0,3402 ^{Da} ± 0,0005	0,2746 ^{Cb} ± 0,0003	0,2858 ^{Cb} ± 0,0003
90	0,6512 ^{Ba} ± 0,0003	0,5679 ^{Bb} ± 0,0001	0,4829 ^{Ac} ± 0,0001
120	0,4834 ^{Ca} ± 0,0002	0,3154 ^{Cb} ± 0,0001	0,3156 ^{Cb} ± 0,0002
Hambúrguer cozido			
30	0,3228 ^{Dc} ± 0,0002	0,5624 ^{Ca} ± 0,0005	0,4545 ^{Cb} ± 0,0001
60	0,6247 ^{Ba} ± 0,0002	0,3908 ^{Db} ± 0,0004	0,3493 ^{Db} ± 0,0001
90	0,3950 ^{Cc} ± 0,0003	1,4540 ^{Aa} ± 0,0003	0,5685 ^{Bb} ± 0,0004
120	0,9686 ^{Aa} ± 0,0003	0,8537 ^{Bb} ± 0,0001	0,6509 ^{Ac} ± 0,0002

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na ração); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Médias ± desvios padrões seguidos por letras maiúsculas/ minúsculas iguais nas colunas/ linhas, não diferem significativamente (p> 0,05) entre si pelo teste de Tukey.

Analisando os resultados dos hambúrgueres crus na tabela 11, observou-se que o tratamento T1 (controle) apresentou o maior valor 0,8117 mEq perox./ kg amostra aos 30 dias de armazenamento. Quando os resultados dos hambúrgueres crus são analisados ao longo do tempo, pôde-se verificar que o tratamento T3 apresentou seu maior valor aos 90 dias, e os tratamentos T1 (controle) e T2 aos 30 dias de armazenamento, evidenciando que as folhas de oliveiras, quando utilizadas em maior proporção (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração), foram mais eficientes no controle da oxidação secundária, pois o T3 demorou mais para atingir o valor máximo de peróxidos em relação aos demais tratamentos (Tabela 11).

Valores de peróxidos acima de 5 mEq/ kg gordura, indicam características sensoriais indesejáveis e já perceptíveis ao paladar, e valores acima de 10 mEq tornam o produto inadequado para o consumo, caracterizando um avançado processo de rancificação (FERRARI & KOLLER, 2001; FEDDERN et al., 2010). Portanto, os valores de peróxidos apresentados no presente estudo foram menores quando comparados aos citados por Ferrari & Koller (2001) e Feddern et al. (2010), o que torna possível observar que a oxidação lipídica ocorrida nos hambúrgueres

crus de carnes de peito de frangos não provocou danos à qualidade do produto (Tabela 11).

Quando comparados os resultados dos hambúrgueres crus dentro de cada período (Tabela 11), percebeu-se que os tratamentos T2 e T3, embora tenham aumentado seus valores após o processamento da carne (30º dia), que pode ser decorrente do tempo de mistura total da carne com os ingredientes ter propiciado aumento da temperatura, conseqüentemente propiciando aumento nos valores de peróxidos, os mesmos continuaram apresentando os menores valores, diferindo significativamente ($p < 0,05$) do tratamento T1 (controle). Com isso, pode-se dizer que, o uso de eritorbato de sódio (antioxidante sintético) no controle da oxidação lipídica mostrou ser menos eficaz do que as das folhas de oliveiras (antioxidante natural), confirmando que o uso de folhas de oliveiras na ração de frangos tem boa ação antioxidante mesmo após serem metabolizadas, ficando seus compostos aderidos aos tecidos e controlando a oxidação lipídica.

Após o cozimento dos hambúrgueres, os valores de peróxidos no tratamento T3 aumentaram quando comparado aos valores encontrados nos hamburgueres crus, atingindo o valor máximo de 0,6509 mEq de peróxido/ Kg amostra aos 120 dias de armazenamento (Tabela 11). O tratamento T2 apresentou comportamento semelhante ao do tratamento T3 a partir do 60º dia de armazenamento, onde ocorreu aumento de seus valores atingindo o valor máximo aos 90 dias (1,4540 mEq de peróxido/ kg amostra). No T1 (controle) os valores de peróxidos nos hambúrgueres cozidos variaram bastante quando comparados aos valores dos hambúrgueres crus ao longo do tempo, onde aos 60 e 120 dias de armazenamento aumentou os valores de peróxidos.

Comparando os valores de peróxidos dos hambúrgueres cozidos a 85 °C dentro de cada período (Tabela 11), o tratamento T3 sempre apresentou um dos menores índices. Portanto, após o cozimento a 85 °C as folhas de oliveiras continuaram apresentando efeito positivo no controle da oxidação lipídica, aumentando esse efeito com o aumento de folhas adicionadas na dieta (T3). Este efeito pode ser observado no tratamento T3 aos 120 dias de armazenamento, pois embora tenha aumentado seus valores no decorrer do tempo, o mesmo apresentou o menor valor de peróxidos. Portanto, esses resultados mostraram que o uso de

folhas de oliveiras na dieta (principalmente 10g) apresentou melhor ação antioxidante do que o uso de eritorbato de sódio, que é um antioxidante usualmente utilizado em produtos cárneos.

4.1.5 TBARS

As substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) são uma medida de produtos secundários originados na oxidação, e são principalmente aldeídos, carbonilos ou hidrocarbonetos, que contribuem na formação de aromas e sabores indesejáveis em carnes (IGENE et al., 1985). Os valores de TBARS nas carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18 °C estão apresentados na tabela 12.

Tabela 12- Valores de TBARS (mg MDA/ kg amostra) das carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta armazenados por 120 dias a -18 °C.

Variável	T1	T2	T3
TBARS	0,018 ^A ± 0,002	0,018 ^A ± 0,006	0,019 ^A ± 0,002

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na ração); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Médias ± desvios padrões seguidos por letras maiúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente ($p > 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Os valores de TBARS em todos os tratamentos não diferiram significativamente ($p > 0,05$) entre si, sendo que o valor médio foi de 0,018 mg MDA/ kg amostra (Tabela 12). Verma e Sahoo (2000), indicaram concentrações entre 1-2 mg MDA/ kg como valores limites para a detecção de ranço. Chouliara et al. (2008) determinaram valores de 3 mg MDA/ kg de carne que estariam associados com a rancidez oxidativa. Sendo assim, as carnes utilizadas na elaboração dos hambúrgueres estavam em ótimas condições, uma vez que apresentaram valores de MDA bem abaixo dos mencionados por Verna e Sahoo (2000) e Chouliara et al. (2008).

Teets e Were (2008) analisaram carnes de peito de frangos adicionadas de BHT durante 7 meses a -20 °C, encontrando valores de TBARS de 0,260 mg MDA/

kg de amostra aos 120 dias de armazenamento. As carnes utilizadas na elaboração dos hambúrgueres apresentaram valores de MDA quatorze vezes inferior dos encontrado por Teets e Were (2008), demonstrando que tanto as folhas de oliveiras na suplementação de frangos quanto o uso de eritorbato de sódio adicionado diretamente na carne, tiveram bom efeito no controle desta etapa da oxidação.

Aliado ao uso das folhas de oliveiras e eritorbato de sódio, o congelamento prolonga o tempo de conservação pela diminuição ou paralisação da deterioração causada por enzimas, agentes químicos ou micro-organismos (BEN, 1999). À medida que a temperatura é reduzida as reações físicas, químicas e bioquímicas que acarretam alterações nos produtos cárneos passam a ocorrer em baixa velocidade, apesar de não serem completamente paralisadas mesmo quando o alimento é armazenado a -30 °C (PAINE & PAINE, 1983).

Na tabela 13 estão apresentados os valores de TBARS nos hambúrgueres crus e cozidos a 85 °C, elaborados com as carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18 °C.

Tabela 13- Valores de TBARS (mg MDA/ Kg amostra) em hambúrgueres crus e cozidos a 85 °C, elaborados com carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados durante 120 dias a -18 °C.

Hambúrguer crú			
Dias	T1	T2	T3
30	0,023 ^{Ba} ± 0,001	0,020 ^{BCab} ± 0,001	0,017 ^{Bb} ± 0,002
60	0,024 ^{Ba} ± 0,001	0,017 ^{Cb} ± 0,002	0,018 ^{Bb} ± 0,002
90	0,024 ^{Ba} ± 0,004	0,023 ^{Ba} ± 0,003	0,021 ^{Ba} ± 0,003
120	0,117 ^{Aa} ± 0,003	0,109 ^{Ab} ± 0,003	0,103 ^{Ac} ± 0,002
Hambúrguer cozido			
30	0,026 ^{Ba} ± 0,001	0,023 ^{Bab} ± 0,0004	0,019 ^{Bb} ± 0,004
60	0,028 ^{Ba} ± 0,001	0,023 ^{Bb} ± 0,0009	0,019 ^{Bb} ± 0,003
90	0,030 ^{Ba} ± 0,001	0,024 ^{Bb} ± 0,0002	0,023 ^{Bb} ± 0,001
120	0,126 ^{Aa} ± 0,003	0,122 ^{Aab} ± 0,001	0,119 ^{Ab} ± 0,001

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na ração); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Médias ± desvios padrões seguidos por letras maiúsculas/ minúsculas iguais nas colunas/ linhas, não diferem significativamente (p< 0,05) entre si pelo teste de Tukey.

Verificou-se nos hambúrgueres crus que durante os 90 dias de armazenamento a -18°C , os valores de TBARS nos três tratamentos foram baixos e não diferiram significativamente ($p < 0,05$) quando analisados ao longo do tempo. Somente no 120° dia de armazenamento ocorreu o maior valor de TBARS em todos os tratamentos os quais diferiram significativamente ($p < 0,05$) dos períodos de armazenamento anteriores (Tabela 13). O desenvolvimento da rancidez oxidativa ocorre mesmo durante o armazenamento da carne de frango congelada, enquanto que as reações deteriorativas (microbiológicas e enzimáticas) podem ser inibidas com o emprego de baixas temperaturas (MELTON, 1983, GRAU et al. 2000, GOMES et al. 2003). Além disso, o aumento nos valores de TBARS aos 120 dias de armazenamento, pode ser devido os compostos fenólicos presentes nas folhas de oliveiras reduzirem sua ação sobre a oxidação lipídica.

Georgantelis et al. (2007) ao analisarem hambúrgueres de carne bovina adicionados de dois antioxidantes naturais (alecrim e quitosana) e armazenados por 120 dias a -20°C , encontraram valor de TBARS 4 vezes inferior ao tratamento controle. No presente estudo foi encontrado aos 120 dias de armazenamento valor de TBARS 1,1 vezes inferior ao T1 (controle), demonstrando que o uso de folhas de oliveiras na alimentação de frangos também apresentou efeito frente a oxidação lipídica, uma vez que mesmo terem sido utilizadas carnes de peito de frangos com 120 dias de armazenamento a -18°C para posterior elaboração dos hambúrgueres, verificou-se que as folhas tiveram ação antioxidante.

Analisando os resultados dos hambúrgueres crus dentro de cada período (Tabela 13), percebeu-se que o tratamento T3 sempre apresentou os menores valores, diferindo significativamente ($p < 0,05$) do tratamento T1 (controle) aos 30, 60 e 120 dias de armazenamento. O tratamento T2 diferiu ($p < 0,05$) do T1 (controle) aos 60 e 120 dias. Após o cozimento dos hambúrgueres (Tabela 13) os valores de TBARS em todos os tratamentos aumentaram, atingindo o maior valor aos 120 dias de armazenamento, onde os tratamentos T1 (controle), T2 e T3 apresentaram TBARS de 0,126, 0,122 e 0,119 mg MDA/ kg amostra, respectivamente. Este aumento estaria relacionado ao que também ocorreu nos hambúrgueres crus no mesmo período, e que em ambas as situações todos os tratamentos diferiram significativamente ($p < 0,05$).

Os resultados de TBARS dos hambúrgueres cozidos a 85 °C vão de encontro com o que Sheehy et al. (1993) obtiveram quando do cozimento de carne de peito e de coxa e sobrecoxa de frango, no qual os valores de oxidação aumentaram de 4 a 10 vezes. Botsoglou et al. (2002) ao submeterem carnes de peito de frangos ao cozimento de 85 °C, também verificaram aumento de 15 vezes nos valores de TBARS. Quando analisados os valores de TBARS dos hambúrgueres cozidos dentro de cada período (Tabela 13), pôde-se observar que embora tenha ocorrido aumento gradativo nos valores de TBARS devido o aquecimento dos hambúrgueres, os tratamentos T2 e T3 apresentaram sempre os menores valores. Porém, quanto maior a concentração de folhas de oliveiras (10 gramas por kg de ração) melhor foi a ação antioxidante, pois os hambúrgueres pertencentes ao tratamento T3 sempre diferiram significativamente ($p < 0,05$) dos valores do tratamento T1 (controle).

Selani (2010) ao analisar hambúrgueres elaborados com carnes de coxas e sobrecoxas de frangos armazenados por 9 meses a -18 °C e cozidos a 72 °C, encontrou valor médio de TBARS quatro vezes inferior nos hambúrgueres que continham extrato de cascas de uvas, quando comparados aos hambúrgueres do grupo controle. Comparando os resultados, mesmo que os hambúrgueres tenham sido submetidos a temperaturas maiores de cozimento, e terem sido utilizados cortes de frangos distintos, que podem influenciar nos resultados, percebeu-se que as folhas de oliveiras apresentaram bom efeito frente à oxidação lipídica, pois os valores de TBARS dos tratamentos T2 e T3, além de serem inferiores aos valores reportados por Selani (2010) foram 1,1 vezes menores do que o T1 (controle).

Este efeito frente à oxidação lipídica pode ser devido as folhas de oliveiras terem ácidos graxos insaturados ômega 3 e compostos fenólicos, os quais apresentam alto potencial antioxidante. Sendo assim, a inclusão de folhas de oliveiras na ração de frangos torna-se uma opção a ser considerada visando retardar a oxidação lipídica, e também por que os ácidos graxos insaturados são benéficos à saúde (PADILHA, 2007).

