

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

Angela Souza Rodrigues

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS
DE ORA-PRO-NÓBIS (*Pereskia aculeata* Mill.) E SUA APLICAÇÃO EM
MORTADELA**

Santa Maria, RS
2016

Angela Souza Rodrigues

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE ORA
PRO-NÓBIS (*Pereskia aculeata* Mill.) E SUA APLICAÇÃO EM MORTADELA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia em Alimentos, Área de Concentração em Ciência e Tecnologia 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^o. Dr^o. Ernesto Hashime Kubota

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Gilberti Helena Hubscher Lopes

Santa Maria, RS
2016

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Souza Rodrigues, Angela
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS
DE ORA-PRO-NÓBIS (*Pereskia aculeata* Mill.) E SUA
APLICAÇÃO EM MORTADELA / Angela Souza Rodrigues.-2016.
91 p.; 30cm

Orientador: Ernesto Hashime Kubota
Coorientadora: Gilberti Helena Hubscher Lopes
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, RS, 2016

1. Mortadela 2. Compostos naturais 3. Extratos 4.
Antioxidantes 5. Oxidação I. Hashime Kubota, Ernesto II.
Helena Hubscher Lopes, Gilberti III. Título.

©2016

Todos os direitos autorais reservados a Angela Souza Rodrigues. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

Endereço: Rua Pedro Santini, n. 3495, Bairro Novo Cerrito, Santa Maria, RS. CEP: 97060480
Fone 55 91361723; E-mail: ange-atinha@hotmail.com

**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**

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA
DE EXTRATOS DE ORA-PRO-NOBIS (*Pereskia aculeata*
Mill.) E SUA APLICAÇÃO EM MORTADELA**

elaborada por
Angela Souza Rodrigues

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

COMISSÃO EXAMINADORA:

Ernesto Hashime Kubota, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Gilberti Helena Hubscher Lopes, Dr^a. (UFSM)
(Co-orientador)

Viviani Ruffo de Oliveira, Dr^a. (UFRGS)

Paulo Cezar Bastianello Campagnol, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 09 março de 2016.

Em especial ao meu pai já falecido Angelo,
minha mãe Emília e irmã Geangela,
pelo apoio incondicional e
constante incentivo. Amo Vocês!

Dedico

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por estar sempre presente na minha vida, a ele agradeço por mais está conquista.

Ao meu pai, mesmo não estando mais neste mundo agradeço por estar sempre presente na minha vida. Essa vitória é para você.

A minha família, especialmente a minha mãe **Emília** e irmã **Geangela**, que muitas vezes abriram mão de seus sonhos para que eu pudesse realizar os meus sonhos e não mediram esforços para que eu chegasse a mais uma etapa da minha vida. A vocês minha eterna gratidão. Amo vocês!

Ao meu orientador **Ernesto Hashime Kubota** agradeço pela orientação e sabedoria que foram determinantes para a realização dos estudos. À minha Co-orientadora, Professora **Gilberti Helena Hubscher Lopes**, pelas palavras incentivadoras e pela orientação nesses anos.

As minhas amigas, colegas e companheiras, **Camila Giacomelli**, **Jamila Alves** e **Karine Moro**, não tenho palavras para agradecer o quanto vocês me ajudaram, contem sempre comigo.

À **Vanessa Vieira**, **Natiéli Piovesan**, **Michele Mantelli Shmidt** e **Flávia Santi Stefanello**, agradeço imensamente por toda ajuda.

À minha amiga querida **Tiffany Prokopp Hautrive**, por toda ajuda, pela amizade durante estes anos transcorridos.

As estagiárias **Quellen Ribeiro** e **Verônica Trost**, por toda ajuda nas análises.

A minha amiga **Lilian Cardoso**, por todos os conselhos durante estes anos, pela amizade e carinho.

Aos meus amigos, **Allana Cardoso**, **Jéssica Martins**, **Leonardo Friedrich**, **Vitor Oliveira**, **Silvana Oliveira** e **Diuly Oliveira** pela amizade verdadeira e apoio durante esses anos de mestrado.

À família #TP: **Augusto, Camila, Fernanda, Franciele, Jamila, Karine, Marcelo, Maritiele, Naiéli, e Thaiane** que amo muito, pelo companheirismo nestes dois anos de mestrado, sem vocês o mestrado não seria o mesmo.

Aos funcionários do DTCA, **Magé, Marialene e Moisés** pela dedicação, amizade e pelos ensinamentos transmitido.

Aos funcionários do DTCA, **Andressa, Carlos, Lia, Liana, Marta, Matheus e Rosangela**, pela paciência, dedicação e disponibilidade em ajudar.

Aos professores **Viviani Ruffo e Paulo Cezar Campagnol** pela participação como banca avaliadora e pelas brilhantes considerações.

Aos professores **Rosa Cristina Prestes e Renius Mello**, por toda dedicação e disponibilidade em ajudar.

A todos os **professores do PPGCTA**, por contribuírem com a minha formação.

Ao **CNPQ** pela concessão da bolsa de mestrado que tornou possível a realização desta pesquisa.

Por fim, agradeço a todos aqueles que me ajudaram na execução desta pesquisa.

A todos, meu eterno agradecimento!

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor,
mas lutei para que o melhor fosse feito.
Não sou o que deveria ser,
mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

Marthin Luther King

RESUMO

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE ORA-PRO-NOBIS (*Pereskia aculeata* Mill.) E SUA APLICAÇÃO EM MORTADELA

AUTORA: Angela Souza Rodrigues
ORIENTADOR: Ernesto Hashime Kubota

A mortadela é um dos produtos cárneos com bom valor nutritivo e excelente aceitação pelo consumidor. Além da fonte proteica e lipídica, uma infinidade de ingredientes não cárneos tem sido utilizados na elaboração dos produtos emulsionados. O uso de compostos naturais para aumentar a vida útil dos produtos cárneos é uma alternativa promissora, uma vez que muitas substâncias vegetais possuem propriedades antioxidantes e antimicrobianas. A ora-pro-nóbis é considerada um complemento nutricional devido ao seu conteúdo proteico, fibras, ferro, cálcio, dentre outros. Este estudo teve como objetivo obter extratos das folhas de ora-pro-nóbis e avaliar a atividade antioxidante e antimicrobiana, além disso, aplicar o extrato com maior atividade antioxidante em mortadelas, visando como potencial antioxidante natural. Primeiramente, foi realizada a composição química e mineral das folhas de ora-pro-nóbis. Os extratos foram obtidos por agitação convencional, variando o solvente (água e etanol), tempo (1 e 24h) e temperatura (95 °C e 25 °C). Nos extratos obtidos foram realizadas análises de compostos fenólicos totais, flavonoides totais, atividade antimicrobiana e atividade antioxidante *in vitro* através dos métodos DPPH, FRAP e radical ABTS^{•+}. O extrato obtido através de extração por agitação utilizando água destilada como solvente e temperatura de 95 °C foi o que apresentou as melhores características antioxidantes, então o mesmo foi aplicado em diferentes concentrações em mortadelas. Após o produto acabado foram realizadas as análises físico-químicas, sensoriais e microbiológicas. As mortadelas apresentaram dentro dos requisitos da legislação tanto para a composição centesimal quanto para estabilidade microbiológica. Não apresentaram alterações oxidativas durante o armazenamento. Observou uma tendência de aumento nos valores de pH de todos os tratamentos, durante o tempo de armazenamento. As mortadelas adicionadas de 0,2% de eritorbato de sódio e 2,0% de extrato foram as que apresentaram menor oxidação lipídica após os 70 dias de armazenamento. A avaliação sensorial demonstrou uma boa aceitabilidade pelos consumidores. Pode-se concluir que o extrato das folhas de ora-pro-nóbis apresentou com potencial antioxidante a ser aproveitado pela indústria cárnea.

Palavras-chave: Mortadela. Compostos naturais. Extratos. Antioxidantes. Oxidação

ABSTRACT

ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ORA-PRO-NOBIS EXTRACTS (*Pereskia aculeata* Mill.) AND APPLICATION IN MORTADELLA

AUTHOR: Angela Souza Rodrigues
ADVISOR: Ernesto Hashime Kubota

Mortadella is one of the meat products with good nutritional value and excellent consumer acceptance. In addition to protein and lipid source, a plethora of non-meat ingredients have been used in the preparation of emulsified products. The use of natural compounds to increase the shelf life of meat products is a promising alternative, since many plant substances possess antioxidant and antimicrobial properties. The ora-pro-nobis is considered a nutritional supplement because of its protein content, fiber, iron, calcium, among others. This study aimed to obtain extracts from the leaves of ora-pro-nobis and evaluate the antioxidant and antimicrobial activity, in addition, apply the extract with antioxidant activity in bologna, aiming as natural antioxidant potential. First, it applied the chemical and mineral composition of the leaves of ora-pro-nobis. Extracts were obtained by conventional stirring, varying the solvent (water and ethanol), time (1 and 24h) and temperature (95 °C and 25 °C). In the extracts were carried out analysis of total phenolics, total flavonoids, antimicrobial and antioxidant activity in vitro through the DPPH methods, FRAP and ABTS radical • +. The extract obtained by extraction by shaking using distilled water as a solvent and 95 °C showed the best antioxidant properties, so it has been applied in different concentrations in bologna. After the finished product were carried out physico-chemical, sensory and microbiological analysis. The bologna presented within the requirements of legislation for both the chemical composition and for microbiological stability. They showed no oxidative changes during storage. He observed a tendency of increasing the pH of all treatments during the storage time. The mortadella added 0.2% sodium erythorbate and 2.0% extract showed the lowest lipid oxidation after 70 days of storage. The sensory evaluation showed a good acceptance by consumers. It can be concluded that the extract from the leaves of ora-pro-nobis presented with antioxidant potential to be tapped by carnea industry.

Keywords: Bologna Sausage. Natural Compounds. Extracts. Antioxidants. Oxidation

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Hortaliça não convencional ora-pro-nóbis.....	19
Figura 2 - Reação da análise entre o ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) e o malonaldeído formando o composto colorido.....	23

LISTA DE TABELAS

MANUSCRITO 1

Tabela 1 - Resultados encontrados para composição centesimal da ora-pro-nóbis desidratada (<i>Pereskia aculeata</i> Mill).....	36
Tabela 2 - Composição mineral das folhas de ora-pro-nóbis (<i>Pereskia aculeata</i> Mill.).....	38
Tabela 3 - Resultados encontrados para o teor de fenólicos e flavonoides totais, IC ₅₀ , FRAP e Radical ABTS ^{•+} para os extratos das folhas de ora-pro-nóbis.....	41

MANUSCRITO 2

Tabela 1 - Formulações das mortadelas adicionadas de diferentes concentrações de extrato de ora-pro-nóbis e eritorbato sódio.....	59
Tabela 2 - Composição centesimal das mortadelas com diferentes concentrações de eritorbato de sódio e extrato das folhas de ora-pro-nóbis.....	63
Tabela 3 - Valores de pH, TBARS (mgMDA/kg de amostra) e Atividade de água das mortadelas elaboradas com diferentes concentrações de extrato de ora-pro-nóbis e eritorbato de sódio durante 70 dias de armazenamento (4 °C).....	66
Tabela 4 - Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta de parâmetro de cor L^* , com base no planejamento fatorial 2^2	67
Tabela 5 - Análise de Variância (ANOVA) para a resposta de parâmetro de cor L^*	68
Tabela 6 - Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta de parâmetro de cor a^* , com base no planejamento fatorial 2^2	69
Tabela 7 - Análise de Variância (ANOVA) para a resposta de parâmetro de cor a^*	70
Tabela 8 - Valores de parâmetro b^* das mortadelas elaboradas com diferentes concentrações de extrato de ora-pro-nobis e eritorbato de sódio durante 70 dias de armazenamento (4 °C).....	71
Tabela 9 - Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta de parâmetro de cor C^*	72
Tabela 10 Análise de Variância (ANOVA) para a resposta de parâmetro de cor C^*	72
Tabela 11 - Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta de parâmetro de cor h°	73
Tabela 12 - Análise de Variância (ANOVA) para a resposta de parâmetro de cor h°	74
Tabela 13 - Resultados da análise sensorial das mortadelas elaboradas com diferentes concentrações de extrato de ora-pro-nóbis e eritorbato de sódio, nos dias 22 e 42 de armazenamento a 4 °C.....	76

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....	89
APÊNDICE B – Ficha de Análise Sensorial.....	91

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GERAL.....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1 ORA-PRO-NOBIS	18
3.2 EXTRATOS VEGETAIS APLICADOS EM ALIMENTOS	19
3.3 MORTADELA	20
3.4 OXIDAÇÃO LIPÍDICA.....	21
3.4.1 Método de avaliação da oxidação lipídica pela Técnica de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico	22
3.5 ANTIOXIDANTES.....	23
3.5.1 Antioxidantes Sintéticos	24
3.5.2 Antioxidantes Naturais	25
4.1 ARTIGO CIENTIFÍCO 1: Caracterização química, atividade antioxidante e antimicrobiana das folhas de ora-pro-nóbis (<i>Pereskia aculeata</i> Mill.).....	27
4.2 ARTIGO CIENTIFÍCO 2: Avaliação de mortadelas adicionadas de extrato de folhas de ora-pro-nóbis (<i>Pereskia aculeata</i> Mill.) como antioxidante natural.....	54
5 CONCLUSÃO	81
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	82

1 INTRODUÇÃO

O resgate e a valorização de hortaliças não-convencionais representam ganhos importantes do ponto de vista cultural, econômico, social e nutricional. O cultivo dessas hortaliças é feito na sua grande parte por populações tradicionais (agricultores familiares) que preservam o conhecimento acerca de seu cultivo e consumo, passando-o de geração a geração. As hortaliças não convencionais são aquelas presentes em determinadas localidades ou regiões exercendo influência na alimentação de uma população tradicional, como o ora-pro-nóbis (BRASIL, 2010).

A ora-pro-nóbis, é o nome popular das espécies, *Pereskia aculeata* Mill. e *P. grandifolia* Haword (*Cactaceae*), é uma planta rústica bastante conhecida na medicina tradicional brasileira como um agente diurético, no entanto não existam dados científicos publicados para apoiar este efeito (KAZAMA et al., 2012). Embora tenha um alto potencial de utilização, no conjunto de hortaliças não-convencionais é cultivado de forma marginal e rudimentar (KINUPP, 2006).

A variedade de produtos cárneos que não demandam muito tempo para o preparo, disponibilizada nas gôndolas de supermercados, tornou-se um atrativo para os consumidores, contribuindo para que salsicha, salame, mortadela, linguiça, empanado, almôndegas e hambúrguer sejam opções crescentes para o lanche de muitas famílias no mundo todo (OLIVEIRA et al., 2013)

Entende-se por mortadela “o produto cárneo industrializado, obtido de uma emulsão das carnes de animais de açougue, acrescido ou não de toucinho, adicionado de ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial, em diferentes formas e submetido ao tratamento térmico adequado” (BRASIL, 2000). A mortadela é um dos produtos cárneos com bom valor nutritivo e excelente aceitação pelo consumidor, a sua produção tem superado em muitos outros produtos tidos como tradicionais pela indústria cárnea brasileira e, por se tratar de um produto de amplo consumo popular, a tendência é de crescimento contínuo. Além da fonte proteica e lipídica, uma infinidade de ingredientes não cárneos tem sido utilizada na elaboração dos produtos emulsionados, visando reduzir perdas no cozimento e nos custos da formulação, podendo melhorar ou alterar a aparência, a palatabilidade, a textura e, principalmente, estabilizando os lipídios durante o cozimento (MASSINGUE, 2012).

O lipídios desempenham um importante papel no que diz respeito à qualidade dos produtos alimentares, particularmente em relação às propriedades sensoriais que os tornam desejáveis (*flavor*, cor e textura). Além disso, conferem valor nutricional aos alimentos,

constituindo uma fonte de energia metabólica, de ácidos graxos essenciais (ácido linoléico, linolênico e araquidônico) e de vitaminas lipossolúveis (ARAUJO, 2006).

A oxidação lipídica é uma das principais causas da deterioração da qualidade de alimentos devido ao desenvolvimento de sabores e odores desagradáveis. Pode tornar os alimentos impróprios para consumo, além de provocar alterações que irão afetar não só a qualidade nutricional, devido à degradação de vitaminas lipossolúveis e de ácidos graxos essenciais, mas também a integridade e segurança dos alimentos, através da formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos (CASAROTTO, 2013).

As informações advindas quanto aos efeitos produzidos pelo consumo de antioxidantes sintéticos, tem cada vez mais elevado a preferência por ingredientes e aditivos naturais, isto tem despertado interesse por pesquisas no sentido de encontrar produtos naturais com atividade antioxidante, que possam substituir os sintéticos (ROJAS; BREWER, 2007; MERCADANTE et al., 2010; SELANI et al., 2011) ou serem associados a eles com o intuito de diminuir sua quantidade nos alimentos (BIRCH et al., 2001). O interesse na aplicação de antioxidantes naturais sucede devido aos seus efeitos benéficos da prevenção e redução do risco de várias doenças (SIGER et al., 2012). Os antioxidantes são adicionados aos produtos cárneos processados para prevenir a oxidação lipídica, retardar o desenvolvimento de *off-favors* e melhorar a estabilidade de cor (SHAH, 2014).

O uso de compostos naturais para aumentar a vida útil dos produtos cárneos é um procedimento promissor, uma vez que muitas substâncias vegetais possuem propriedades antioxidante e antimicrobiana, além de melhorar o aporte nutricional. Os ingredientes funcionais em produtos cárneos podem melhorar a qualidade nutricional e prolongar a vida de prateleira (FERNÁNDEZ- GINÉZ et al., 2005).