4.1.6 Oxidação proteica

Os valores de proteínas carboniladas nas carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18 °C estão apresentados na tabela 14.

Tabela 14- Valores de proteínas carboniladas (η mol carbonil/ mg proteína) das carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta armazenados por 120 dias a -18 °C.

Variável	T1	T2	T3
Proteínas carboniladas	0,602 ^A \pm 0,14	0,626 ^A \pm 0,01	0,637 ^A \pm 0,04

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na ração); T2 (5g de folhas de oliveiras/ Kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ Kg de ração).

**Médias \pm desvios padrões seguidos por letras maiúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente ($p > 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

As carnes utilizadas na elaboração dos hambúrgueres não diferiram significativamente ($p > 0,05$) entre si em relação aos valores de proteínas carboniladas, sendo T1 (controle) o tratamento que apresentou o menor valor com 0,602 η mol carbonil/ mg proteína (Tabela 14). Soyer et al. (2010) ao analisarem carnes de peito de frangos suplementados com dieta padrão durante 6 meses a -18 °C, encontraram aos 120 dias de armazenamento 1,5 η mol carbonil/ mg proteína, com aumento no valor de proteínas carboniladas ao longo do tempo, atingindo valor máximo de 1,9 η mol carbonil/ mg proteína aos 180 dias de armazenamento, em que o tempo de armazenamento teve grande impacto sobre a oxidação proteica da carne.

Já no presente estudo, percebeu-se que as carnes de peito de frangos utilizadas estavam em ótima qualidade, uma vez que apresentaram valores de proteínas carboniladas bem inferior ao valor encontrado por Soyer et al. (2010). Além disso, não se pode afirmar que o uso de folhas de oliveiras na suplementação de frangos foi mais eficaz do que o uso de eritorbato de sódio no controle da oxidação proteica das carnes de peito, uma vez que os tratamentos não diferiram ($p > 0,05$) entre si (Tabela 14). Portanto, o uso de eritorbato de sódio adicionado na carne e de folhas de oliveiras na ração são eficazes no controle da oxidação

proteica. No entanto, não se pode afirmar se o tempo de armazenamento influenciou os valores de proteínas carboniladas, uma vez que não foi realizado o acompanhamento da oxidação proteica logo após o abate.

Na tabela 15 estão apresentados os valores de proteínas carboniladas nos hambúrgueres crus elaborados com as carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18 °C.

Tabela 15- Valores de proteínas carboniladas (nmol carbonil/ mg proteína) nos hambúrgueres elaborados com carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados durante 120 dias a -18 °C.

Dias	T1	T2	T3
30	2,355 ^{Ba} ± 0,27	2,103 ^{Bab} ± 0,15	1,825 ^{ABb} ± 0,23
60	3,138 ^{Aa} ± 0,29	3,335 ^{Aa} ± 0,42	2,290 ^{Ab} ± 0,38
90	2,285 ^{Ba} ± 0,23	2,118 ^{Ba} ± 0,34	2,109 ^{Aa} ± 0,54
120	1,761 ^{Ca} ± 0,34	1,607 ^{Ca} ± 0,38	1,590 ^{Ba} ± 0,18

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na ração); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Médias ± desvios padrões seguidos por letras maiúsculas/ minúsculas iguais nas colunas/ linhas, não diferem significativamente (p> 0,05) entre si pelo teste de Tukey.

Após 30 dias de armazenamento, os hambúrgueres crus dos tratamentos T1 (controle), T2 e T3 apresentaram os valores de proteínas carboniladas de 2,355, 2,103 e 1,825 nmol carbonil/ mg proteína, respectivamente. Aos 60 dias, todos os tratamentos apresentaram aumento nos valores de proteínas carboniladas, e no 90º e 120º dia de armazenamento reduziram seus valores (Tabela 15).

O aumento nos valores de proteínas carboniladas aos 30 e 60 dias de armazenamento pode ser devido os produtos primários da oxidação lipídica (dienos conjugados- Tabela 9) terem reagido com as proteínas provocando assim aumento da oxidação proteica (KIKUGAWA, KATO & HAYASAKA, 1991). O fato de ter diminuído os valores de proteínas carboniladas aos 90 e 120 dias de armazenamento pode ser devido nos sistemas cárneos, quanto maior for a quantidade de produtos secundários da oxidação lipídica (TBARS- Tabela 13) significa que a formação de compostos carbonílicos oriundos da oxidação proteica ainda esta crescendo, e atingirão um nível maior algum tempo depois (ESTÉVEZ et

al., 2008; LUND et al., 2011). Observando a tabela 13 percebeu-se que aos 90 e 120 dias ocorreu aumento nos valores de TBARS e quando comparados aos resultados da tabela 15 ocorreu redução nos valores de proteínas carboniladas. Portanto parece haver uma relação entre os produtos secundários da oxidação e formação de compostos carbonílicos.

Analisando os valores de proteínas carboniladas dentro de cada período (Tabela 15), percebeu-se que o tratamento T3 apresentou os menores valores durante todo o período de armazenamento, porém diferiu ($p < 0,05$) dos demais tratamentos apenas aos 60 dias de armazenamento. Portanto, percebeu-se que as folhas de oliveiras utilizadas na suplementação de frangos, embora tenham apresentado em grande parte do tempo os menores valores de proteínas carboniladas, as mesmas não foram novamente mais eficazes do que o uso de eritorbato de sódio adicionado diretamente nas carnes.

4.1.7 Cor

Os valores da variável L^* (luminosidade) nas carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ estão apresentados na tabela 16.

Tabela 16- Valores de L^* (luminosidade) das carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Variável	T1	T2	T3
L^*	$49,29^A \pm 1,06$	$48,21^A \pm 1,98$	$50,11^A \pm 0,55$

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na ração); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Médias \pm desvios padrões seguidos por letras maiúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente ($p > 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

As carnes utilizadas na elaboração dos hambúrgueres pertencentes ao tratamento T3 apresentaram os maiores valores de luminosidade 50,11, porém não diferiram significativamente ($p > 0,05$) dos valores dos tratamentos T1 (controle) e T2

com L* de 49,29 e 48,21, respectivamente (Tabela 16). Silva (2012) ao analisar carnes de peito de frangos aos 3 dias de armazenamento a 5 °C, encontrou valor de L* de 53,59 e pH de 5,9. Comparando os resultados do presente estudo com os encontrados por Silva (2012), percebeu-se que tanto os resultados de luminosidade (Tabela 16) quanto os resultados de pH (Tabela 3) foram semelhantes, porém não se pode afirmar que as folhas de oliveiras dadas aos frangos influenciaram os valores de L* das carnes de peito de frangos, uma vez que os tratamentos não diferiram significativamente ($p > 0,05$) entre si (Tabela 16).

Na tabela 17 estão apresentados os valores de L* nos hambúrgueres crus e cozidos a 85 °C, elaborados com as carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18 °C.

Tabela 17- Valores da variável L* (luminosidade) em hambúrgueres crus e cozidos a 85 °C, elaborados com carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18 °C.

Hambúrguer cru			
Dias	T1	T2	T3
30	54,96 ^{ABa} ± 2,14	57,57 ^{Aa} ± 1,82	57,68 ^{Aa} ± 0,87
60	56,87 ^{Aa} ± 0,20	56,81 ^{Aa} ± 2,49	58,55 ^{Aa} ± 0,12
90	58,43 ^{Aa} ± 0,54	58,16 ^{Aa} ± 0,73	59,06 ^{Aa} ± 0,12
120	50,61 ^{Ba} ± 1,12	53,62 ^{Aa} ± 1,00	52,33 ^{Ba} ± 0,91
Hambúrguer cozido			
30	52,37 ^{Bb} ± 1,33	52,22 ^{Bb} ± 2,24	58,40 ^{Aa} ± 0,54
60	54,24 ^{ABa} ± 2,31	57,43 ^{Aa} ± 3,07	55,84 ^{Aa} ± 2,02
90	58,45 ^{Aa} ± 2,04	60,43 ^{Aa} ± 1,88	58,25 ^{Aa} ± 1,83
120	55,05 ^{ABb} ± 1,45	60,68 ^{Aa} ± 1,77	59,86 ^{Aab} ± 1,18

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na ração); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Médias ± desvios padrões seguidos por letras maiúsculas/ minúsculas iguais nas colunas/ linhas, não diferem significativamente ($p > 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Após 30 dias do processamento da carne e elaboração dos hambúrgueres crus, verificou-se que os tratamentos T2 e T3 apresentaram os maiores valores de L* (57,57 e 57,68, respectivamente) (Tabela 17). Analisando os resultados ao longo do tempo, pôde-se observar que aos 60 e 90 dias de armazenamento verificou-se

aumento nos valores de L* dos tratamentos T1 (controle) e T3. Já o tratamento T2 reduziu a luminosidade aos 60 dias, porém aumentou no 90º dia de armazenamento. Aos 120 dias de armazenamento ocorreu redução significativa ($p < 0,05$) nos valores de L* em todos os tratamentos (Tabela 17).

Quando comparados os valores de L* dos hambúrgueres crus dentro de cada período (Tabela 17), observou-se que embora o tratamento T3 tenha apresentado os maiores valores até o 90º dia de armazenamento, o mesmo não diferiu significativamente ($p > 0,05$) dos demais tratamentos em nenhum momento. Portanto, pode-se dizer que o uso das folhas de oliveiras na dieta dos frangos não influenciou os valores de L* nos hambúrgueres crus, uma vez que não diferiu significativamente ($p > 0,05$) do T1 (controle) em que não foram adicionadas folhas de oliveiras na dieta dos frangos (Tabela 17).

Além disso, devido os tratamentos T2 e T3 terem apresentado valores de L* acima de 53, que indicam coloração mais clara, esperava-se que os valores de L* fossem menores, pois as folhas de oliveiras têm coloração verde escuro. Selani (2010) ao analisar hambúrgueres com carnes de coxas e sobrecoxas de frangos armazenados a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 9 meses, afirmou que os antioxidantes naturais utilizados (cascas de uvas), embora tenham coloração bem intensa, também não afetaram a luminosidade dos hambúrgueres crus.

Após o cozimento dos hambúrgueres, analisando os tratamentos no decorrer do tempo (Tabela 17), percebeu-se que os tratamentos T1 (controle) e T3 mantiveram os valores da variável L* mais estáveis durante todo o período de armazenamento. Analisando os resultados de L* dos hambúrgueres cozidos a $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ dentro de cada período, percebeu-se que o tratamento T2 diferiu significativamente ($p < 0,05$) do T1 (controle) apenas aos 120 dias de armazenamento, e o tratamento T3 no 30º dia (Tabela 17).

Selani (2010) ao analisar hambúrgueres com carnes de coxas e sobrecoxas de frangos armazenados a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 9 meses e cozidos a $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ constatou que as cascas de uvas (antioxidante natural) promoveram alteração nos valores da variável L*, causando escurecimento nas amostras. Fato este que não ocorreu nos hambúrgueres elaborados com as carnes dos frangos alimentados com folhas de oliveiras e cozidos, uma vez que mantiveram-se estáveis ao longo do tempo e não

diferiram significativamente ($p > 0,05$) do T1 (controle) em grande parte do tempo (Tabela 17). Porém, a interferência ou não nos valores de luminosidade pode ser decorrente da intensidade da coloração do antioxidante natural utilizado na ração, além da coloração da carne utilizada já que a concentração de mioglobina pode variar. Como o estudo de Selani (2010) utilizou coxas e sobrecoxas de frangos que têm maior teor de mioglobina e cascas de uvas que são altamente ricas em antocianinas (pigmento responsável pela coloração vermelha), não se pode afirmar que as folhas de oliveiras tiveram mais influência na variável L^* do que as cascas de uvas.

Os valores da variável a^* (tendência ao vermelho) nas carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ estão apresentados na tabela 18.

Tabela 18- Valores de a^* (-a verde, +a vermelho) das carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Variável	T1	T2	T3
a^* (tendência ao vermelho)	$5,55^A \pm 0,54$	$5,09^A \pm 0,16$	$5,40^A \pm 0,29$

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na ração); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Médias \pm desvios padrões seguidos por letras maiúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente ($p > 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Os valores da variável a^* nas carnes de peito de frangos dos tratamentos T1 (controle), T2 e T3 não diferiram significativamente ($p > 0,05$) entre si, (Tabela 18). Silva (2012) ao analisar carnes de peito de frangos armazenados por 3 dias a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ adicionados de antioxidante sintético (eritorbato de sódio), encontrou a^* de 4,49. O congelamento não cessa as reações oxidativas nos alimentos, uma vez que oxida o ferro presente no pigmento mioglobina das carnes formando metamioglobina.

Portanto quanto maior for o valor de a^* menos oxidada estará a carne, o que enfatiza mais os resultados encontrados na presente pesquisa, pois ao usar temperaturas de congelamento ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) obteve-se valores de a^* superiores aos encontrado por Silva (2012). Além disso, devido as carnes de peito de frangos terem

apresentado pH (Tabela 2) entre 5,7 e 5,9, estes valores indicam que as carnes estavam em ótimas condições de consumo, resultando em valor de a* bom, uma vez que o pH tem influência sobre a cor da carne.

Na tabela 19 estão apresentados os valores de a* nos hambúrgueres crus e cozidos a 85 °C, elaborados com as carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18 °C.

Tabela 19- Valores da variável a* (tendência ao vermelho) em hambúrgueres crus e cozidos a 85 °C, elaborados com carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18 °C.