Neste contexto a obtenção de extrato de ora-pro-nóbis, sua caracterização como antioxidante e/ou antimicrobiano e sua aplicação em produto cárneo contribuiria para aumentar o potencial do cultivo desta espécie de hortaliça.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Este estudo teve como objetivo obter extratos das folhas de ora-pro-nóbis, avaliar a atividade antioxidante e antimicrobiana, e aplicar o extrato com maior atividade antioxidante em mortadelas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar as folhas de ora-pro-nóbis quanto a composição centesimal e mineral;
- Testar diferentes condições para obtenção dos extratos das folhas de ora-pro-nóbis;
- Verificar a influência das condições de obtenção do extrato da folha de ora-pro-nóbis sobre a composição de compostos fenólicos, flavonoides, capacidade antioxidante e antimicrobiana;
- Avaliar a aplicação do extrato com as melhores características antioxidantes e antimicrobianas em diferentes concentrações em mortadelas refrigerada;
- Caracterizar as mortadelas desenvolvidas em termos de composição físico-química, estabilidade lipídica, microbiológica e sensorial.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ORA-PRO-NÓBIS

O Brasil possui uma vasta biodiversidade de plantas nas quais são encontrados ricos nutrientes e minerais. Dentre essas, são apresentadas as hortaliças não convencionais que são uma alternativa alimentar e uma opção de atividade agropecuária, por serem plantas com excelente valor nutricional, de fácil cultivo e baixo custo (ROCHA et al., 2008). Dentre elas encontra-se a *Pereskia aculeata* Miller, que do latim significa “rogai por nós”. Esta pertence ao reino Plantae, da família *Cactaceae* e gênero *Pereskia* (ALMEIDA; CORRÊA, 2012).

Pereskia aculeata Miller conhecida popularmente como ora-pro-nóbis, é uma trepadeira arbustiva, considerada detentora do maior número de caracteres primitivos da família *Cactaceae*. Representantes do gênero ocorrem somente em regiões mésicas ou levemente áridas. Consistem em plantas com caules finos, sublenhosos ou lenhosos, onde se inserem folhas simples, elípticas e largas com poucos espinhos na base e surgem flores terminais solitárias ou em cimeiras curtas. Podem atingir dez metros de altura, com ramos longos e espinhos na axila das folhas elípticas e carnosas (MAZIA, 2012).

Suas folhas têm forma elíptica e simétrica, com cerca de 7 cm de comprimento e 3 cm de largura. Seu pecíolo curto, agrupando-se de duas a seis folhas em ramos laterais. Também apresenta espinhos axilares, característica da sua família (DUARTE; HAYASHI, 2005). Além disso, possui pequenas flores de coloração branca e frutos em pequenas bagas amarelas (BRASIL, 2010).

A ora-pro-nóbis também é popularmente conhecido como groselha-da-américa, lobrobo, e é considerado um complemento nutricional devido ao seu conteúdo proteico, fibras, ferro, cálcio, dentre outros. Esta hortaliça possui folhas suculentas e comestíveis, podendo ser usada em várias preparações, como farinhas, saladas, refogados, tortas e massas alimentícias como o macarrão (ROCHA et al., 2008).

Mesmo sendo pouco estudada cientificamente, sabe-se que a ora-pro-nóbis apresenta em média 20% de teor proteico e 85% de digestibilidade, além de elevados valores de aminoácidos essenciais, destacando-se a lisina, leucina e valina, podendo assim demonstrar aplicação farmacológica no tratamento e prevenção de patologias relacionadas a deficiências proteicas (ROCHA et al., 2008; MAZIA, 2012).

Dentre as inúmeras plantas, com finalidades terapêuticas, estão as do gênero *Pereskia*, que tem demonstrado um potencial promissor, especialmente no que tange ao tratamento de

certos tipos de cânceres e doenças cardiovasculares. Por serem plantas de alto teor nutricional, também têm sido utilizadas como fontes suplementares de alimentação para seres humanos e animais. Os estudos preliminares, apesar de pequeno número ainda, demonstram grandes possibilidades destas plantas virem a serem aproveitadas como agentes medicinais, sob diversas formas de aplicação (TAN et al., 2004). Também tem sido utilizada na combinação de pratos tradicionais, assim como as folhas secas e moídas no preparo da farinha múltipla, complemento nutricional no combate à desnutrição (BRASIL, 2010).

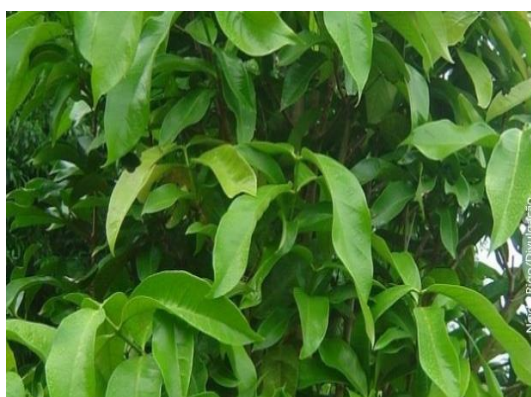


Figura 1: Hortaliza não convencional ora-pro-nóbis

Fonte: http://www.universojatoba.com.br/sustentabilidade/preservacao_ambiental/conheca-a-ora-pro-nobis.

3.2 EXTRATOS VEGETAIS APLICADOS EM ALIMENTOS

Existem várias metodologias para preparação de extratos vegetais, visando o isolamento de seus constituintes químicos. O método de extração utilizado pode influenciar significativamente no nível dos componentes recuperados, isto pode determinar a capacidade antioxidante de cada tipo de extrato (KOBAYASHI et al., 2007; HAYOUNI et al., 2007).

Dentre as diversas metodologias de extração, normalmente é realizada a extração simples, onde a amostra é colocada em contato com solventes por determinado tempo ou por extração exaustiva, que utiliza um aparelho com solvente aquecido, passando continuamente através da amostra. O período de extração deve variar entre 1 minuto a 24 horas. No entanto, longos períodos de extração aumentam a possibilidade de oxidação dos fenólicos exigindo que agentes redutores sejam adicionados ao solvente do sistema (VIEIRA, 2012).

Pode-se utilizar diferentes solventes e suas combinações para a preparação de extratos vegetais. Um método considerado adequado para a análise químico-farmacológica é o de extração em solução hidroalcoólica (etanol/água) a fim de obter-se o extrato bruto. No caso de

este extrato apresentar atividades biológicas de interesse, pode-se partir para um método sistemático de estudo, em que o metanol, por possibilitar a extração de um maior número de compostos, é indicado como o solvente mais apropriado para a preparação do extrato bruto.

Muitos estudos sobre aplicação de antioxidantes naturais em produtos cárneos podem ser encontrados na literatura. Extratos de sálvia, alecrim e orégano já estão disponíveis comercialmente e são empregados comumente na elaboração de produtos cárneos, os extratos vegetais se encontram normalmente na forma líquida e são adicionados a produtos cárneos em 500-5000 ppm da base gordurosa (VELASCO, 2005).

O uso de antioxidantes naturais em produtos cárneos tem sido objeto de estudo em diversas matérias-primas. Porém, segundo Ahn et al. (2007), deve-se tomar cuidado, pois o uso de altas concentrações dos extratos naturais pode influenciar nas propriedades sensoriais dos produtos cárneos. Desta forma é fundamental o desenvolvimento de extratos naturais com propriedades antioxidantes e antimicrobianas que possam ser utilizados em baixas concentrações e que não interfiram as características sensoriais do produto final.

3.3 MORTADELA

Classifica-se como derivado cárneo, todo aquele no qual as propriedades da carne fresca foram alteradas por um ou mais dos seguintes procedimentos: moagem, floculação ou emulsão, adição de temperos, adição de agentes da cura ou tratamento térmico (CONCEIÇÃO; GONÇALVES, 2009). São alimentos de baixa acidez, elevada atividade de água, características que facilitam sua deterioração, para preservação da qualidade são necessário cuidados em toda a cadeia produtiva (MATARAGAS; DROSINOS, 2007).

A legislação brasileira, na Instrução Normativa n. 04, de 05/04/2000, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2000), define mortadela como um produto industrializado, obtido da emulsão de carnes de animais de açougue, acrescido ou não de toucinho, adicionado de ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial, em diferentes formas, e submetido ao tratamento térmico adequado. A classificação das mortadelas varia de acordo com as matérias-primas e o método de fabricação. A mortadela pode ser adicionada de carne mecanicamente separada, até o máximo de 60% do total das carnes utilizadas, miúdos comestíveis de diferentes espécies de animais de açougue (estômago, coração, língua, fígado, rins e miolos), pele e tendões no limite máximo de 10%.