Hambúguer crú			
Dias	T1	T2	T3
30	7,37 ^{Ba} ± 0,26	6,84 ^{Cb} ± 0,13	6,67 ^{ABb} ± 0,21
60	6,92 ^{BCa} ± 0,23	7,14 ^{Ba} ± 0,12	6,90 ^{Aa} ± 0,05
90	8,13 ^{Aa} ± 0,45	7,94 ^{Aa} ± 0,83	7,01 ^{Ab} ± 0,18
120	6,66 ^{Ca} ± 0,02	6,53 ^{Ca} ± 0,05	6,29 ^{Ba} ± 0,03
Hambúguer cozido			
30	6,96 ^{Aa} ± 0,31	7,02 ^{Aa} ± 0,34	7,16 ^{Aa} ± 0,19
60	7,13 ^{Aa} ± 0,20	6,86 ^{Aa} ± 0,30	6,84 ^{Aa} ± 0,24
90	6,86 ^{ABa} ± 0,12	6,84 ^{Aa} ± 0,13	6,67 ^{Aa} ± 0,49
120	6,40 ^{Ba} ± 0,31	6,63 ^{Aa} ± 0,12	6,86 ^{Aa} ± 0,34

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na dieta); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Médias ± desvios padrões seguidos por letras maiúsculas/ minúsculas iguais nas colunas/ linhas, não diferem significativamente (p> 0,05) entre si pelo teste de Tukey.

Após 30 dias da fabricação dos hambúrgueres crus os tratamentos T1 (controle), T2 e T3 apresentaram valores de a* de 7,37, 6,84 e 6,67, respectivamente (Tabela 19). Aos 60 e 90 dias de armazenamento os tratamentos T2 e T3 aumentaram os valores de a*, sendo que somente o T3 não diferiu (p> 0,05) em relação aos períodos anteriores. O tratamento T1 (controle) reduziu o valor da variável a* aos 60 dias e aumentou no 90º dia de armazenamento, sendo que aos 90 dias diferiu (p< 0,05) em relação aos períodos anteriores. Aos 120 dias ocorreu redução na variável a* em todos os tratamentos, provavelmente devido ocorrer oxidação do pigmento mioglobina.

A oxidação do pigmento mioglobina pode catalisar a oxidação lipídica, assim como, os radicais livres produzidos durante este processo podem oxidar o átomo de ferro ou desnaturar a molécula de mioglobina, alterando a cor do produto cárneo (LOVE, 1983; JAKOBSEN & BERTELSEN, 2000; LYNCH & FAUSTMAN, 2000). Portanto ao comparar os resultados da variável a^* (Tabela 19) com os de TBARS (Tabela 13), percebeu-se que aos 120 dias aumentou a oxidação lipídica.

Quando analisados os resultados dos hambúrgueres crus dentro de cada período (Tabela 19), observou-se que os tratamentos T2 e T3 apresentaram os menores valores de a^* aos 30, 90 e 120 dias de armazenamento. Porém o T3 diferiu significativamente ($p < 0,05$) do T1 (controle) apenas aos 30 e 90 dias, e o T2 apenas no 30º dia, não podendo assim afirmar que as folhas de oliveiras foram melhores do que o uso de eritorbato de sódio com relação a manutenção da coloração vermelha. Selani (2010) analisando hambúrgueres com carnes de coxas e sobrecoxas de frangos armazenados a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 9 meses, concluiu que o antioxidante natural (cascas de uvas) não teve influência na variável a^* concordando com os resultados encontrados no presente estudo.

Após o cozimento dos hambúrgueres a $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Tabela 19) observou-se que os tratamentos T2 e T3 reduziram os valores de a^* aos 60 e 90 dias de armazenamento, sendo que aos 120 dias apenas o T3 aumentou os valores de a^* . Quando analisados os valores de a^* dos hambúrgueres cozidos dentro de cada período, verificou-se que os tratamentos não diferiram significativamente ($p > 0,05$) entre si, sugerindo que na temperatura de $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ as folhas de oliveiras não tiveram influência sob a variável a^* .

Relacionando os valores da oxidação lipídica (Tabela 13) com os valores de a^* (Tabela 19), observou-se que aos 120 dias de armazenamento os valores de TBARS nas amostras cozidas aumentaram e os valores de a^* dos tratamentos T1 (controle) e T2 diminuíram. Este acontecimento pode ser devido a interferência da oxidação lipídica sobre a oxidação do ferro presente na mioglobina das carnes. Selani (2010) concluiu que hambúrgueres com carnes de coxas e sobrecoxas de frangos adicionados de extratos de cascas de uvas, reduziram a intensidade da cor vermelha após cozimento a $72\text{ }^{\circ}\text{C}$. No presente estudo, observou-se que as folhas de oliveiras reduziram a intensidade da coloração vermelha nos hambúrgueres

cozidos a 85 °C apenas aos 60 e 90 dias de armazenamento, quando comparado com os valores dos hambúrgueres crus no mesmo período (Tabela 19).

Portanto, não se pode afirmar que as folhas de oliveiras permitiram maior redução sobre a intensidade da variável a* do que o uso de eritorbato de sódio, uma vez que embora tenha ocorrido aumento na produção de MDA aos 120 dias de armazenamento (Tabela 13), os valores da variável a* mantiveram-se praticamente constantes durante o decorrer do tempo em todos os tratamentos (Tabela 19).

Os valores da variável b* (tendência ao amarelo) nas carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18 °C estão apresentados na tabela 20.

Tabela 20- Valores de b* (-b azul, +b amarelo) das carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18 °C.

Variável	T1	T2	T3
b* (tendência ao amarelo)	2,43 ^B ± 1,28	5,31 ^A ± 2,22	4,90 ^A ± 2,78

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na ração); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Médias ± desvios padrões seguidos por letras maiúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente ($p > 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Analisando os resultados da tabela 20, percebeu-se que as carnes pertencentes aos tratamentos T2 e T3, diferiram significativamente ($p < 0,05$) dos valores do tratamento T1 (controle) por terem apresentado os maiores valores de b*, indicando que as folhas de oliveiras podem ter influenciado na coloração das carnes (Tabela 20). Silva (2012) ao analisar carnes de peito de frangos armazenados por 3 dias a 5 °C sem adição de antioxidantes naturais, encontrou valor médio da variável b* de 4,97. Ao comparar os valores de Silva (2012) com os da presente pesquisa, vê-se que as folhas de oliveiras tiveram bom efeito no controle da oxidação da variável b*, pois mesmo as carnes serem analisadas após 120 dias de armazenamento, o valor encontrado foi praticamente o mesmo que Silva (2012) encontrou aos 3 dias de armazenamento.

Na tabela 21 estão apresentados os valores da variável b* nos hambúrgueres crus e cozidos a 85 °C, elaborados com as carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18 °C.

Tabela 21- Valores da variável b* (tendência ao amarelo) em hambúrgueres crus e cozidos a 85 °C, elaborados com carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados durante 120 dias a -18 °C.

Hambúrguer crú			
Dias	T1	T2	T3
30	20,96 ^{Aa} ± 0,22	21,33 ^{ABa} ± 1,41	21,49 ^{Aa} ± 0,70
60	21,80 ^{Aa} ± 0,79	21,99 ^{Aa} ± 0,36	21,33 ^{Aa} ± 0,20
90	17,31 ^{ABa} ± 0,49	17,47 ^{ABa} ± 0,93	19,44 ^{ABa} ± 0,38
120	14,81 ^{Ba} ± 0,24	16,38 ^{Ba} ± 0,37	16,02 ^{Ba} ± 0,27
Hambúrguer cozido			
30	21,31 ^{Aa} ± 1,18	20,85 ^{Aa} ± 1,45	22,35 ^{Aa} ± 0,11
60	20,53 ^{Aa} ± 0,60	20,88 ^{Aa} ± 1,43	21,81 ^{Aa} ± 1,23
90	19,92 ^{Aa} ± 0,72	20,90 ^{Aa} ± 0,59	20,75 ^{Aa} ± 2,38
120	17,89 ^{Aa} ± 0,89	19,14 ^{Aa} ± 1,07	18,57 ^{Aa} ± 0,98

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na dieta); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Médias ± desvios padrões seguidos por letras maiúsculas iguais nas colunas, não diferem significativamente (p> 0,05) entre si pelo teste de Tukey.

Após 30 dias de armazenamento dos hambúrgueres crus, os tratamentos T2 e T3 continuaram apresentando os maiores valores para a variável b* (21,33 e 21,49, respectivamente) (Tabela 21). Analisando os resultados ao longo do tempo, o tratamento T3 foi o único que reduziu a variável b* no 60º dia de armazenamento. Aos 90 e 120 dias, todos os tratamentos reduziram os valores de b*. Quando analisados os resultados dos hambúrgueres crus dentro de cada período (Tabela 21), percebeu-se que os tratamentos não diferiram significativamente (p> 0,05) entre si, embora os tratamentos T2 e T3 em grande parte do período de armazenamento tenham apresentado os maiores valores de b*, indicando que as folhas de oliveiras presentes nas carnes podem ter influenciado os valores da variável b*, porém com menor intensidade.

Selani (2010) analisando hambúrgueres com carnes de coxas e sobrecoxas de frangos armazenados por 9 meses a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, concluiu que aos 270 dias as cascas de uvas (antioxidante natural) não influenciaram na variável b^* , resultado este diferente do presente estudo. Portanto, pôde-se verificar que as folhas de oliveiras tiveram mais influência na coloração das carnes, porém após a elaboração dos hambúrgueres seu efeito sobre a coloração diminuiu podendo ser devido a cor dos ingredientes adicionados na formulação de todos os hambúrgueres, tendo assim mais efeito sobre a coloração dos produtos. A diminuição da influência das folhas de oliveiras sobre a variável b^* é um ótimo resultado, pois mudanças na coloração de produtos cárneos podem causar rejeição do consumidor no momento da compra.

Após o cozimento dos hambúrgueres, os tratamentos não diferiram significativamente ($p > 0,05$) quando comparados ao longo do tempo e dentro de cada período (Tabela 21) indicando que mesmo após o processamento da carne e cozimento a $85\text{ }^{\circ}\text{C}$, as folhas de oliveiras não influenciaram na coloração dos hambúrgueres. Os resultados desta pesquisa foram diferentes dos encontrados por Selani (2010), que verificou interferência dos extratos de cascas de uvas quando adicionados no produto, sob a variável b^* após cozimento a $72\text{ }^{\circ}\text{C}$, pois reduziu os valores podendo ser devido à coloração escura das cascas. Portanto, o uso de folhas de oliveiras na ração e posterior elaboração de hambúrgueres teve bom desempenho sobre a variável b^* do que as cascas de uvas, indicando seu uso na suplementação de frangos.

4.1.8 Composição centesimal

Na tabela 22 estão apresentados os valores de umidade, cinzas, proteínas e lipídeos das amostras de hambúrgueres crus elaborados com carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, determinados aos 120 dias de armazenamento a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Analisando os resultados da tabela 22, percebeu-se que os hambúrgueres de todos os tratamentos não diferiram significativamente ($p > 0,05$) entre si em nenhuma das variáveis analisadas, tendo os mesmos apresentado valores médios de 71,17% (umidade), 1,82% (cinzas), 22,38% (proteína) e 1,57% (lipídeos).

Tabela 22- Composição centesimal dos hambúrgueres elaborados com carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, aos 120 dias de armazenamento a -18 °C.

Tratamento	Umidade (%)	Cinzas (%)	Proteína (%)	Lipídeos (%)
T1	70,22 ^A ± 0,10	1,84 ^A ± 0,05	22,17 ^A ± 0,22	1,28 ^A ± 0,06
T2	71,23 ^A ± 0,36	1,79 ^A ± 0,05	22,72 ^A ± 1,07	1,79 ^A ± 0,51
T3	72,07 ^A ± 0,35	1,82 ^A ± 0,03	22,26 ^A ± 0,74	1,65 ^A ± 0,11

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na dieta); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Letras maiúsculas iguais nas colunas indicam que os tratamentos não diferiram significativamente ($p > 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

A legislação brasileira menciona como critério de identidade e qualidade para hambúrguer o valor máximo de 23% de lipídeos, e mínimo de 15% de proteína (BRASIL, 2000). Portanto, os hambúrgueres elaborados no presente estudo ficaram dentro dos padrões mínimos de identidade exigidos na legislação, sendo considerados “light”, com relação ao teor de gordura, uma vez que apresentaram lipídeos totais inferior a 2%. Além disso, pelos conceitos atuais, um alimento para ser considerado saudável, deve apresentar baixo valor energético (40 kcal/ 100g) (BRASIL, 1998). Multiplicando o total de lipídeos por 9 e o total de proteínas por 4, determinou-se que os hambúrgueres apresentaram valor energético de 103, 65 kcal/ 100g, resultado este 2,6 vezes superior ao valor estabelecido de 40 kcal/ 100g, mesmo não sendo adicionado nenhuma fonte de gordura.

Em filés de peito de frangos Hollender, MacNeil & Mast (1987) e Kondaiah & Panda (1992) encontraram respectivamente, 72,5%-72,09% (umidade), 0,93%-1,21% (cinzas), 22,5%-23,07% (proteína) e 6,7%-3,42% (gordura). Comparando com os valores encontrados no presente estudo, verificou-se semelhança nos resultados, uma vez que os hambúrgueres elaborados foram compostos por 88% de carnes de peito de frangos. A única divergência encontrada foi em relação ao teor de gordura quantificado por Hollender, MacNeil & Mast (1987), devido os mesmos analisarem filés de peito de frangos com pele. Na presente pesquisa utilizou-se carnes de peito de frangos sem pele, e foi retirada a gordura aderente externa visando padronizar os hambúrgueres.

Selani (2010) ao analisar hambúrgueres com carnes de coxas e sobrecoxas de frangos armazenados a -18 °C por 9 meses encontrou 75,11% de umidade, 2,23% de cinzas, 16,90% de proteínas e 3,67% de lipídeos. Se fossem utilizadas carnes de coxas e sobrecoxas de frangos, teriam-se hambúrgueres com teores maiores de gordura, uma vez que coxas e sobrecoxas de frangos precisam de uma reserva energética maior, pois as mesmas realizam atividades físicas de longa duração e apresentam fibras do tipo 1 (ricas em mitocôndrias e mioglobina) (VIEIRA, 2007).

Além disso, pôde-se verificar que a carne de peito de frango por ter maior quantidade de proteína, a mesma retém mais a umidade, pois 45% da umidade da carne se encontram firmemente ligadas às proteínas por forças hidrofílicas; 30% está em estado intermediário e 25% em estado livre, preso apenas por fracas barreiras físicas, constituídas pelas membranas e capilares (TORRES et al., 2000). Olivo, Santos e Franco (2006), afirmaram que pouca umidade compromete a qualidade da carne conferindo textura dura, seca e fibrosa, sendo verificado no presente estudo, embora não tenha sido feita análise sensorial dos hambúrgueres. A textura seca também é devido a não adição de nenhum tipo de gordura na formulação.

Nos alimentos industrializados, como por exemplo, hambúrgueres de frango ou misto, têm uma grande variação da composição centesimal, o que pode inclusive influenciar nos processos fisiológicos como a peroxidação lipídica (TORRES et al., 1998). Embora os hambúrgueres elaborados tenham baixo teor de gordura (aproximadamente 2%), os mesmos apresentaram diferenças significativas em relação à formação de peróxidos, mostrando que independentemente da quantidade de gordura a oxidação pode ocorrer. Isso comprova que as folhas de oliveiras não interferiram na composição centesimal dos hambúrgueres, mas influenciaram de modo a diminuir os processos oxidativos independente da quantidade de gordura, podendo ser devido a presença de compostos fenólicos nas folhas de oliveiras que têm alto potencial antioxidante.

4.1.9 Atividade de água (a_w)

A a_w indica a quantidade de água livre contida no alimento, disponível para o crescimento microbiano e para as reações que possam deteriorar esse alimento (DITCHFIELD, 2000). Serve para medir o potencial de biodegradação dos materiais, sendo o responsável pelas alterações na cor, odor, sabor, textura e pelo *shelf-life* do alimento (COULTATE, 2002). Na tabela 23 estão apresentados os valores de atividade de água nas carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a $-18\text{ }^\circ\text{C}$.

Tabela 23- Valores de a_w das carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a $-18\text{ }^\circ\text{C}$.

Variável	T1	T2	T3
a_w	$0,9901^A \pm 0,006$	$0,9919^A \pm 0,003$	$0,9888^A \pm 0,001$

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na ração); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Médias \pm desvios padrões seguidos por letras maiúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente ($p > 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Os resultados da a_w das carnes de todos os tratamentos não diferiram significativamente ($p > 0,05$) entre si, onde o T1 (controle), T2 e T3 apresentaram valores de 0,9901, 0,9919 e 0,9888, respectivamente (Tabela 23). Conforme Van Den Berg (1981), valores de a_w acima de 0,80 favorece o crescimento de bolores, e valores acima de 0,90 pode haver a formação de soluções diluídas com componentes do alimento que servirão de substrato para os micro-organismos crescerem (CELESTINO, 2010).

Relacionando os resultados de a_w (Tabela 23) com os resultados microbiológicos (Tabelas 25, 27, 29 e 31), percebeu-se que, embora a a_w das carnes pertencentes aos tratamentos T2 e T3 tenham sido elevadas, não propiciou os maiores números de colônias de bactérias (mesófilas, psicotróficas, *Enterobactérias* e *Staphylococcus* spp.). As folhas de oliveiras não influenciaram na atividade de água, porém apresentaram ação antimicrobiana, pois diferiram significativamente ($p < 0,05$) em relação ao tratamento T1 (controle) (Tabelas 25, 27, 29 e 31).

Na tabela 24 estão apresentados os valores de atividade de água nos hambúrgueres crus e cozidos a 85 °C, elaborados com as carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18 °C.

Tabela 24- Valores da atividade de água (a_w) nos hambúrgueres crus e cozidos a 85 °C, elaborados com carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18 °C.

Hambúrguer crú			
Dias	T1	T2	T3
30	0,9780 ^{Aa} ± 0,006	0,9837 ^{Aa} ± 0,005	0,9872 ^{Aa} ± 0,002
60	0,9858 ^{Aa} ± 0,001	0,9833 ^{Aa} ± 0,004	0,9873 ^{Aa} ± 0,004
90	0,9837 ^{Aa} ± 0,002	0,9809 ^{Aa} ± 0,005	0,9872 ^{Aa} ± 0,002
120	0,9860 ^{Aa} ± 0,005	0,9889 ^{Aa} ± 0,001	0,9844 ^{Aa} ± 0,002
Hambúrguer cozido			
30	0,9678 ^{Aa} ± 0,004	0,9680 ^{Aa} ± 0,003	0,9398 ^{Aa} ± 0,022
60	0,9601 ^{Aa} ± 0,007	0,9611 ^{Aa} ± 0,002	0,9483 ^{Aa} ± 0,005
90	0,9728 ^{Aa} ± 0,007	0,9662 ^{Aa} ± 0,010	0,9597 ^{Aa} ± 0,007
120	0,9671 ^{Aa} ± 0,004	0,9692 ^{Aa} ± 0,004	0,9693 ^{Aa} ± 0,002

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na dieta); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Média ± desvio padrão com letras maiúsculas/ minúsculas iguais nas colunas/ linhas não diferem significativamente ($p > 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Os valores de a_w dos hambúrgueres crus mostrou que os tratamentos não diferiram significativamente ($p > 0,05$) quando analisados ao longo do tempo e dentro de cada período (Tabela 24). Além disso, percebeu-se que após a elaboração dos hambúrgueres o mesmo comportamento foi observado quando comparado às carnes, ou seja, embora os valores de a_w tenham continuado altos nos hambúrgueres crus (Tabela 24), as análises microbiológicas (Tabelas 26, 28, 30 e 32) mostraram que as folhas de oliveiras continuaram tendo ação antimicrobiana. Portanto, o uso de folhas de oliveiras na suplementação de frangos não afetou os valores de a_w dos hambúrgueres crus, mostrando que seu uso é benéfico na elaboração de produtos cárneos por ter apresentado boa ação antimicrobiana.

Analisando os resultados de a_w nos hambúrgueres cozidos (Tabela 24), percebeu-se redução nos valores quando comparado ao cru, o que já era esperado, uma vez que o cozimento faz com que a água livre presente nos alimentos evapore. Porém, embora tenha ocorrido redução nos valores de a_w , os tratamentos não diferiram significativamente ($p > 0,05$) entre si quando comparados dentro do mesmo período e ao longo do tempo. Portanto, pôde-se verificar que as folhas de oliveiras continuaram não influenciando nos valores de a_w dos hambúrgueres após o cozimento.

4.2 Análises microbiológicas

4.2.1 Número de colônias de bactérias mesófilas aeróbias totais

O número de colônias de bactérias mesófilas aeróbias totais nas carnes de peito de frangos suplementados com e sem folhas de oliveiras na dieta, e armazenadas por 120 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ estão apresentados na tabela 25.

Tabela 25- Número de colônias de bactérias mesófilas aeróbias totais (\log_{10} UFC/ g) nas carnes de peito de frangos suplementados com e sem folhas de oliveiras na dieta, armazenadas durante 120 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Micro-organismo	T1	T2	T3
Bactérias mesófilas aeróbias totais	$6,60^A \pm 0,33$	$3,79^B \pm 0,26$	$3,73^B \pm 0,20$

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na ração); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Médias \pm desvios padrões seguidos por letras maiúsculas iguais nas linhas, não diferem significativamente ($p > 0,05$) entre si no teste de Tukey.

As carnes pertencentes ao tratamento T1 (controle) apresentaram os maiores números de colônias de bactérias mesófilas aeróbias totais ($6,60 \log_{10}$ UFC/ g) diferindo significativamente ($p < 0,05$) dos tratamentos T2 e T3 que apresentaram $3,79 \log_{10}$ UFC/g e $3,73 \log_{10}$ UFC/ g, respectivamente (Tabela 25). É estabelecido o número de colônias de bactérias mesófilas aeróbias totais de $7 \log_{10}$ UFC/ g como indicador de término da vida útil em carnes (ICMSF, 1986). Estudos consideram sem

condições higiênico-sanitárias ideais carcaças de frangos que ultrapassem o número de colônias de mesófilos de $6 \log_{10}$ UFC/ g (RITTER & BERGMANN, 2003). Portanto, as carnes do tratamento T1 (controle), após 120 dias de armazenamento a -18°C apresentaram número de colônias de bactérias mesófilas superior ao valor máximo permitido para os padrões higiênico-sanitários ideais de $6 \log_{10}$ UFC/ g (RITTER & BERGMANN, 2003), e bem próximo do limite de término da vida útil ($7 \log_{10}$ UFC/ g) (ICMSF, 1986). Enquanto que as carnes pertencentes aos tratamentos T2 e T3 apresentaram número de colônias de bactérias mesófilas, aproximadamente 2,8 ciclos log menor em relação ao tratamento T1 (controle) (Tabela 25).

Na tabela 26 estão apresentados o número de colônias de bactérias mesófilas aeróbias totais nos hambúrgueres crus e cozidos a 85°C , elaborados com as carnes de peito de frangos suplementados com e sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18°C .

Tabela 26- Número de colônias de bactérias mesófilas aeróbias totais (\log_{10} UFC/g) nos hambúrgueres crus e cozidos a 85°C , elaborados com carnes de peito de frangos suplementados com e sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18°C .

Hambúrguer cru			
Dias	T1	T2	T3
30	$7,11^{\text{Ba}} \pm 0,64$	$6,30^{\text{Bb}} \pm 0,01$	$5,03^{\text{Ac}} \pm 0,18$
60	$7,62^{\text{Aa}} \pm 0,54$	$7,08^{\text{Ab}} \pm 0,26$	$5,15^{\text{Ac}} \pm 0,14$
90	$7,99^{\text{Aa}} \pm 0,38$	$7,07^{\text{Ab}} \pm 0,33$	$5,38^{\text{Ac}} \pm 0,31$
120	$8,04^{\text{Aa}} \pm 0,37$	$7,39^{\text{Ab}} \pm 0,03$	$5,48^{\text{Ac}} \pm 0,19$
Hambúrguer cozido			
30	$3,24^{\text{Ba}} \pm 0,26$	$3,17^{\text{Aab}} \pm 0,16$	$2,72^{\text{Ab}} \pm 0,12$
60	$3,48^{\text{ABa}} \pm 0,08$	$3,22^{\text{Aab}} \pm 0,18$	$2,93^{\text{Ab}} \pm 0,11$
90	$3,77^{\text{Aa}} \pm 0,58$	$3,55^{\text{Aa}} \pm 0,09$	$3,00^{\text{Ab}} \pm 0,46$
120	$3,16^{\text{Ba}} \pm 0,40$	$2,63^{\text{Bb}} \pm 0,23$	$2,34^{\text{Bb}} \pm 0,31$

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na dieta); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Médias \pm desvios padrões seguidos por letras maiúsculas/ minúsculas iguais nas colunas/ linhas, não diferem significativamente ($p > 0,05$) entre si no pelo teste de Tukey.

Analisando o número de colônias de bactérias mesófilas aeróbias totais nos hambúrgueres crus ao longo do tempo de armazenamento, pôde-se observar que ocorreu aumento, onde o tratamento T1 (controle) continuou apresentando os maiores valores, variando de 7,11 a 8,04 \log_{10} UFC/ g, tornando-se impróprio para o consumo já no 30º dia de armazenamento (Tabela 26). O tratamento T3 apresentou os menores valores (5,03 a 5,48 \log_{10} UFC/ g), ficando apto para o consumo durante todo o período analisado. Além disso, percebeu-se que o tratamento T2, após 30 dias de armazenamento mostrou-se impróprio para o consumo, uma vez que o número de colônias de bactérias mesófilas aeróbias totais foi de 7,08 \log_{10} UFC/ g (Tabela 26).

O aumento no número de colônias de bactérias mesófilas aeróbias totais pode ser indicativo de sanitização ineficiente, ou problemas no processo e/ou ingredientes (SANT'ANA, CONCEIÇÃO & AZEREDO, 2002). Porém, embora tenha-se procurado o máximo de cuidado na limpeza e higienização dos equipamentos e utensílios, o número de colônias de bactérias mesófilas aeróbias totais mostrou que foi insuficiente, fazendo com que após o processamento (Tabela 26), o produto adquirisse maior carga microbiana quando comparada à matéria-prima utilizada (Tabela 25).

Observou-se que quanto maior a concentração de folhas de oliveiras na ração de frangos, melhor foi a ação antimicrobiana, pois o tratamento T3 reduziu 2,43 ciclos log e o tratamento T2 0,73 ciclos log, quando comparados ao tratamento T1 (controle) (Tabela 26). Comparando o número de colônias de bactérias mesófilas aeróbias totais dentro de cada período nos hambúrgueres crus, observou-se que o tratamento T1 (controle) sempre diferiu significativamente ($p < 0,05$) dos demais tratamentos por apresentar os maiores valores.

Para avaliar a eficiência da quantidade de folhas de oliveiras presentes no tratamento T3, frente às bactérias mesófilas aeróbias totais em relação aos demais tratamentos, utilizou-se a seguinte fórmula: média do número de colônias obtidas nos hambúrgueres multiplicado por cem e depois dividido pelo limite de 6 \log_{10} UFC/ g (RITTER & BERGMANN, 2003). O tratamento T3 apresentou eficiência de 87,6%, enquanto que os tratamentos T1 (controle) e T2 não conseguiram impedir a multiplicação de bactérias mesófilas aeróbias totais, por terem apresentado valores

superiores ao limite máximo dos padrões higiênico-sanitários ideais, sendo portanto não calculada a eficiência destes tratamentos. Novamente, enfatiza-se que a incorporação de folhas de oliveiras ao nível de 10 g/ kg de ração (T3), foi mais eficaz em retardar o crescimento microbiano em relação ao nível de 5 g/ kg de ração (T2).