A mortadela é um dos produtos cárneos que apresenta bom valor nutritivo e excelente aceitação pelo consumidor. Ramos e Gomide (2005) apontam que a sua produção tem superado

em muitos outros produtos tidos como tradicionais pela indústria cárnea brasileira e, por se tratar de um produto de amplo consumo popular, a tendência é de crescimento contínuo. Além da fonte protéica e lipídica, uma infinidade de ingredientes não cárneos tem sido utilizada na elaboração dos produtos emulsionados, visando reduzir perdas no cozimento e nos custos da formulação, podendo melhorar ou alterar a aparência, a palatabilidade, a textura e, principalmente, estabilizando os lipídios durante o cozimento (MASSINGUE, 2012).

Os requisitos estabelecidos para mortadelas são teores máximos de carboidratos totais de 10%, amido de 5%, umidade de 65%, gordura de 30% e proteína mínima de 12% (BRASIL, 2000).

A mortadela é um embutido que demonstra claramente como o advento da tecnologia dos produtos cárneos possibilitou o acesso à proteína cárnea de um contingente populacional que não tinha condições de suprir à quantidade mínima diária recomendada de proteína consumindo carne. A família das mortadelas, por sua excelente relação custo/benefício, representa expressiva parcela do total do volume comercializado de produtos cárneos emulsionados (CENCI, 2013).

3.4 OXIDAÇÃO LIPÍDICA

O processo de oxidação lipídica é o principal fator responsável pela deterioração de alimentos com alto teor de gorduras, resultando em alterações nas características sensoriais (cor, aroma, textura, sabor), no valor nutritivo (degradação de vitaminas lipossolúveis e de ácidos graxos essenciais) (SILVA; JORGE, 2014) e também na integridade e segurança dos alimentos (formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos) (ZHANG et al., 2010).

A estrutura lipídica dos alimentos (insaturações), o meio onde se encontram (contato com oxigênio e luz) e a presença de pré-oxidantes (íons metálicos de transição) e antioxidantes são fatores determinantes para estas reações (WHEATLEY, 2000) que podem ocorrer por diferentes mecanismos, como reações hidrolíticas, oxidação enzimática, fotoxidação e autooxidação (SOARES et al., 2012).

De acordo com Almeida (2005), os principais fatores que afetam a deterioração da qualidade da carne pela oxidação lipídica incluem a composição dos fosfolipídios, o teor de ácidos graxos poli-insaturados na carne, a presença de íons metais livres. Dentre os fatores extrínsecos que contribuem para o desenvolvimento desse processo em carnes estão às condições de processamento, como a moagem, o tratamento térmico, a aplicação de alta pressão, a adição de outros ingredientes na formulação do produto, a temperatura de

armazenamento, o tipo de embalagem e a exposição à luz (MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2009).

A oxidação lipídica é um fenômeno espontâneo e inevitável, com uma implicação direta no valor tecnológico dos lipídios e de todos os produtos que a partir deles são formulados. A oxidação lipídica está na origem do desenvolvimento do ranço e da produção de compostos responsáveis por *off-flavors* (SILVA et al., 1999).

Existem diferentes métodos para quantificar a oxidação lipídica. Em carnes e produtos cárneos o mais usual é o teste de TBARS, devido à sua simplicidade e rapidez no resultado. Este teste quantifica o malonaldeído (MDA), um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poli-insaturados, formado durante o processo oxidativo (OSAWA et al., 2005).

Dentre as estratégias utilizadas para impedir a oxidação lipídica, pode-se citar a utilização de embalagens a vácuo restringindo o acesso ao oxigênio durante o armazenamento e o uso de antioxidantes (TANG et al., 2001). Estes componentes são adicionados a produtos frescos e em carnes processadas para prevenir o ranço oxidativo, retardar o desenvolvimento de *off-flavor* e melhorar a estabilidade de cor (NAM; AHN, 2003).

3.4.1 Método de avaliação da oxidação lipídica pela Técnica de Substâncias Reativas ao Acido Tiobarbitúrico

O TBARS (ácido 2-tiobarbitúrico) é o teste que quantifica substâncias reativas ao TBA expressas em mg/malonaldeído em alimentos, devido a sua relativa simplicidade e a alta sensibilidade. Nesse método, o MDA, que é um produto secundário da oxidação lipídica, é obtido por destilação e após, reage sob aquecimento com o TBA, produzindo coloração rosa que pode ser medida espectrofotometricamente a 532 nm (esse comprimento de onda pode variar entre 500 a 550 nm) e comparada com a absorção da curva padrão. O método permite quantificar no alimento o grau de oxidação lipídica, visto que seus produtos primários constituem-se principalmente de hidroperóxidos, os quais são rapidamente decompostos em várias substâncias dentre elas o malonaldeído (MDA) que reage com o ácido 2-tiobarbitúrico(TBA), formando um complexo colorido (Figura 2) (OSAWA et al., 2005).

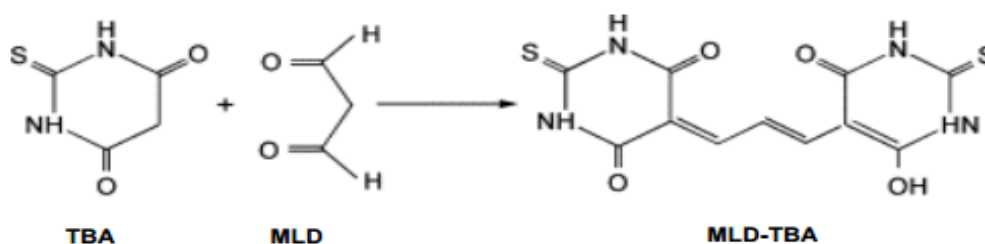


Figura 2: Reação da análise entre o ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) e o malonaldeído formando o composto colorido.

Fonte: Shibamoto (2006).

Estudos recentes foram realizados utilizando os valores de TBARS com o intuito de verificar a oxidação de carnes e derivados (SELANI et al., 2011; SERAFINI, 2012; PEREIRA; SIMIONATO, 2013; PATEIRO et al., 2014, BIANCHIN, 2014; CASAGRANDE, 2014) portanto, a informação de TBARS para produtos cárneos é relevante. Os resultados do ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) são expressos em unidades de absorbância por unidade de massa de amostra ou em “valor de TBA” ou “número de TBA”, definidos como a massa, em mg de malonaldeído por kg de amostra. Processos que envolvem elaboração de produtos cárneos que incluam moagem, homogeneização (mistura) e cozimento favorecem a formação do MDA, sendo fundamental o emprego do teste na avaliação da qualidade do produto final (OSAWA et al., 2005).

3.5 ANTIOXIDANTES

Segundo o *Codex Alimentarius*, antioxidante é um aditivo alimentar, que prolonga a vida de prateleira de alimentos através da proteção contra a deterioração causada pela oxidação.

A portaria n° 540, de 27 de outubro de 1997 da ANVISA (BRASIL, 1997), define antioxidante como um aditivo que retarda o aparecimento da alteração oxidativa no alimento. Do ponto de vista químico, os antioxidantes são compostos aromáticos, podendo ser naturais ou sintéticos (ARAÚJO, 2011). O mecanismo de ação dos antioxidantes está bem elucidado, isto é, para que um composto seja eficiente na redução das reações da autooxidação é necessário que ele iniba a formação de radicais livres na iniciação da cadeia de oxidação ou interrompa a sua propagação (FENNEMA et al., 2007).

Os antioxidantes para serem utilizados em produtos para consumo humano almejam as seguintes propriedades: eficiência em baixas concentrações (0,001% a 0,01%); não alterar a

cor, o odor, o sabor; compatibilidade com o alimento; ser de fácil aplicação; estabilidade nas condições de processo e de armazenamento; sendo que o composto e seus produtos de oxidação não podem ser tóxicos, mesmo em doses muito maiores das que normalmente seriam ingeridas no alimento (BAILEY, 1996).

A indústria alimentícia para proteger os lipídios da deterioração sensorial e aparente, vem empregando o uso de vários aditivos alimentares com propriedades antioxidantes. Entretanto, a conscientização dos consumidores relacionados aos riscos à saúde gerados pelos aditivos sintéticos, resultou em indicações às indústrias alimentícias da possibilidades do uso de aditivos naturais ou métodos alternativos para extensão da vida útil, aumentar a segurança e evitar os danos da oxidação lipídica (GEORGANTELIS et al., 2007).

Deans; Ritchie (1987) ponderam que a substituição de aditivos sintéticos por naturais dependerá da determinação de uma concentração ideal. Shelef (1983) concluiu que além de conferir sabor aos alimentos, os aditivos possuem propriedades antimicrobianas, antioxidantes e medicinais. Shahidi; Wanasundara (1992) consideraram a adição de compostos antioxidantes uma das práticas mais importantes, devido ao baixo custo de obtenção, facilidade de emprego, eficácia, termorresistência, neutralidade organoléptica facilitando a sua seleção e utilização pela industrial.