Após o cozimento dos hambúrgueres a 85 °C percebeu-se redução no número de colônias de bactérias mesófilas aeróbias totais em todos os tratamentos, onde T1 (controle), T2 e T3 apresentaram valores máximos de 3,77, 3,55 e 3,00 log₁₀ UFC/ g, respectivamente (Tabela 26). Quando analisados os resultados dos hambúrgueres cozidos dentro de cada período, ressalta-se que os hambúrgueres pertencentes ao tratamento T3 continuaram apresentando os menores números de colônias de bactérias mesófilas aeróbias totais, diferindo significativamente ($p < 0,05$) do tratamento T1 (controle).

O tratamento T2, embora tenha apresentado menores números de colônias do que o tratamento T1 (controle), o mesmo não diferiu significativamente ($p > 0,05$) até o 90º dia de armazenamento. Fazendo uma comparação entre os hambúrgueres crus e cozidos, percebeu-se que os hambúrgueres pertencentes ao tratamento T1 (controle) apresentaram em média redução de 4,28 ciclos log. Já os tratamentos T2 e T3 apresentaram redução de 3,82 e 2,51 ciclos log, respectivamente (Tabela 26). Portanto a temperatura utilizada no cozimento dos hambúrgueres (85°C interna) influenciou na redução do número de colônias de bactérias mesófilas aeróbias totais. Os micro-organismos são sensíveis a temperaturas muito elevadas, pois nelas inicia-se o processo de desnaturação de proteínas e ácidos nucléicos, inviabilizando a sobrevivência celular (VASCONSELOS, 2010).

4.2.2 Número de colônias de bactérias psicotróficas

O número de colônias de bactérias psicotróficas nas carnes de peito de frangos suplementados com e sem folhas de oliveiras na dieta, armazenadas durante 120 dias a -18 °C estão apresentados na tabela 27.

Tabela 27- Número de colônias de bactérias psicotróficas (\log_{10} UFC/ g) nas carnes de peito de frangos suplementados com e sem folhas de oliveiras na dieta, armazenadas durante 120 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Micro-organismo	T1	T2	T3
Bactérias psicotróficas	$6,19^A \pm 0,12$	$3,33^B \pm 0,34$	$2,95^B \pm 0,43$

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na ração); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Médias \pm desvios padrões seguidos por letras maiúsculas iguais nas linhas, não diferem significativamente ($p > 0,05$) entre si no pelo teste de Tukey.

As carnes do tratamento T1 (controle) apresentaram o maior número de colônias de bactérias psicotróficas ($6,19 \log_{10}$ UFC/ g) diferindo significativamente ($p < 0,05$) dos tratamentos T2 e T3, que apresentaram os menores valores ($3,33$ e $2,95 \log_{10}$ UFC/ g, respectivamente) (Tabela 27). Embora o número de colônias de bactérias psicotróficas indique o grau de deterioração de alimentos refrigerados, a legislação brasileira não estabelece padrão para estes micro-organismos. Entretanto, a ICMSF (1986) estabelece como limite o número de colônias de 6 a $7 \log_{10}$ UFC/ g, valores estes utilizados no presente trabalho para definir o término de vida útil das carnes de frangos, pois geralmente acima desta faixa de número de colônias, são detectadas mudanças sensoriais devido aos metabólitos resultantes do crescimento microbiano (odores anômalos, normalmente desagradáveis, e aparecimento de substâncias viscosas, como polissacarídeos sintetizados pelas bactérias).

Considerando estes valores microbiológicos (6 a $7 \log_{10}$ UFC/ g), as carnes pertencentes aos tratamentos T2 e T3, mostraram-se mais adequadas ao consumo antes do seu processamento, mesmo após 120 dias de armazenamento (Tabela 27). Cinco e dez gramas de folhas de oliveiras/ kg de ração proporcionaram bom efeito antimicrobiano frente às bactérias psicotróficas, pois os números de colônias nos tratamentos T2 e T3 foram de $2,86$ e $3,24$ ciclos log abaixo do número de colônias do tratamento T1 (controle) (Tabela 27). Galarz (2008) ao analisar filés de peito de frangos sem nenhum antioxidante, e armazenados durante 20 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, encontrou número de colônias de bactérias psicotróficas de $4 \log_{10}$ UFC/ g. Os tratamentos T2 e T3 apresentaram $3,33 \log_{10}$ UFC/g e $2,95 \log_{10}$ UFC/g respectivamente aos 120 dias de armazenamento a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, indicando que o uso de

folhas de oliveiras na dieta de frangos foi bem eficaz no controle de bactérias psicrotróficas do que quando não utilizado, uma vez que mesmo com 100 dias a mais de armazenamento, obteve-se número de colônias de bactérias psicrotróficas menores do que Galarz (2008).

Na tabela 28 encontram-se o número de colônias de bactérias psicrotróficas nos hambúrgueres crus e cozidos a 85 °C, elaborados com carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18 °C.

Tabela 28- Número de colônias de bactérias psicrotróficas (\log_{10} UFC/ g) nos hambúrgueres crus e cozidos a 85 °C, elaborados com carnes de peito de frangos suplementados com ou sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18 °C.

Hambúrguer crú			
Dias	T1	T2	T3
30	7,08 ^{Ba} ± 0,64	5,21 ^{Cb} ± 0,01	4,60 ^{Bc} ± 0,18
60	7,80 ^{Aa} ± 0,54	6,45 ^{Bb} ± 0,26	5,72 ^{Ac} ± 0,14
90	7,87 ^{Aa} ± 0,38	6,88 ^{ABb} ± 0,33	5,52 ^{Ac} ± 0,31
120	7,91 ^{Aa} ± 0,37	7,26 ^{Ab} ± 0,03	6,00 ^{Ac} ± 0,19
Hambúrguer cozido			
30	1,27 ^{Ca} ± 0,26	1,31 ^{Ba} ± 0,16	1,14 ^{Ba} ± 0,12
60	1,82 ^{Ba} ± 0,08	1,52 ^{Ba} ± 0,18	1,35 ^{Ba} ± 0,11
90	1,85 ^{Ba} ± 0,58	1,73 ^{Ba} ± 0,09	1,60 ^{Ba} ± 0,46
120	2,86 ^{Aa} ± 0,40	2,74 ^{Aa} ± 0,23	2,44 ^{Aa} ± 0,31

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na dieta); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Médias ± desvios padrões seguidos por letras maiúsculas/ minúsculas iguais nas colunas/ linhas, não diferem significativamente ($p > 0,05$) entre si no pelo teste de Tukey.

Analisando os hambúrgueres crus ao longo do tempo de armazenamento (Tabela 28) percebeu-se que em todos os tratamentos, o número de colônias de bactérias psicrotróficas aumentou decorrente da evolução normal das bactérias. Porém, os hambúrgueres pertencentes ao tratamento T3 permaneceram dentro do limite de colônias de bactérias psicrotróficas de 6 a 7 \log_{10} UFC/ g (ICMSF, 1986), até o 90º dia de armazenamento. O tratamento T2 não apresentou o mesmo desempenho, pois ultrapassou o limite a partir do 60º dia de armazenamento.

Para saber se as folhas de oliveiras foram eficientes frente ao crescimento de bactérias psicrotróficas, utilizou-se a seguinte fórmula: média das contagens obtidas nos hambúrgueres multiplicado por cem e depois dividido pelo limite de $6 \log_{10}$ UFC/g (RITTER & BERGMANN, 2003). Portanto, quando comparado aos demais tratamentos, o T3 foi o tratamento que apresentou eficiência de 91%, uma vez que ficou dentro do limite estabelecido para bactérias psicrotróficas em grande parte do período de armazenamento (Tabela 28).

Comparando os resultados de colônias de bactérias psicrotróficas dos hambúrgueres crus dentro de cada período, ressalta-se que os tratamentos T2 e T3 sempre diferiram significativamente ($p < 0,05$) do T1 (controle) por apresentarem os menores números de colônias (Tabela 28). Porém, 10 g de folhas de oliveiras/ kg de ração (T3), tiveram melhor ação antimicrobiana do que o uso de 5 g de folhas de oliveiras.

Hambúrgueres elaborados com carnes de coxas e sobrecoxas de frangos, embalados a vácuo e armazenados a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 180 dias apresentaram número de colônias de bactérias psicrotróficas de $2,4 \log_{10}$ UFC/g (SELANI, 2010). Vale lembrar que Selani (2010) elaborou hambúrgueres com carnes de coxas e sobrecoxas com 2 dias de armazenamento. Já no presente estudo os hambúrgueres foram elaborados com carnes de peito após 120 dias de armazenamento, ficando o tratamento T3 fora do limite de colônias de bactérias psicrotróficas de 6 a $7 \log_{10}$ UFC/g (ICMSF, 1986) apenas aos 120 dias de armazenamento (Tabela 28), enfatizando novamente que 10 gramas de folhas de oliveiras por kg de ração tiveram bom efeito antimicrobiano quando comparado com a literatura. Portanto, embora a presença de oxigênio tenha influenciado no crescimento microbiano, pois é um ótimo catalisador de reações microbianas, e no presente estudo os hambúrgueres não terem sido embalados à vácuo ficando mais expostos ao oxigênio, pode-se dizer que mesmo assim os compostos presentes nas folhas de oliveiras tiveram boa ação antimicrobiana, sendo que quanto maior a concentração de folhas de oliveiras maior a vida útil dos hambúrgueres.

Observando os resultados nos hambúrgueres cozidos a $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Tabela 28), pôde-se verificar que ocorreu redução no número de colônias de bactérias

psicrotróficas em todos os tratamentos. Ao fazer a média das contagens de bactérias psicrotróficas após o cozimento e compará-las com as contagens encontradas nos hambúrgueres crus, verificou-se que a temperatura utilizada no presente estudo (85 °C) foi eficaz no controle microbiológico, uma vez que o tratamento T1 (controle) apresentou redução de aproximadamente 5,71 ciclos log, e os tratamentos T2 e T3 redução de 4,62 e 3,82 ciclos log, respectivamente.

Comparando as contagens de colônias de bactérias psicrotróficas dos hambúrgueres cozidos dentro de cada período (Tabela 28), verificou-se que os tratamentos não diferiram significativamente ($p > 0,05$) entre si. Ao fazer uma relação desses resultados com os valores de pH, observou-se que após o cozimento a 85 °C, os valores de pH aumentaram (Tabela 3) e o número de colônias de bactérias psicrotróficas diminuíram (Tabela 28). Um pH alto ($> 6,0$) acelera o crescimento de micro-organismos deteriorantes (GILL & NEWTON, 1980).

A temperatura de cozimento também é um fator muito importante que afeta a taxa de crescimento microbiológico, pois células podem ficar injuriadas, necessitando de um tempo de recuperação para então iniciarem a fase de crescimento exponencial (MADIGAM, MARTINKO & PARKER, 2004). Portanto, não se pode afirmar que as folhas de oliveiras quando adicionadas à ração de frangos, e submetidas ao cozimento de 85 °C tiveram mais influência sobre o crescimento de bactérias psicrotróficas, uma vez que não diferiram significativamente ($p > 0,05$) do T1 (controle) em nenhum momento.

4.2.3 *Enterobactérias*

O número de colônias de *Enterobactérias* nas carnes de peito de frangos suplementados com e sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18 °C estão apresentados na tabela 29. Observando os resultados encontrados na tabela 29, verificou-se que os tratamentos T2 (3,14 log₁₀ UFC/ g) e T3 (2,81 log₁₀ UFC/ g) apresentaram os menores números de colônias de *Enterobactérias*, diferindo significativamente ($p < 0,05$) do tratamento T1 (controle) que apresentou número de colônias de 6,29 log₁₀ UFC/ g. Portanto, as folhas de oliveiras apresentaram efeito antimicrobiano em relação às *Enterobactérias* por

proporcionarem redução de 3,15 e 3,48 ciclos log em relação ao tratamento T1 (controle).

Tabela 29- Número de colônias de bactérias *Enterobactérias* (\log_{10} UFC/ g) nas carnes de peito de frangos suplementados com e sem folhas de oliveiras na dieta, armazenadas por 120 dias a -18°C .

Micro-organismo	T1	T2	T3
<i>Enterobactérias</i>	6,29 ^A ± 0,12	3,14 ^B ± 0,13	2,81 ^B ± 0,24

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na ração); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Médias ± desvios padrões seguidos por letras maiúsculas iguais nas linhas, não diferem significativamente ($p > 0,05$) entre si no teste de Tukey.

A legislação brasileira não estabelece padrão para o número de colônias de *Enterobactérias*, e sim valores específicos para alguns gêneros, como ausência de *Salmonella* sp./ 25g de amostra, tolerância máxima de 3 \log_{10} UFC/ g para Clostridium Sulfito redutor a 46°C / g de amostra e de 5 \log_{10} UFC/ g para *Staphylococcus* coagulase positiva/ g de amostra (BRASIL, 2001). Os gêneros pertencentes à família *Enterobacteriaceae* são: *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Edwardsiella*, *Hafnia*, *Morganella*, *Proteus*, *Providência*, *Salmonella*, *Shigella*, *Serratia* e *Yersinia*. Em alimentos frescos de origem animal, a ocorrência de números elevados de bactérias da família *Enterobacteriaceae* pode indicar manipulação sem cuidados de higiene e/ ou armazenamento inadequado (RANGEL, 2009).

No presente estudo será feita apenas uma avaliação quantitativa do número de colônias de *Enterobactérias*, uma vez que não foram realizados os testes bioquímicos e nem utilizados os meios de cultura específicos que a legislação brasileira (BRASIL, 2001) preconiza para análise de *Salmonella*. Assim não será possível identificar o tipo de *Enterobactéria* presente nas amostras.

Na tabela 30 estão apresentados o número de colônias de *Enterobactérias* nos hambúrgueres crus e cozidos a 85°C , elaborados com carnes de peito de frangos suplementados com e sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18°C .

Tabela 30- Número de colônias de *Enterobactérias* (\log_{10} UFC/g) nos hambúrgueres crus e cozidos a 85 °C, elaborados com carnes de peito de frangos suplementados com e sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18 °C.

Hambúrguer crú			
Dias	T1	T2	T3
30	7,24 ^{Aa} ± 0,15	5,31 ^{Bb} ± 0,02	4,80 ^{Cc} ± 0,51
60	7,30 ^{Aa} ± 0,42	6,75 ^{Ab} ± 0,29	5,42 ^{Bc} ± 0,33
90	7,67 ^{Aa} ± 0,18	6,95 ^{Ab} ± 0,52	5,52 ^{Bc} ± 0,39
120	7,71 ^{Aa} ± 0,05	7,19 ^{Ab} ± 0,6	6,05 ^{Ac} ± 0,18
Hambúrguer cozido			
30	1,47 ^{Ba} ± 0,36	1,20 ^{Ba} ± 0,43	1,25 ^{Ba} ± 0,49
60	1,60 ^{Ba} ± 0,57	1,41 ^{Ba} ± 0,43	1,49 ^{Ba} ± 0,08
90	1,65 ^{Ba} ± 0,74	1,62 ^{Ba} ± 0,24	1,51 ^{Ba} ± 0,64
120	4,11 ^{Aa} ± 0,21	3,44 ^{Ab} ± 0,18	2,64 ^{Ac} ± 0,32

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na dieta); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Médias ± desvios padrões seguidos por letras maiúsculas/ minúsculas iguais nas colunas/ linhas, não diferem significativamente ($p > 0,05$) entre si no pelo teste de Tukey.

Os hambúrgueres crus dos tratamentos T2 e T3 apresentaram sempre os menores valores, atingindo o máximo de 7,19 e 6,05 \log_{10} UFC/ g, respectivamente aos 120 dias de armazenamento. Já os hambúrgueres do tratamento T1 (controle) apresentaram sempre os maiores valores, com valor máximo de 7,71 \log_{10} UFC/ g (Tabela 30). Comparando os hambúrgueres crus dentro de cada período, percebeu-se que os tratamentos T2 e T3 sempre diferiram ($p < 0,05$) do T1 (controle) em relação ao número de colônias de *Enterobactérias* (Tabela 30). Porém, verificou-se que o tratamento T3 teve melhor ação frente ao crescimento deste micro-organismo, onde a suplementação com 10 g de folhas de oliveiras/ kg de ração mostrou ser mais eficaz no controle microbiológico.

Portanto, as folhas de oliveiras quando adicionadas na dieta de frangos, tiveram influência sobre o crescimento de *Enterobactérias*, uma vez que sempre diferiram significativamente ($p < 0,05$) quando comparado ao tratamento sem adição de folhas de oliveiras (T1) por apresentarem os menores números de colônias de *Enterobactérias* (Tabela 30).

Analisando os resultados encontrados após o cozimento, observou-se que houve redução no número de colônias de *Enterobactérias* em todos os tratamentos (Tabela 30). No entanto, não é possível afirmar que as folhas de oliveiras continuaram tendo melhor ação antimicrobiana após o cozimento a 85 °C, uma vez que ao fazer a média das contagens dos hambúrgueres cozidos e compará-los aos crus, o tratamento sem adição de folhas de oliveiras (T1) apresentou maior redução no número de colônias de *Enterobactérias* (5,27 ciclos log) do que o T2 (4,63 ciclos log) e T3 (3,72 ciclos log). Além disso, quando analisados os resultados dos hambúrgueres crus dentro de cada período (Tabela 30), percebeu-se que os hambúrgueres pertencentes aos tratamentos com folhas de oliveiras (T2 e T3) não diferiram significativamente ($p > 0,05$) do tratamento T1 (controle) até o 90º dia de armazenamento, que pode ser devido os compostos fenólicos presentes nas folhas terem sido perdidos durante o tratamento térmico.

4.2.4 *Staphylococcus* spp.

De acordo com a legislação brasileira, os produtos cárneos crus, refrigerados ou congelados, podem ter no máximo 5×10^3 UFC/ g (3,69 \log_{10} UFC/ g) de *Staphylococcus* coagulase positiva (BRASIL, 2001). No entanto, na legislação não indica a análise do gênero *Staphylococcus* em carnes de aves resfriadas ou congeladas, *in natura* (carcaças inteiras, fracionadas ou cortes).

Na tabela 31 estão apresentados o número de colônias de *Staphylococcus* spp. nas carnes de peito de frangos suplementados com e sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18 °C.

Tabela 31- Número de colônias de *Staphylococcus* spp. (\log_{10} UFC/ g) nas carnes de peito de frangos suplementados com e sem folhas de oliveiras na dieta, armazenadas por 120 dias a -18 °C.

Micro-organismo	T1	T2	T3
<i>Staphylococcus</i> spp.	3,98 ^A ± 0,42	1,95 ^B ± 0,67	1,96 ^B ± 0,53

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na ração); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Médias ± desvios padrões seguidos por letras maiúsculas iguais nas linhas, não diferem significativamente ($p > 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

No presente estudo as carnes do tratamento T1 (controle) apresentaram o maior número de colônias de *Staphylococcus* spp. ($3,98 \log_{10}$ UFC/ g), diferindo significativamente ($p < 0,05$) dos demais tratamentos (Tabela 31). Como a legislação brasileira não limita a tolerância máxima permitida para *Staphylococcus* spp. em carnes de frangos, optou-se por utilizar o mesmo limite utilizado para produtos cárneos de $3,69 \log_{10}$ UFC/ g para *Staphylococcus* coagulase positiva (BRASIL, 2001). Com isso, percebeu-se que as carnes do tratamento T1 (controle) ultrapassaram o limite estabelecido pela legislação brasileira, enquanto que o número de colônias de *Staphylococcus* spp. nas carnes pertencentes aos tratamentos T2 ($1,95 \log_{10}$) e T3 ($1,96 \log_{10}$), foram bem menores do que $3,69 \log_{10}$ UFC/ g (BRASIL, 2001).

As folhas de oliveiras adicionadas na dieta de frangos demonstraram efeito frente ao crescimento de colônias de *Staphylococcus* spp., uma vez que os tratamentos T2 e T3 apresentaram 2,03 ciclos log a menos em relação ao tratamento T1 (controle) (Tabela 31). *Staphylococcus* spp. não produtores de coagulase, também podem ser produtores de enterotoxina e, portanto, estando presentes nos alimentos podem oferecer risco ao consumidor (PEREIRA & PEREIRA, 2005). Portanto, o uso de folhas de oliveiras embora tenham mantido as amostras com menores contagens, não se pode afirmar que foram muito eficientes no controle de *Staphylococcus* spp., uma vez que apresentaram presença deste micro-organismo que pode acarretar em risco ao consumidor mesmo quando presentes em baixas concentrações por também poderem produzir toxina.

Na tabela 32 estão apresentadas as contagens de colônias de *Staphylococcus* spp. nos hambúrgueres crus e cozidos a $85\text{ }^{\circ}\text{C}$, elaborados com as carnes de peito de frangos suplementados com e sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Analisando os resultados da tabela 32, percebeu-se que nos hambúrgueres crus os tratamentos T1 (controle) e T2 ficaram fora do limite de $3,69 \log_{10}$ UFC/ g de colônias de *Staphylococcus* spp. (BRASIL, 2001). Além disso, observou-se que após 30 dias do processamento da carne ocorreu aumento no número de colônias de *Staphylococcus* spp., que pode ser devido a contaminação, principalmente por manipuladores que podem adicionar *Staphylococcus* coagulase positiva (10^1 ou 10^2).

Tabela 32- Número de colônias de *Staphylococcus* spp. em hambúrgueres crus e cozidos a 85 °C, elaborados com carnes de peito de frangos suplementados com e sem folhas de oliveiras na dieta, armazenados por 120 dias a -18 °C.

Hambúrguer crú			
Dias	T1	T2	T3
30	4,84 ^{Ca} ± 0,07	4,37 ^{Ba} ± 0,06	2,49 ^{Bb} ± 0,12
60	5,34 ^{Ba} ± 0,25	5,22 ^{Aa} ± 0,21	2,51 ^{Bb} ± 0,13
90	5,51 ^{Aa} ± 0,41	4,82 ^{ABb} ± 0,32	3,16 ^{Ac} ± 0,46
120	5,70 ^{Aa} ± 0,23	4,86 ^{Ab} ± 0,02	3,31 ^{Ac} ± 0,11
Hambúrguer cozido			
30	1,82 ^{Ba} ± 0,48	1,71 ^{Aa} ± 0,08	1,24 ^{Ab} ± 0,21
60	1,93 ^{ABa} ± 0,60	1,72 ^{Aa} ± 0,34	1,07 ^{Ab} ± 0,26
90	2,34 ^{Aa} ± 0,55	1,55 ^{Ab} ± 0,11	0,00 ^{Bc} ± 0,00
120	2,13 ^{ABa} ± 0,68	1,48 ^{Ab} ± 0,67	0,98 ^{Ac} ± 0,58

*T1 (controle: sem folhas de oliveiras na dieta); T2 (5g de folhas de oliveiras/ kg de ração); T3 (10g de folhas de oliveiras/ kg de ração).

**Médias ± desvios padrões seguidos por letras maiúsculas/ minúsculas iguais nas colunas/ linhas, não diferem significativamente (p> 0,05) entre si no pelo teste de Tukey.

Portanto, determinar *Staphylococcus* spp. também pode ser utilizado como indicador de higiene no processo (GALARZ, 2008). O elevado número de colônias deste gênero nos tratamentos é uma indicação de perigo potencial à saúde pública devido à produção da enterotoxina estafilocócica, que pode ocorrer a partir de 3,69 log₁₀ UFC/ g (BRASIL, 2001).

Fazendo-se a média do número de colônias de *Staphylococcus* spp. dos hambúrgueres crus pertencentes aos tratamentos T2 e T3 ao longo do tempo, percebeu-se que quanto maior a concentração de folhas de oliveiras na ração, melhor o efeito antimicrobiano, uma vez que os tratamentos T2 e T3 apresentaram redução de 0,53 e 2,48 ciclos log, respectivamente, quando comparado ao tratamento T1 (controle) (Tabela 32). Ao analisar os valores de *Staphylococcus* spp. dos hambúrgueres crus dentro de cada período, observou-se que o uso de 10 gramas de folhas de oliveiras na ração de frangos (T3) continuou tendo melhor ação antimicrobiana do que quando não utilizá-las, mesmo após o processamento da carne, pois sempre diferiu significativamente (p< 0,05) dos demais tratamentos (Tabela 32). Já o tratamento T2 não diferiu (p> 0,05) do T1 (controle) aos 30 e 60

dias de armazenamento, embora tenham apresentado número de colônias de *Staphylococcus* spp. menores.

O cozimento dos hambúrgueres a 85 °C reduziu o número de colônias de *Staphylococcus* spp. em todos os tratamentos no decorrer do tempo (Tabela 32). Os *Staphylococcus* spp. podem resistir a temperatura de aquecimento de até 62,5 °C por 120 minutos caso a contaminação inicial seja muito alta, sendo possível que algumas cepas do agente sobrevivam e que podem multiplicar-se rapidamente no alimento cozido (GRÜNSPAN et al., 1996). Grande parte dos *Staphylococcus* spp. são destruídos ou mortos na temperatura de 66°C por 12 minutos ou 100°C por 1 minuto (GALARZ, 2008). Portanto, o cozimento na temperatura de 85 °C foi eficaz no controle do crescimento de *Staphylococcus* spp., uma vez que o tratamento T1 (controle) apresentou maior redução (3,29 ciclos log) em relação aos tratamentos T2 e T3 (3,20 e 2,04 ciclos log, respectivamente).

Comparando os números de colônias de *Staphylococcus* spp. dentro de cada período (Tabela 32), percebeu-se que os hambúrgueres elaborados com carnes de peito de frangos suplementados com folhas de oliveiras na dieta, continuaram apresentando os menores valores, porém o T3 foi o único tratamento que sempre diferiu do T1 (controle). Pode-se dizer que as folhas de oliveiras por terem influenciado no número de colônias de *Staphylococcus* spp. dos hambúrgueres crus, continuaram mantendo os tratamentos T2 e T3 com as menores contagens.

5 CONCLUSÃO

Dentro das condições experimentais conclui-se que a adição das folhas de oliveiras na dieta de frangos não tiveram tanta influência sobre os valores de pH das carnes e dos hambúrgueres cozidos a 85 °C, porém nos hambúrgueres crus as folhas de oliveiras podem ter influenciado mais os valores de pH.

Em relação aos ácidos graxos, as folhas de oliveiras tiveram influência na carne e nos hambúrgueres crus e cozidos, fazendo com que os mesmos apresentassem sempre as maiores concentrações dos ácidos palmítico (C16:0), oléico (C18:1) e linolênico (C18:3n3). Além disso, concluiu-se que quanto maior a concentração de folhas de oliveiras na ração dos frangos, maior o conteúdo de ácidos graxos insaturados, devido as folhas serem constituídas por aproximadamente 41 % do ácido linolênico, oferecendo dessa forma um produto mais saudável e rico em ômega 3.

Quanto à oxidação lipídica, as folhas de oliveiras apresentaram efeito antioxidante por propiciar sempre os menores valores de dienos conjugados, peróxidos e TBARS nos hambúrgueres crus e cozidos a 85 °C, onde a adição de 10g de folhas de oliveiras/ kg ração apresentou os melhores resultados. Com relação à oxidação proteica concluiu-se que as folhas de oliveiras apresentaram efeito antioxidante, mas não foram mais eficientes do que o uso de eritorbato de sódio. Durante os 120 dias de armazenamento dos hambúrgueres, percebeu-se que os mesmos tiveram bom comportamento frente ao aumento das reações oxidativas, indicando que a suplementação de frangos com folhas de oliveiras pode ser indicada e o produto consumido com segurança.

Os resultados das análises microbiológicas evidenciaram que as folhas de oliveiras têm alto potencial antimicrobiano quando adicionadas na dieta de frangos. Porém não se pode aconselhar com total segurança o tempo ideal de consumo do produto, uma vez que foi detectada altas contagens de *Staphylococcus* ssp. e de *Enterobactérias*.