3.5.1 Antioxidantes sintéticos

Os antioxidantes sintéticos são frequentemente utilizados nas indústrias alimentícias, pelo seu baixo custo, estabilidade e eficácia, entre eles estão o BHT (butil hidroxitolueno), o BHA (butil hidroxianisol), o TBHQ (terc-butil hidroquinona), entre outros (CAPITANI et al., 2009). Estes compostos têm uso aprovado dentro de um limite de ingestão diária aceitável (IDA) (RAMALHO; JORGE, 2006). Entretanto, conforme dados da literatura, podem estar relacionada a implicações negativas, como efeitos mutagênicos, formação de compostos tóxicos e carcinogênicos. Por estes motivos, a salubridade dessas substâncias vem sendo questionada e em alguns países, seu uso já foi restrito, o que desencadeou a procura por novos antioxidantes, que sejam seguros e preferencialmente provenientes de fontes naturais (TERMENTZI et al., 2006).

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

O BHT é comercialmente utilizado na forma sólida, como cristal branco ou pó, constituindo-se no principal antioxidante encontrado em gorduras animais, cereais matinais, vitaminas, snacks, salames entre outros (CONACHER et al., 1986). A administração oral de BHT resulta em absorção pelo trato gastrointestinal e eliminação na urina e nas fezes de ratos, camundongos e humanos (VERHAGEN et al., 1989). O fígado, os pulmões e o sangue são os principais alvos de toxicidade do BHT, sendo que, em ratos os efeitos deste sobre o fígado são mais marcantes, quando comparados ao BHA (WITSCHI, 1986).

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

3.5.2 Antioxidantes naturais

O termo antioxidante natural é geralmente empregado para definir antioxidantes que ocorrem naturalmente e que podem ser extraídos de plantas ou tecidos animais e aplicados em produtos alimentícios como substitutos dos antioxidantes sintéticos (POKORNY; YANISHLIEVA; GORDON, 2008). Os principais antioxidantes naturais usados são o ácido ascórbico, os carotenoides e os compostos fenólicos (tocoferóis, flavonoides e ácidos fenólicos) (CHOE; MIN, 2009; BREWER, 2011;).

Fitoquímicos, extraídos de plantas, tem demonstrado preservar alimentos, por possuírem propriedades antimicrobianas e antioxidantes obtidos de extratos obtidos de plantas (ALMEIDA et al., 2008). Estudos tem avaliado o efeito de extratos de planta em produtos cárneos (MILANI et al., 2001; TERRA et al., 2008), sendo que a importância dos compostos fenólicos nesta atividade é destacada por agregar valor de qualidade aos alimentos (ASOLINI et al., 2006). O composto mais simples é o fenol e essas substâncias caracterizam-se pela presença de pelo menos um grupo hidroxila ligada diretamente a um anel aromático (BRAVO, 1998). Os antioxidantes fenólicos funcionam como sequestradores de radicais livres e, algumas vezes, como quelantes de metais, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (SHAHIDI; WANASUNDARA, 1992).

Atualmente, diversos estudos têm sido realizados visando verificar o potencial antioxidante dos ácidos fenólicos, com o objetivo de substituir os antioxidantes sintéticos, largamente utilizados na conservação de alimentos lipídicos por aumentarem a vida útil de muitos produtos cárneos, nota-se que a aplicação de antioxidantes naturais tem abrangido toda

a cadeia de produção de carnes, não se restringindo apenas nos produtos finais. Uma diversidade de antioxidantes naturais tem sido estudada para tal fim (CASAROTTO, 2013).

Com o aumento da competitividade por mercado, os processadores de carnes em geral buscam constantes alternativas para produção de produtos mais saudáveis. A aplicação de antioxidantes naturais tem abrangido toda a cadeia de produção de pescado, não se restringindo apenas aos produtos finais, e uma diversidade de antioxidantes naturais tem sido estudada para tal fim (KULISIC et al., 2004).

4 ARTIGOS CIENTÍFICOS

4.1 Artigo científico 1

Artigo em fase final de revisão para ser submetido à Ciência Agronômica
(Configuração conforme as normas da revista)

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, CONTEÚDO DE FENÓLICOS,
FLAVONÓIDES TOTAIS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
ANTIMICROBIANA DAS FOLHAS DE ORA-PRO-NÓBIS (*Pereskia
aculeata* Mill.)**

**CHEMICAL CHARACTERIZATION, PHENOLIC AND TOTAL
FLAVONOIDS CONTENTS, ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY
OF ORA-PRO-NOBIS LEAVES (*Pereskia aculeata* Mill.)**

Angela Souza Rodrigues^{1*}, Ernesto Hashime Kubota³, Gilberti Helena Hubscher
Lopes³, Camila Giacomelli da Silva¹, Jamila dos Santos Alves¹, Karine Inês Bolson Moro¹,
Vanessa Viera², Tiffany Prokopp Hautrive⁴.

¹Aluna do Mestrado, Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos,
Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria – UFSM;

²Aluna do Doutorado, Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos,
Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria – UFSM

³Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais,
Universidade Federal de Santa Maria – UFSM;

⁴Nutricionista, Hospital de Guarnição (HGU), Santa Maria.

25 **RESUMO** - A ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Mill.) é uma planta tropical, pertencente à
26 família de *Cactaceae* considerada como uma hortaliça não-convencional ricas em fibras e
27 minerais. O objetivo deste trabalho foi a caracterização química, mineral, avaliação dos
28 compostos fenólicos, flavonoides totais e o potencial antioxidante e antimicrobiano das folhas
29 de ora-pro-nóbis. As folhas de ora-pro-nóbis desidratadas foram caracterizadas conforme as
30 análises químicas e minerais. Os extratos foram obtidos por agitação convencional, variando o
31 solvente (água e etanol), tempo (1 e 24h) e temperatura (95 °C e 25 °C). Nos extratos obtidos
32 foram realizadas análises de compostos fenólicos totais, flavonoides totais, atividade
33 antimicrobiana e atividade antioxidante *in vitro* através dos métodos DPPH, FRAP e radical
34 ABTS^{•+}. Os resultados encontrados demonstram que as folhas de ora-pro-nóbis tem alto
35 conteúdo de proteínas, cinzas, fibra alimentar, cálcio, ferro, potássio e magnésio. Os extratos
36 das folhas de ora-pro-nóbis possuem atividade antioxidante, sendo que o extrato com melhores
37 características antioxidantes foi obtido através de extração por agitação a 95-100 °C e utilizando
38 água destilada como solvente, onde o teor de fenólicos totais foi 53,85 mg equivalentes de ácido
39 gálico /g de amostra seca, flavonoides totais foi 16,31 mg equivalentes de quercetina /g de
40 amostra seca e IC₅₀ de 1,78 mg/mL. Os extratos não apresentaram atividade antimicrobiana
41 pelo método de difusão em disco. A utilização do extrato de ora-pro-nóbis mostrou-se uma
42 alternativa viável como antioxidante natural, com possibilidade de aplicação industrial em
43 produtos alimentares.

44 **Palavras-chave:** Caracterização centesimal. Fenólicos. Flavonoides. Hortaliça não
45 convencional.

46 **ABSTRACT** - The ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.) is a tropical plant belonging to the
47 *Cactaceae* family considered as a non-conventional vegetable rich in fiber and minerals. The
48 objective of this work was the chemical, mineral characterization, evaluation of phenolics,
49 flavonoids and antioxidant and antimicrobial potential of leaves ora-pro-nobis. The dried leaves

50 *Pereskia aculeata* were grouped according to the chemical and mineral analysis. Extracts were
51 obtained by conventional stirring, varying the solvent (water and ethanol), time (1 and 24h) and
52 temperature (95 °C and 25 °C). In the extracts were carried out analysis of total phenolics, total
53 flavonoids, antimicrobial and antioxidant activity in vitro through the DPPH methods, FRAP
54 and ABTS •⁺ radical. The extracts of *Pereskia aculeate* Mill. leaves possess antioxidant
55 activity, and extract with improved antioxidant characteristics was obtained by extraction by
56 stirring at 95-100 °C and with distilled water as a solvent, where the total phenolic content was
57 53.85 mg gallic acid equivalents/g dry sample, total flavonoids was 16.31 mg equivalent of
58 quercetin/g dry sample and IC₅₀ 1.78 mg/ml. The extracts do not exhibit antimicrobial activity
59 by disk diffusion method. The use of *Pereskia aculeate* Mill extract proved to be a viable
60 alternative as a natural antioxidant, with the possibility of industrial application in food
61 products.

62 **Keywords:** Proximate composition. Phenolics. Flavonoids. Unconventional vegetables

63

64

INTRODUÇÃO

65 O Brasil possui uma vasta biodiversidade de plantas nas quais são ricas em nutrientes e
66 minerais. Dentre essas, são apresentada as hortaliças não-convencionais que são uma alternativa
67 alimentar e uma opção de atividade agropecuária, por serem plantas com excelente valor
68 nutricional, de fácil cultivo e baixo custo (ROCHA et al., 2008). Segundo Kinupp; Barros
69 (2008), as frutas e hortaliças não-convencionais, geralmente apresentam teores de minerais e
70 proteínas significativamente maiores do que as plantas domesticadas, bem como são ricas em
71 fibras e compostos com funções antioxidantes. Além disso, as folhas são também ricas minerais,
72 especialmente o ferro, o cálcio, magnésio e manganês (MERCÊ et al., 2001; TAKEITI et al.,
73 2009).

74 A ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Mill.) é uma planta tropical, pertencente à família
75 de *Cactaceae* (TAKEITI et al., 2009). É uma planta trepadeira perene, com muitos galhos
76 espinhosos, folhas carnudas e presença de mucilagem (MERCÊ et al., 2001). Devido ao seu
77 alto valor nutritivo, esta planta é uma alternativa para o enriquecimento e melhoramento da
78 qualidade dos alimentos, e pode ser usada tanto como um suplemento alimentar para
79 alimentação animal, como no consumo humano.

80 De acordo com Couto (2006) a ora-pro-nóbis é também considerada planta de uso
81 medicinal. Cientificamente, extratos aquosos e/ou alcóolicos de folhas, caules ou raízes têm
82 sido testados e inseridos em formulações terapêuticas, para ações antimicrobiana, antitumoral,
83 anti-inflamatória, cicatrizante, tripanocida e antioxidante (ROYO et al., 2005; VALENTE et
84 al., 2007; OLIVEIRA, 2008; BARROS et al., 2009; SARTOR et al., 2010).

85 O processo de oxidação lipídica é o principal fator responsável pela deterioração de
86 alimentos com alto teor de gorduras, resultando alterações, tanto nas características sensoriais
87 (cor, aroma, textura, sabor), quanto no valor nutricional (TONIOLO, 2011). Como recursos
88 para minimizar essas alterações podem ser empregadas técnicas de proteção e adição de
89 compostos químicos com atividade antioxidante no processamento (RAMALHO; JORGE,
90 2006).

91 Antioxidantes são definidos como substâncias que retardam o aparecimento de
92 alterações oxidativas no alimento (BRASIL, 1997). Todavia, a adição de antioxidantes
93 sintéticos começou a sofrer restrições nos últimos anos, devido a diminuição da aceitação pelo
94 consumidor e pelos efeitos prejudiciais à saúde humana (MARTHA-ESTRELLA et al., 2007).

95 Devido os problemas que podem ser causados pelo consumo de antioxidantes sintéticos,
96 têm-se dirigido pesquisas no sentido de encontrar produtos naturais com atividade antioxidante,
97 que possam substituir os sintéticos (ROJAS, BREWER, 2007; MERCADANTE et al., 2010;
98 SELANI et al., 2011) ou serem associados a eles (BIRCH et al., 2001), com o intuito de

99 diminuir sua quantidade nos alimentos. O interesse em antioxidantes naturais tem aumentado
100 consideravelmente nos últimos anos devido aos seus efeitos benéficos da prevenção e redução
101 do risco de várias doenças (SINGER et al., 2012).

102 Baseado no contexto apresentado, este trabalho objetivou-se analisar quimicamente a
103 folha de ora-pro-nóbis na forma desidratada, bem como avaliar o teor de compostos fenólicos,
104 flavonoides totais, atividade antioxidante e antimicrobiana nos extratos, com o intuito de
105 aplicação como antioxidante natural em produtos alimentares.

106

107

MATERIAIS E MÉTODOS

108 As amostras de ora-pro-nóbis foram adquiridas em um estabelecimento comercial
109 produtor, localizado na cidade de Porto Belo (SC), na forma desidratada. Foram acondicionadas
110 ao abrigo de luz e em freezer (-12 °C) até o momento das análises.

111 A pesquisa foi conduzida no laboratório do Departamento de Tecnologia e Ciência dos
112 Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

113 A caracterização química das folhas de ora-pro-nóbis foram determinadas por umidade,
114 realizada por perda de peso, em estufa a 105 °C durante 12h. A quantificação do resíduo mineral
115 (cinzas) foi por meio da incineração da amostra em mufla a 550 °C por 6h. Os minerais Ca, Mg
116 e Fe foram através de espectrometria de absorção atômica (Perkin Elmer, Analyst 200), o
117 mineral K foi por fotometria de chama (Digimed DM – 62) e o P por espectrofotometria (Unico
118 2100). O extrato etéreo em aparelho de Soxhlet utilizando como solvente éter de petróleo. A
119 proteína bruta de acordo com o Método Kjeldahl ($PB = N \times 6,25$). As porcentagens de fibra
120 alimentar total, solúvel e insolúvel foram determinadas pelo método gravimétrico enzimático e
121 os carboidratos obtidos pelo cálculo da diferença das demais frações analisadas (AOAC, 1995).

122 Os extratos das folhas de ora-pro-nóbis foram obtidos segundo metodologia usada por
123 Kim et al. (2013). Os extratos das folhas de ora-pro-nóbis foram preparados com álcool 70% e

124 água destilada. O etanol 70% foi adicionado no béquer contendo folhas de ora-pro-nobis em pó
125 na proporção de 1:20 (m/v) e a mistura ficou sob agitação (Solab, modelo SL-152/10) por 24
126 horas a temperatura ambiente. Posteriormente, o filtrado obtido foi concentrado em
127 rotoevaporador para eliminação do álcool, completado o volume com água destilada. Após
128 essa mistura foi filtrada em papel de filtro Whatman nº 1.

129 Para a obtenção dos extratos aquosos foram utilizados 2 procedimentos. O primeiro foi
130 usado água destilada na proporção de 1:20 (m/v) e sofreu agitação por 1 hora a uma temperatura
131 de 95-100 °C seguido de filtração em papel de filtro. O segundo extrato sofreu modificação no
132 solvente, onde se utilizou extrato aquoso nas mesmas condições seguidas para a obtenção do
133 extrato com álcool 70%. Todos os extratos foram acondicionados em frascos âmbar e
134 armazenados em freezer (-12 °C) até o momento das análises.

135 A caracterização dos extratos das folhas de ora-pro-nóbis foram determinadas por
136 fenólicos totais de acordo com o método espectrofotométrico de Folin-Ciocateau, descrito por
137 Singleton et al. (1999). Uma alíquota de 400 µl do respectivo extrato foi transferida para tubos
138 de ensaio e adicionados 2000 µl do reagente de Folin-Ciocateau (1:10) 0,2 N. Após 8 minutos
139 de repouso da mistura, foram adicionados 1600 µl de uma solução de Na₂CO₃ 4% (v/v). No
140 branco foram utilizados 400 µl da solução extratora em substituição a amostra, 2000 µl do
141 reagente de Folin-Ciocateau (1:10) 0,2 N e 1600 µl de uma solução de Na₂CO₃ 4% (v/v). As
142 soluções foram incubadas em local escuro, à temperatura ambiente e após 2 horas, foi realizada
143 a leitura da absorbância a 765 nm em espectrofotômetro (SP-1105 marca Bel Photonics, São
144 Paulo, Brasil). O padrão utilizado foi o ácido gálico e os resultados foram expressos em
145 Equivalente de ácido gálico (mg EAG/L), calculados por meio de uma curva de calibração
146 $Y=0,0012x-0,0025$, $R^2=0,9981$ onde Y é a absorbância e X é a concentração; construídas com
147 concentrações que variam de 0 a 50 mg/L.

148 A concentração de flavonoides totais foi determinada conforme o método descrito por
 149 Park et al. (1995), com algumas modificações. Alíquota de 250 µl do respectivo extrato foi
 150 transferida para um tubo de ensaio e adicionado 1250 µl de água destilada, 75 µl de uma solução
 151 de NaNO₂. Após 5 minutos de repouso da mistura, foram adicionados 150 µl de cloreto de
 152 alumínio, 500 µl de uma solução de NaOH 1M e 775 µl de água destilada. As leituras foram
 153 feitas a 510 nm em espectrofotômetro (SP-1105 marca Bel Photonics, São Paulo, Brasil). Tubos
 154 em branco foram conduzidos nas mesmas condições, porém com adição de água no lugar do
 155 extrato. Os resultados foram comparados com uma curva de calibração de quercetina
 156 $Y=0,0027x - 0,0772$, $R^2=0,9672$, construída com concentrações que variam de 0 a 50 mg/L e
 157 os resultados expressos em mg quercetina mL⁻¹ de extrato de ora-pro-nóbis.

158 Para a definição da atividade antioxidante foram usados três métodos: Para o método do
 159 DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) a metodologia utilizada foi de Brand-Williams et al. (1995)
 160 com adaptações. A atividade antioxidante foi determinada através da capacidade dos
 161 antioxidantes presentes nas amostras em sequestrar o radical 1,1-difenil-2-picril- hidrazil
 162 (DPPH). A técnica consiste na incubação por 30 minutos, de 5 mL de uma solução etanólica de
 163 DPPH 0,1 mM com 5 mL de soluções contendo concentrações crescentes de extrato de ora-
 164 pro-nobis (0,07; 0,15; 0,3; 0,6; 1,25; 2,5; 5,0; 10; 20 e 30 mg/mL). A solução “controle”
 165 consiste de DPPH 0,1 mM em etanol 80% (v/v) e a solução “branco” de solvente etanol (80%
 166 v/v). Após a incubação foram realizadas as leituras das amostras no comprimento de onda de
 167 517nm em espectrofotômetro (SP-1105 marca Bel Photonics, São Paulo, Brasil). A
 168 porcentagem de atividade antioxidante (AA%) foi calculada através do percentual de captação
 169 do radical DPPH, conforme a Equação 1.