A composição centesimal e a atividade de água não foram influenciadas pelas folhas de oliveiras. Porém para a cor instrumental, não se pode afirmar que as folhas de oliveiras influenciaram os valores da variável L* e a*. Entretanto, a variável b*

sofreu mais influência nos valores das carnes e dos hambúrgueres crus, mas não se concluiu que foram mais eficientes no controle da oxidação do que o uso de eritorbato de sódio.

Mais estudos sobre a adição das folhas de oliveiras *in vivo* são necessários em relação a sua absorção, biodisponibilidade e atividade antimicrobiana e antioxidante. Assim como, estudo de viabilidade econômica para adicionar aos resultados obtidos com o intuito de determinar ou confirmar a quantidade ótima de folhas de oliveiras na suplementação de frangos, além dos benefícios econômicos do uso das folhas de oliveiras.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHAT, S. et al. Direct enrichment of olive oil in oleuropein by ultrasound- assisted maceration at laboratory and pilot plant scale. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 19, p. 777-786, 2012.

ADAMS, C. A. Oxidation and antioxidants. In: Nutrition-Based Health. **Nutricines: food components in health and nutrition**. Nottingham: Nottingham University Press, 1999. Chap. 2, p. 11-32.

ADEGOKE, G. O et al. Antioxidants and lipid oxidation in foods - A critical appraisal. **Journal of Food Science and Technology**, v. 35, n. 4, p. 283-298, 1998.

ALMEIDA, J. C. **Composição de ácidos graxos de carne de frango e gado no Rio Grande do Sul**. 2002. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas: Endocrinologia)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2002.

ALMEIDA, P. L. et al. Atividade antimicrobiana *in vitro* do rizoma em pó, dos pigmentos curcuminóides e dos óleos essenciais da *Curcuma longa L.* **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 3, p. 875-881, 2008.

AMADOR, S. A. **Aspectos físicos da carne do peito, da coxa e da sobrecoxa de frango alimentados com dietas contendo antioxidantes naturais**. 2013. 40 f. Monografia (Curso de Medicina Veterinária)- Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the association of the analytical chemists**. In: HORWITZ W., editor. Washington: A. O. A. C., 2005.

AOCS- AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY. **Official methods and recommended practices of the american oil chemists society**. 4. Champaign: AOCS Press, 2003.

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

ASOLINI, F.C.; TEDESCO, A.M.; CARPES, S.T. Atividade antioxidante e antimicrobiana dos compostos fenólicos dos extratos de plantas usadas como chás.

Brazilian Journal of Food Technology, v. 9, n. 3, p. 209-215, 2006.

BARACHO, M. S. et al. Variables impacting poultry meat quality from production to pre-slaughter: a review. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 8, n. 4, p. 201-212, 2006.

BEN, A. M. Effect of freezing and microbial growth on myoglobin derivatives of beef. **Food Chemistry**, v. 147, n. 10, p. 4093-4100, 1999.

BENAVENTE-GARCÍA, O. et al. Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. **Food Chemistry**, v. 68, n. 4, p. 457-462, 2000.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal Biochemistry Physiology**, v. 37, p. 911-917, 1959.

BOMDESPACHO, L. Q. **Desenvolvimento de um produto tipo “hambúrguer” à base de carne de frango (*Gallus gallus*) e resíduo de soja, fermentado com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014**. 2010. 106 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, 2010.

BONOLI, M. et al. Effect of feeding fat sources on the quality and composition of lipids of precooked ready-to-eat fried chicken patties. **Food Chemistry**, v. 101, n. 4, p. 1327-1337, 2007.

BOTSOGLOU, N. A. et al. The effect of dietary oregano essential oil on lipid oxidation in raw and cooked chicken during refrigerated storage. **Meat Science**, v. 62, n. 2, p. 259-265, 2002.

BOTSOGLOU, E. et al. Effect of dietary olive leaves and/or α -tocopheryl acetate supplementation on microbial growth and lipid oxidation of turkey breast fillets during refrigerated storage. **Food Chemistry**, v. 121, p. 17-22, 2010.

BRANEN, A. L. Interaction of fat oxidation and microbial spoilage in muscle foods. Annual Reciprocal Meat conference of the AMSA, 3, 1078, **Proceedings**.... v. 3, p.156-161, 1978.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar (declarações relacionadas ao conteúdo de nutrientes), constantes do anexo desta Portaria. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, de 16 de janeiro de 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. 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. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 03 ago. 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 jan. 2001. Seção 1, p. 46-53, 2001.

BRASIL. Instrução Normativa nº 62, de 26 de Agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da União**, Seção 1, p. 14. 2003.

CABALLERO, J. M. Variedades de oliveiras mais plantadas nos principais países produtores do mundo. In: OLIVEIRA, A. F. (Org.). **Oliveira no Brasil: tecnologias de produção**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2012. Cap. 6, p. 159-192.

CARVALHO, I. M. **Avaliação bacteriológica de hambúrguer de frango comercializado no município do Rio de Janeiro**. 1995. 156 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Centro de Ciências Médicas, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 1995.

CARVALHO, P. R. Aditivos dos alimentos. **Revista Logos**, n. 12, p. 57-69, 2005.

CAVALHEIRO, C.V. **Extração de compostos fenólicos assistida por ultrassom e determinação de ácidos graxos e minerais em folhas de *Olea europaea* L.** 2013. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

CELESTINO, S. M. C. **Princípios de secagem de alimentos**. – Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2010. 51 p.

CHOULIARA, E. et al. Combined effect of irradiation and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of chicken breast meat: Microbiological, chemical and sensory changes. **European Food Research and Technology**, v. 226, p. 877-888, 2008.

CLARK, D. S.; TAKACS, J. Gases as preservatives. In: ICMSF. International Commission on Microbiological Specification for Foods. **Factors affecting life and death of microorganisms**. New York: Academic Press, v. 1, p. 311, 1980.

CORTINAS, L. et al. Fatty acid content in chicken thigh and breast as affected by dietary polyunsaturation level. **Poultry Science**, v. 83, n. 7, p. 1155-1164, 2004.

COULTATE, T. P. **Food- The Chemistry of its Components**. The Royal Society of Chemistry. 4. Ed. London. Royal Society of Chemistry, 2002, 432 p.

CRUZ, M. C. M. et al. Botânica, anatomia e ecofisiologia. In: OLIVEIRA, A. F. (Org.). **Oliveira no Brasil: tecnologias de produção**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2012. Cap. 5, p. 118-157.

DELAZARI, I. Controle microbiológico de qualidade na indústria de carne. In: CICLO DE PALESTRAS SOBRE A INDÚSTRIA DA CARNE, 1984, São Paulo. **Apostila**. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, p. 62-65, 1984.

DÍEZ, C. M. et al. Centennial olive trees as a reservoir of genetic diversity. **Annals of Botany**, v. 108, n. 5, p. 797-807, 2011.

DIMITRIOS, B. Sources of natural phenolic antioxidants. **Trends Food Science Technology**, v. 17, n. 9, p. 505-512, 2006.

DITCHFIELD, C. **Estudos dos métodos para a medida da atividade de água**. 2000. 195 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia)- Escola Politécnica, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2000.

DOWNES, F. P.; ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4 ed. Washington, DC.: APHA, 2001. 676 p.

DURAN R. M.; PADILLA, R. B. Actividad antioxidante de los compuestos fenolicos. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v.44, n.2, p.101-106, 1993.

ELLIOTT, R. P. The microbiology of sanitation. In: KATSUYAMA, A. M.; STRACHAN, J. P. (Ed.). **Principles of food processing sanitation**. Washington D.C.: The Food Processing Institute, p. 39-60, 1980.

EL, S. N.; KARAKAYA, S. Olive tree (*Olea europaea*) leaves: potential beneficial effects on human health. **Nutrition Reviews**, n. 67, v. 11, p. 632-638, 2009.

EPAMIG, Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais. Cultura da Oliveira (*Olea europaea* L.). **Circular Técnica**, Belo Horizonte, n. 150, 7 p. 2002.

ERBAY, Z.; ICIER, F. The importance and potential uses of olive leaves. **Food Reviews International**, n. 26, p. 319-334, 2010.

ESTÉVEZ, M. et al. Fluorescence spectroscopy as a novel approach for the assessment of myofibrillar protein oxidation in oil-in-water emulsions. **Meat Science**, v. 80, p. 1290-1296, 2008.

ESTÉVEZ, M. Protein carbonyls in meat systems: A review. **Meat Science**, v. 89, p. 259-279, 2011.

FEDDERN, V. et al. Physico-chemical composition, fractionated glycerides and fatty acid profile of chicken skin fat. **European Journal Lipid Science Technology**, v. 112, p. 1277-1284, 2010.

FERIOLI, F.; CABONI, M. F. Composition of phospholipid fraction in raw chicken meat and pre-cooked chicken patties: influence of feeding fat sources and processing technology. **European Food Research Technology**, v. 231, p. 117-126, 2010.

FERRARI, R. A.; KOLLER, F. R., The fractioning of chicken fat. Publ. UEPG **Exact Earth Science Agricultural Science Engineering**, v. 7, p. 43-51, 2001.

FINLEY, J. W.; Jr, P. G. Technological necessity of antioxidants in the food industry. **Food and Chemical Toxicology**, v. 24, n. 10/11, p. 999-1006, 1986.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Microbiología de los alimentos**. 4. ed. Zaragoza: Acribia, 2000. 681p.

GADEKAR, Y. P. et al. Safe pickle with improved sensory traits. **Fleischwirtschaft International**, v. 1, n. 4, p. 56-63, 2008.

GALARZ, L. A. **Estimativa da vida útil em peito de frango em diferentes temperaturas de armazenamento**. 2008. 146 f. Monografia (Bacharel em Química de Alimentos)- Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2008.

GEORGANTELIS, D. et al. Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on lipid oxidation and colour stability during frozen storage of beef burgers. **Meat Science**, v. 75, p. 256-264, 2007.

GIL, C. O.; NEWTON, K. G. Growth of bacteria on meat at room temperatures. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 49, p. 315-323, 1980.

GOMES, H. D. A. et al. Evaluation of the 2-thiobarbituric acid method for measurement of lipid oxidation in mechanically deboned gamma irradiated chicken meat. **Food Chemistry**, v. 80, n. 3, p. 433-437, mar. 2003.

GRAU, A. et al. Measurement of 2-thiobarbituric acid values in dark chicken meat through derivative spectrophotometry: influence of various parameters. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 48, n. 4, p. 1155-1159, 2000.

GRÜNSPAN, E. D. et al. Contaminação microbiana em carne moída de açougues da cidade de Santa Maria, RS, Brasil. **Ciência Rural**, v. 26, n. 2, p. 263-267, 1996.

HAMILTON, R. J. The chemistry of rancidity food. In: ALLEN, J. J.; HAMILTON, R. J. **Rancidity in foods**. 3rd ed. London: Blackie Academic, Chap.1, p. 1-21, 1994.

HARTMAN, L.; LAGO, B. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v. 22, p. 475-477, 1973.

HOLLENDER, R.; MacNEIL, J. H.; MAST, M. G. Effect of fragmentation and formulation on the quality of patties made from restructured spent layer meat. **Journal of Food Science**, v.52, n.2, p.290-293, 1987.

HSIEH, P. C.; MAU, J. L.; HUANG, S. H. Antimicrobial effect of various combinations of plant extracts. **Food Microbiology**, v.18, p.35-43, 2001.

HUBER, E. **Desenvolvimento de produtos cárneos reestruturados de frango (hambúrguer e empanado) com adição de fibras vegetais como substitutos totais de gorduras**. 2012. 221 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos)-Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2012.

ICMSF (International Commission on Microbiological Specification for Foods). **Microrganismos de los Alimentos**. 1 – Técnicas de Análises Microbiológicas. 2. ed. Zaragoza: Acríbia, 1983.

ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). **Microorganisms in Foods. Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Scientific Applications**. Toronto: University of Toronto Press, v. 2, p. 181-186, 1986.

IGENE, J. O. et al. Evaluation of 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in relation to warmed-over flavor (WOF) development in cooked chicken. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 33, p. 364-367, 1985.

INPPAZ. **Instituto Panamericano de Proteccion de Alimentos y Zoonosis**. Argentina, 2001. Disponível em: <<http://www.inppaz.org.ar/>>. Acesso em: 21 nov. 2013.

JAHAN, K.; PATERSON, A; SPICKETT, C. M. Fatty acid composition, antioxidants and lipid oxidation in chicken breasts from different production regimes. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 39, p. 443–45, 2004.

JAKOBSEN, M.; BERTELSEN, G. Colour stability and lipid oxidation of fresh beef. Development of a response surface model for predicting the effects of temperature, storage time, and modified atmosphere composition. **Meat Science**, v. 54, n. 1, p. 49-57, 2000.

JAPÓN-LUJÁN, R.; CASTRO, M. D. L. Liquid–liquid extraction for the enrichment of edible oils with phenols from olive leaf extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 2505-2511, 2008.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6 ed., Porto Alegre: Artmed, 2005.

KAHKONEN, M. P. et al. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 3954-3962, 1999.

KAMEL, C. A novel look at a classic approach of plant extracts. **Feed Mix**, v. 8, n. 3, p. 16-18, 2000.

KIKUGAWA, K.; KATO, T.; HAYASAKA, A. Formation of dityrosine and other fluorescent amino acids by reaction of amino acids with lipid hydroperoxides. **Lipids**, v. 26, p. 922-929, 1991.

KIRITSAKIS, K. et al. Composition and Antioxidant Activity of Olive Leaf Extracts from Greek Olive Cultivars. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 87, p. 369-376, 2010.

KONDAIAH, N.; PANDA, B. Effect of hot and cold boning of spent hens on carcass components and functional properties of frozen meat. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 22, n. 4, p. 413-416, 1992.

KONEMAN, E. W. et al. **Diagnóstico Microbiológico** - Texto e Atlas Colorido. 5. ed., Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica, 2001.

KOUTSOUMANIS, K. et al. Modelling the effectiveness of a natural antimicrobial on *Salmonella enteritidis* as a function of concentration, temperature and pH, using conductance measurements. **Journal of Applied Microbiology**, v. 84, p. 981-987, 1998.

LAWRIE, R. A. **Ciência da Carne**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 382 p.

LEE, K. T., FOGLIA, T. A., Synthesis, purification, and characterization of structured lipids produced from chicken fat. **Journal Amistry Oil Chemistry Society**, v. 77, p. 1027-1034, 2000.

LEE, O.; LEE, B. Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in *Olea europaea* leaf extract. **Bioresource Technology**, v.101, p. 3751-3754, Jan. 2010.

LE LOIR, Y.; BARON, F.; GAUTIER, M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. **Genetic Molecules Research**, v. 2, p. 63-76, 2003.

LEVINE, R. L et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. **Methods Enzymology**, v. 186, p. 464-478, 1990.

LIMA, J. X.; OLIVEIRA, L. F. O crescimento do restaurante *self-service*: aspectos positivos e negativos para o consumidor. **Revista Higiene Alimentar**, v. 19, n. 128, p. 45-53, 2005.

LOVE, J. D. The role of heme iron in the oxidation of lipids in red meats. **Food Technology**, v. 37, n. 7, p. 117-120, 1983.

LUND, M. N, et al. Protein oxidation in muscle foods: A review. **Mol. Nutr. Food Res**, v. 55, p. 83-95, 2011.

LYNCH, M. P.; FAUSTMAN, C. Effect of aldehyde lipid oxidation products on myoglobin. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 48, n. 3, p. 600-604, 2000.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia de brock**. 10. ed. São Paulo: Prentice Hall, 2004.

MARANGONI, C. **Características físico-químicas e microbiológicas de coxa e sobrecoxa de aves que receberam folhas de oliveira na dieta**. Dados obtidos em sua Tese de Doutorado e apresentados no exame de qualificação. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria (Brasil), 2013.

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

MATHIAS, S. P. **Avaliação físico-química, microbiológica e sensorial do presunto de peru submetido à tecnologia de alta pressão hidrostática**. 2008. 82

f. Dissertação (Mestrado Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

MELO, E. A.; GUERRA, N. B. Acao antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presente em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.36, n. 1, p. 1-11, 2002.

MELTON, S. T. Methodology for following lipid oxidation in muscle foods. **Food Technology**, v. 37, n. 7, p. 105-116, 1983.

MELTON, S. L. et al. Review of stability measurements for frying oils and fried food flavor. **Journal Am. Oil Chemistry Society**, v. 71, p. 1301-1308, 1994.

MILANI, L. I. G. et al. Antioxidantes e antimicrobianos naturais para carne mecanicamente separada de frango. **Anais do 4º Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos**, p.122. Campinas, 2001.

MOLINA-ALCAIDE, E.; YÁNEZ-RUIZ, D. R. Potential use of olive by-products in ruminant feeding: A review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 147, p. 247-264, 2008.

MORTON, R. D. Aerobic plate count. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. (Eds). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. Washington: American Public Health Association (APHA), p. 63-67, 2001.

MOTTRAM, H. R., CROSSMAN, Z. M., EVERSHED, R. P., Regiospecific characterisation of the triacylglycerols in animal fats using high performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. **Analyst**, v. 126, p. 1018-1024, 2001.

NASCIMENTO, M. G. F.; NASCIMENTO, E. R. Importância da avaliação microbiológica na qualidade e segurança dos alimentos. **Seropédica: Embrapa Agrobiologia- Embrapa-CNPAB, Documentos 120**, 11 p., 2000.

NASCIMENTO, M. G. F.; OLIVEIRA, C. Z. F.; NASCIMENTO, E. R. Hambúrguer: evolução comercial e padrões microbiológicos. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 23, n. 1, p. 59-74, jan./ jun. 2005.

NUNES, T. P. **Efeito da pré-cura na estabilidade microbiológica de carne mecanicamente separada e elaboração de um produto com filés de peito de galinhas de descarte**. 2003. 117 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Universidade de São Paulo- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2003.

OLIVO, R.; SANTOS, M. N; FRANCO, F. O. Carne de frango e nutrição. In: OLIVO, R. **O mundo do frango: cadeia produtiva da carne de frango**. Criciúma: Ed. do Autor, 2006. Cap. 20, p. 240-272.

PACETTA, C. F. Estudos dos princípios ativos e composição físico-química das folhas da oliveira. In: OLIVEIRA, A. F. (Org.). **Oliveira no Brasil: tecnologias de produção**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2012. Cap. 15, p. 481-495.

PADILHA, P. C.; PINEHIRO, R. I. O papel dos alimentos funcionais na prevenção e controle do câncer de mama. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 50, n. 3, p. 251-260, 2004.

PADILHA, A. D. G. **Antioxidante natural na conservação da carne de frango in vivo**. 2007. 126 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

PAINE, F. A.; PAINE, H. Y. **A handbook of food packing**. Galsgow: Blackie Academic & Professional, 1983, 497p.

PAIVA-MARTINS, F. et al. The effect of olive leaves supplementation on the feed digestibility, growth performances of pigs and quality of pork meat. **Meat Science**, v. 82, p. 438-443, 2009.

PEREIRA, K.S.; PEREIRA, J.L. Estafilococos coagulase negativa: potenciais patógenos em alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 19, n. 129, p. 32-34, 2005.

PEREIRA, M. G. Aplicação de antioxidantes naturais em Carne Mecanicamente Separada (CMS) de Ave. 2009. 128 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos)- Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

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

POTENÇA, A. et al. Perfil lipídico e maciez da carne de coxa e sobrecoxa de frangos de corte alimentados com rações contendo diferentes fontes lipídicas. **R. Bras. Zootec.**, v. 39, n. 8, p.1774-1783, 2010.

POURCHET-CAMPOS, M. A. Perspectivas do uso de aditivos em alimentos: os antioxidantes. **Revista Nacional da Carne**, v. 227, 1996.

PRATT, D. E. Natural antioxidants from plant material. In: HUANG, M. T.; HO, C. T.; LEE, C. Y. Phenolic compounds in food and their effects on health. Washington: **American Chemical Society**, p. 54-71, 1992.

RACANICCI, A. M. C. et al. Efeito do uso de óleo de vísceras de aves oxidado na ração de frangos de corte sobre o desempenho, a composição da carcaça e a estabilidade oxidativa da carne da sobrecoxa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 3, p. 443-449, 2008.

RAHARJO, S.; SOFOS, J. N.; SCHMIDT, G. R. Improved speed, specificity, and limit of determination of the aqueous acid extraction thiobarbituric acid – C₁₈ method for measuring lipid peroxidation in beef. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 40, n. 11, p. 2182-2185, 1992.

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

RANGEL, V. P. **Avaliação de parâmetros bacteriológicos e pH em filés de peito de frango embalados em atmosfera modificada**. 2009. 63 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)- Universidade Federal Fluminense- Faculdade de Veterinária, Niterói, 2009.

RECKNAGEL, R. O.; GLENDE Jr., E. A. Spectrophotometric detection of lipid conjugated dienes. **Methods Enzymology**, v. 105, p. 331-337, 1984.

REZNICK, A. Z.; PACKER, L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. **Methods Enzymology**, v. 233, p. 357-363, 1994.

RHEE, K. S. et al. Fatty acid profiles of the total lipids and lipid oxidation in pork muscles as affected by canola oil in the animal diet and muscle location. **Meat Science**, Oxford, v. 23, n. 3, p. 201-210, 1988.

RICE-EVANS, C. A. et al. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoides. **Free Radical Research**, v. 22, n. 4, p. 375-383, 1995.

RITTER, R.; BERGMANN, G. P. Eficácia do sistema de pré-resfriamento de frangos em tanques, sobre a redução da contaminação bacteriana de carcaças. **Revista Higiene alimentar**, v. 17, n. 108, p. 97-104, 2003.

SANT'ANA, A. S.; CONCEIÇÃO, C.; AZEREDO, D. R. P. Comparação entre os métodos rápidos Simplate TPC-Cl e Petrifilm AC e os métodos convencionais de contagem em placas, para a enumeração de aeróbios mesófilos em sorvetes. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 95, p. 82-87, abr., 2002.

SELANI, M. M. **Extrato de bagaço de uva como antioxidante natural em carne de frango processada e armazenada sob congelamento**. 2010. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2010.

SHEEHY, P. J.; MORRISSEY, P. A.; FLYNN A. Influence of heated vegetable oils and alpha-tocopheryl acetate supplementation on alphanatocopherol, fatty acids and lipid peroxidation in chicken muscle. **British Poultry Science**, v. 34, n. 2, p. 367-381, 1993.

SILVA, D. C. F. **Comparativo das características das carnes de frango caipira e industrial da região oeste do Rio Grande do Norte**. 2011. 43 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)- Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, RN, 2012.

SIMOPOULOS, A. P. et al. Essentiality and recommended dietary intakes for Omega-6 and Omega-3 fatty acids. **Animal Nutrition Metab.**, Basel, v. 43, n. 2, p. 127-130, 1999.

SOYER, A. et al. Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat. **Food Chemistry**, v.120, p. 1025-1030, 2010.

SUDJANA, A. N.; D'ORAZIO, C.; RYAN, V. Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 33, n. 5, p. 461-463, 2009.

TASIOULA-MARGARI, M.; OLOGERI, O. Isolation and characterization of virgin olive oil phenolic compounds by HPLC/UV and GC/MS. **Journal of Food Science**, v. 66, p. 530-534, 2001.

TEETS, A. S.; WERE, L. M. Inhibition of lipid oxidation in refrigerated and frozen salted raw minced chicken breasts with electron beam irradiated almond skin powder. **ls3**, v. 80, p. 1326-1332, 2008.

TERRA, N. N. Apontamentos de tecnologia de carnes. São Leopoldo: Editora Unisinos, 1998. 216 p.

TERRA, N. N.; BRUM, M. A. **Carne e seus derivados**: técnicas de controle de qualidade. São Paulo: Nobel, 119 p., 1988.

TERRA, N. N. et al. Extrato de erva mate (*Ilex paraguariensis*) como antioxidante em

carne de peru submetida a tratamento térmico. **Revista Higiene Alimentar**, v. 22, n. 166, 2008.

TORRES, E. A. F. S. et al. Papel do sal iodado na oxidação lipídica em hambúrgueres bovino e suíno (misto) ou de frango. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 49-52, 1998.

TORRES, E. A. F. S. et al. Composição centesimal e valor calórico de alimentos de origem animal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 2, p.145-150, 2000.

TRAESEL, C. K. et al. Óleos essenciais como substituintes deantibióticos promotores de crescimento em frangos de corte: perfil de soroproteínas e peroxidação lipídica. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 2, p. 278-284, fev. 2011.

UBABEF - União Brasileira de Avicultura. **Relatório Anual de 2014**. São Paulo, p. 1-55, 2014. Disponível em: <<http://www.ubabef.com.br>>. Acesso em: 25 de fevereiro de 2014.

UCDAVIS. University of California. **Food Science and Technology 104L: Laboratory Syllabus**. Davis, 1987. 104 p.

UTIYAMA, C. E et al. Antimicrobials, probiotics, prebiotics and herbal extracts as growth promoters on performance of weanling pigs. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 1, p. 26-26, 2004.

VALSTA, L. M.; TAPANAINEN, H.; MANNISTO, S. Meat fats in nutrition. **Meat Science**, Oxford, v. 70, n. 3, p. 525-530, 2005.

VAN DEN BERG, C. Water activity and its estimation in food systems: theoretical aspects. In **Water Activity: Influences on Food Quality**, eds L. B. Rockland & G. F. Stewart. Academic Press, New York, pp. 1-61.

VASCONSELOS, M. A. S. **Conservação de alimentos**. Recife: EDUFRPE, 130p. 2010.

VENTURINI, K. S.; SARCINELLI, M. F.; SILVA, L. C. **Características da carne de frango**. Boletim Técnico - PIE-UFES:01307 - Editado: 18.08.2007. Disponível em: http://209.85.165.104/search?q=cache:ghl2XJhzJV0J:www.agais.com/telomc/b01307_caracteristicas_carnefrango.pdf+pH+frango+legisla%C3%A7%C3%A3o&hl=pt-BR&ct=clnk&cd=2&gl=br. Acesso em: 15 out. 2013.

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.

VIEIRA, E. T. T. **Influência do processo de congelamento na qualidade de peito de frango**. 2007. 119f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)-Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, RS, 2007.

VILJANEN, K. Protein oxidation and protein-lipid interactions in different food models in the presence of berry phenolics. ACADEMIC DISSERTATION. To be presented, with the permission of the Faculty of Agriculture and Forestry of the University of Helsinki, for public criticism in lecture hall B3, Viikki, on October 7th 2005. University of Helsinki.

VILLA, F.; OLIVEIRA, A. F. Origem e expansão da oliveira na América Latina. In: OLIVEIRA, A. F. (Org.). **Oliveira no Brasil: tecnologias de produção**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2012. Cap. 1, p. 21-38.

XYNOS, N. et al. Development of a green extraction procedure with super/subcritical fluids to produce extracts enriched in oleuropein from olive leaves. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 67, p. 89-93, 2012.

WANG, B. et al. Modified extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values in meat with increased specificity and simplicity. **Food Chemistry and Toxicology**, v. 67, n. 8, p. 2833-2836, 2002.

WETTASINGHE M.; SHAHIDI F. Antioxidant and free radical-scavenging properties of ethanolic extracts of defatted borage (*Borago officinalis* L.) seeds. **Food Chemistry**, v.67, p. 399-414, 1999.

WONG, Y.Y.P.; KITTS, D.D. Studies on the dual antioxidant and antimicrobial properties of parsley (*Petroselinum crispus*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. **Food Chemistry**, v.97, p.505-515, 2006.

YILDIRIM, A.; MAVI, A.; KARA, A.A. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 4083-4089, 2001.

ZHENG, W., WANG, S.Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 5165-5170, 2001.