170 **Equação 1:**

$$171 \quad AA\% = 100 - \left\{ \frac{[(Abs_{amostra} - Abs_{branco}) \times 100]}{Abs_{DPPH}} \right\}$$

172 Para o cálculo do IC₅₀, utilizou-se a equação da reta obtida dos valores da absorbância
173 (AA%) das concentrações crescentes das folhas de ora-pro-nóbis, substituindo o valor de Y por
174 50, obtendo-se o valor de X como a concentração da amostra com capacidade para reduzir 50%
175 do DPPH.

176 O FRAP (Poder Antioxidante de Redução do Ferro) foi utilizada a metodologia descrita
177 por Benzie; Strain (1996), adaptada por Rockenbach et al. (2011). O reagente FRAP (solução
178 Fe(III)-TPTZ) foi preparado somente no momento da análise, através da mistura de 11 mL de
179 tampão acetato (0,3M, pH: 3,6), 1,1 mL de solução TPTZ (tripiridiltriaza) 10 mM em HCl
180 40 mM e 1,1 mL de solução aquosa de cloreto férrico (20 mM). Uma alíquota de 200 µL do
181 extrato previamente diluído foi adicionado a 1800 µL do reagente FRAP e incubado a 37 °C
182 em banho-maria por 30 minutos. Para cada amostra foi realizado um branco, sem adição do
183 extrato. As absorbâncias foram medidas após o tempo de incubação no comprimento de onda
184 de 593 nm em espectrofotômetro (SP-1105 marca Bel Photonics, São Paulo, Brasil). A curva
185 de calibração foi feita com Trolox e os resultados expressos em µmol ET/g de amostra.

186 A atividade antioxidante pelo método ABTS^{•+} (radical 2,2-azino-bis- (3-
187 etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) foi realizada conforme metodologia descrita por RE et al.
188 (1999) com algumas modificações. O radical ABTS^{•+} foi formado pela reação da solução
189 ABTS^{•+} mM com a solução de persulfato de potássio 140 mM, incubados a temperatura de
190 25 °C, no escuro durante 12-16 horas. Uma vez formado o radical, foi diluído em água destilada
191 até obter o valor de absorbância de 0,700 ± 0,020 a 734 nm. A partir de cada extrato, foram
192 preparadas quatro diluições diferentes, em triplicatas. Em ambiente escuro foi transferido uma
193 alíquota de 15 µL do extrato previamente diluído para tubos de ensaio contendo 1,5 µL do
194 radical ABTS^{•+}. A leitura foi realizada após 6 minutos da reação a 734 nm em
195 espectrofotômetro (SP- 220 marca Biospectro). Uma solução controle foi preparada conforme
196 o procedimento descrito acima, sem adição da amostra. Como referência, foi utilizado o Trolox

197 e os resultados foram expressos em μmol equivalentes de trolox/ g de amostra
198 ($\mu\text{mol TEAC g}^{-1}$).

199 A atividade antimicrobiana dos extratos de ora-pro-nóbis foram individualmente testados
200 contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC14579, *Salmonella enterica*
201 subsp. *enterica* serovar Enteritidis ATCC 13076, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar
202 Choleraesuis ATCC 10708, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium ATCC
203 14028, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC10145, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus*
204 *faecalis* ATCC 19433 e *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048. Foi realizado o teste de difusão
205 em disco, conforme os procedimentos descritos pelo Nacional Committee for Clinical
206 Laboratory Standards (NCCLS, 2003). A partir de culturas recentes dos microrganismos em
207 teste, foi preparada suspensão em solução fisiológica estéril (NaCl 0,85%), a qual foi
208 padronizada para 0,5 da escala Mac Farland. As suspensões foram semeadas na superfície do
209 Ágar Müller-Hinton, em placas de Petri, com auxílio de *swab* estéril. Posteriormente, discos de
210 papel, com 6 mm de diâmetro, foram impregnados com 10 μL do extrato e plaqueados no ágar
211 previamente inoculado com o microrganismo teste. Para controle negativo, os discos de papel
212 foram embebidos em água destilada esterilizada e, para o controle positivo, foram usados discos
213 com 30 μg de cloranfenicol. Após 24h de incubação a 36 °C, foi medido o diâmetro dos halos
214 de inibição de crescimento nas placas.

215 As análises foram realizadas em três repetições e em triplicata, os resultados foram
216 submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas entre si através do teste
217 de Tukey, considerando o nível de significância de 95% ($p < 0,05$). Os gráficos e cálculos dos
218 efeitos foram submetidos pelo programa estatístico Statistica® 8.0 (STATSOFT, INC).

219 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

220 Os resultados da composição centesimal das folhas de ora-pro-nóbis desidratadas estão
221 representados na Tabela 1. As folhas de ora-pro-nóbis empregadas no presente trabalho

222 apresentaram conteúdo de umidade baixo (4,83 g%), o qual foi menor que o encontrado por
 223 Girão et al. (2003) em folhas desidratadas de ora-pro-nóbis (14,55%). As folhas de ora-pro-
 224 nóbis apresentam um teor de umidade considerada segura pela legislação brasileira, que
 225 estabelece limite máximo de 15 g/100 g de umidade para farinhas, amidos e farelos (BRASIL,
 226 2005).

227 O teor de proteína bruta foi de 15,71 g%, valor próximo ao da folha da cenoura desidratada
 228 (15,12%) relatado por Pereira et al.(2003), mostrando que a folha de ora-pro-nóbis é boa fonte
 229 de proteína vegetal.

230 O extrato etéreo foi de 3,57 g%, apresentando um baixo teor de lipídios corroborando
 231 com Takeiti et al. (2009) e Rocha et al. (2008) que relatam que as folhas de ora-pro-nóbis
 232 apresentam 4,1 g% e 3,64 g% de lipídios.

233 **Tabela 1** – Resultados encontrados para composição química da ora-pro-nóbis desidratada
 234 (*Pereskia aculeata* Mill).

Composição Centesimal	g(%)
Umidade	4,83 ±0,14
Proteína	15,71±0,24
Extrato etéreo	3,57±0,23
Cinzas	17,25±0,07
Fibra total	50,55±2,44
Fibra solúvel	7,14±1,49
Fibra insolúvel	43,40±0,95
Carboidrato	8,49±0,97

235 *Valores expressos em médias ± desvio padrão, n=3.

236 O teor de cinzas se refere a quantidade total de minerais presentes nas plantas,
 237 apresentando a ora-pro-nóbis um valor de 17,25 g%, valor aproximado encontrado por Rocha

238 et al. (2008) que relata que a folha de ora-pro-nóbis desidratada contém em média 18,07 g% de
239 resíduo mineral total.

240 Analisando os teores de fibra alimentar total (50,55 g%), insolúvel (43,40 g%) e solúveis
241 (7,14 g%) encontrados na amostra, observou-se que a ora-pro-nóbis é rica em fibras, que é um
242 constituinte importante tanto na prevenção quanto no tratamento de várias doenças crônicas. As
243 fibras alimentares aumentam a capacidade de retenção de água, capacidade de retenção de
244 gordura, emulsificação e formação de gel. Além disso, evita a sinérese (a separação de líquido
245 a partir de um gel provocada por contração) e melhora a vida de prateleira (ELLEUCH et al.,
246 2011).

247 Kinnup; Barros (2008) destacam que as hortaliças não convencionais às vezes possuem
248 maior concentração em fibras, compostos antioxidantes e proteínas que as fontes de hortaliças
249 convencionais, favorecendo assim, uma dieta de melhor qualidade nutricional. Estes valores de
250 fibras diferem do encontrado por Takeiti et al. (2009), de 39,10 g/100 g⁻¹ MS para fibra total,
251 5,20 g/100 g⁻¹ MS para fibra solúvel e 33,90 g/100 g⁻¹ MS para fibra insolúvel. A variação
252 observada entre os dados obtidos e os relatados na literatura pesquisada pode ser devida a
253 diferenças nas condições climáticas, local de plantio, tipo de solo, grau de maturação,
254 estocagem da matéria prima e métodos de análises utilizados, entre outros (ROHANI-
255 GHADIKOLAEI et al., 2012).

256 A amostra das folhas de ora-pro-nóbis desidratada apresentou um valor de 8,49 g% para
257 carboidrato (Tabela 1), valores que contradizem ao encontrado por Almeida et al. (2014), que
258 encontraram um valor de 29,53 g 100⁻¹ de carboidrato.

259 Os teores de minerais das folhas de ora-pro-nóbis na forma desidratada neste estudo
260 foram: cálcio (3.883 mg/100 g), magnésio (2.710 mg/100 g), potássio (2.683 mg/100 g), fósforo
261 (166 mg/100 g) e ferro (31,969 mg/100 g) (Tabela 2).

262 O cálcio é um nutriente fundamental para o crescimento, manutenção de funções do
 263 organismo. De acordo com estudos, os teores de cálcio nas farinhas variaram de
 264 1.440 mg/100 g na serralha a 2.100 mg/100 g na taioba, sendo próximos as folhas secas de
 265 cenouras (1.970 mg/100 g), a taioba seca (2.230 mg/100 g) e a farinha de folhas de mandioca
 266 (1.930 mg/100 g), (PINTO et al., 1999; PEREIRA et al., 2003; BARBOSA et al., 2012),
 267 resultados inferiores ao encontrado neste estudo (3.883 mg 100 g⁻¹).

268 Em estudos com folhas da ora-pro-nóbis foram encontrados em 100 gramas
 269 concentrações de cálcio de 3.190 mg (ALMEIDA FILHO, 1974), 3.400 mg (CAMBRAIA,
 270 1974), 3.420 mg (DAYRELL, 1977) e 3.800 mg (TAKEITI et al., 2009). Salazar et al. (2006)
 271 destacaram que o alto nível de cálcio é importante, uma vez que as principais fontes deste
 272 mineral são atribuídos ao leite e seus derivados, embora o consumo não têm sido nas
 273 quantidades recomendadas para atingir a sua adequação em comunidades de baixo poder sócio
 274 econômico. Os teores de cálcio no presente estudo comprovam a relevância deste mineral em
 275 vegetais folhosos, podendo ser considerados boas fontes, suprimindo as necessidades diárias de
 276 800 mg (BRASIL, 1998).

277 **Tabela 2** – Composição mineral das folhas de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Mill.).

Composição Mineral	mg /100g
Cálcio	3.883,00 ±0,03
Magnésio	2.710,00 ±0,20
Potássio	2.683,00 ±0,10
Fósforo	166,00 ± 0,07
Ferro	31,96 ± 1,49

278 *Valores expressos em médias ± desvio padrão, n=3.

279 O magnésio é um mineral do meio intracelular que apresenta um papel fundamental em
 280 várias reações biológicas. Os teores de magnésio (2.710 mg/100 g) encontrados nesta pesquisa

281 são considerados elevados em relação a outros estudos. Estudos para quantificar o magnésio
282 em diversas folhas foram distintos, como: cenoura 226 mg/100 g (PEREIRA et al., 2003),
283 couve de 292,2 mg/100 g, brócolos 192,8 mg/100 g e couve flor de 154,4 mg/100 g (SANTOS,
284 2006).

285 O potássio é essencial para os seres vivos, participando do metabolismo de
286 desenvolvimento, atuando nas membranas celulares como transmissores de impulsos
287 eletroquímicos, no equilíbrio da atividade de alimentação e remoção de subprodutos
288 (LEHNINGER, 2002). O nutriente potássio foi de 2.683mg /100 g na amostra em estudo.
289 Pereira et al. (2003) em folhas desidratadas de cenoura encontraram valores superiores (2.744
290 mg/100 g). Pinto et al. (1999), em partes secas das folhas de taioba as concentrações foram
291 3760 a 4840 mg/100 g, concentrações superiores ao encontrado neste estudo.

292 O teor de fósforo encontrado foi de 166 mg/100 g, abaixo do verificado com outras
293 hortaliças, como a couve (258 mg/100 g), o alface (490 mg/100 g) e o espinafre
294 (591 mg/100 g); e de outras não convencionais, como na taioba seca de 470 mg/100 g e na
295 farinha de folhas de mandioca de 207 mg/100 g (FRANCO, 2000).

296 O fósforo é um dos minerais presentes em maior proporção no organismo. Juntamente
297 com o cálcio são responsáveis pela mineralização da matriz óssea (McDOWELL,1992). O
298 fósforo está envolvido nas funções de crescimento e diferenciação celular, é um dos
299 componentes dos ácidos nucléicos -DNA e RNA-, está associado com lipídeos para a formação
300 dos fosfolipídeos, principais componentes das membranas plasmáticas, é considerado um
301 tampão e visa a manutenção do equilíbrio ácido-básico e osmótico. Além disso, tem
302 importância significativa na atividade dos microrganismos do rúmen (ANDRIGUETTO et al.,
303 1990; FLATT et al., 2001; GONZÁLEZ; SILVA, 2003).

304 Silva, Pinto (2005) observaram 28,12 g 100 g⁻¹ do mineral ferro em folhas de *P.*
305 *aculeata*, valor aproximado ao encontrado neste estudo (31,969 mg 100 g⁻¹). A quantidade de

306 ferro (14,18 mg 100 g⁻¹) observada por Takeiti et al. (2009) foi considerada alta, quando
307 comparada com a do espinafre (3,10 mg 100 g⁻¹).

308 O ferro é um micronutriente muito estudado e o melhor caracterizado no que diz respeito
309 a seu metabolismo e sua concentração no organismo humano é de aproximadamente 40 mg/kg
310 nas mulheres e de 50 mg/kg nos homens (TEIXEIRA, 2003). O corpo humano possui ferro em
311 dois pools principais, no compartimento funcional (enzimática ou metabólica) o ferro está
312 ligado à hemoglobina, mioglobina, citocromo, flavoprotéias e enzimas, na categoria de
313 armazenamento e transporte o ferro está ligado à ferritina, hemossiderina, lactoferrina e
314 transferrina (TEIXEIRA, 2003; MAHAN, 2005; RAMOS, 2008).

315 Lisiewska et al., (2009) encontraram em folhas de espinafre *in natura* os nutrientes
316 cálcio (141,0 mg 100 g⁻¹), ferro (1,11 mg 100 g⁻¹) e fósforo (37,8 mg 100 g⁻¹), valores inferiores
317 ao encontrado neste estudo que foi de 3.883 mg 100 g⁻¹ para cálcio, 31,969 mg 100 g⁻¹ para
318 ferro e 166 mg 100 g⁻¹ para fósforo. Vegetais verdes e escuros são excelentes fontes de cálcio e
319 ferro (ODHAV et al., 2007), porém a variabilidade dos níveis desses micronutrientes são
320 influenciados por fatores relacionados ao cultivo do solo (pH e fertilizantes) e presença de
321 fatores antinutricionais (KHADER; RAMA, 2003; UUSIKU et al., 2010; ROHANI-
322 GHADIKOLAEI et al., 2012).

323 Na caracterização dos extratos, os fenóis totais foram expressos em mg de equivalente de
324 ácido gálico por g de extrato (EAG/g extrato), quanto mais elevado o valor, maior o teor de
325 compostos fenólicos totais. De acordo com a tabela 3 pode-se observar que os extratos 1, 2 e 3
326 apresentaram diferença estatística entre si (p<0,05) para o conteúdo de compostos fenólicos
327 totais. Entretanto, o extrato 1 apresentou maior teor de compostos fenólicos totais (53,85 mg
328 EAG/g amostra seca) e o extrato 2 apresentou menor valor de compostos fenólicos (13,71 mg
329 EAG/g amostra seca). Observou-se que, a água em temperatura elevada foi mais eficiente em
330 relação ao etanol 70%, e água a temperatura ambiente na extração de compostos fenólicos

331 totais. Isto pode ser atribuído a obtenção de diferentes compostos fenólicos pela influência dos
 332 distintos veículos de extração utilizados (água aquecida e etanol 70%) atribuindo melhor
 333 resposta.

334 Kim et al. (2013), ao analisarem a quantidade de fenólicos totais nos extratos de plantas
 335 comestíveis, obtiveram ampla margem de variação de 3,13 a 72,30 mg GAE/g extrato, sendo a
 336 extração mais eficiente com o etanol em comparação a água.

337 **Tabela 3**—Resultados encontrados para o teor de fenólicos e flavonoides totais, IC₅₀, FRAP e
 338 Radical ABTS^{•+} para os extratos das folhas de ora-pro-nóbis.

Extrato	Fenólicos Totais mg EAG /g	Flavonóides mg EQ/g	IC ₅₀ mg/mL	FRAP μmol TEAC.100g ⁻¹	Radical ABTS ^{•+} μmol TEAC/g
1	53,85 ^a ± 3,76	16,31 ^a ± 0,23	1,78 ^b ± 0,26	6,54 ^a ± 0,60	5,20 ^a ± 0,70
2	13,71 ^c ± 2,71	4,98 ^c ± 1,50	29,21 ^a ± 2,69	2,07 ^b ± 0,50	1,23 ^c ± 0,34
3	25,66 ^b ± 0,26	7,73 ^b ± 0,46	3,87 ^b ± 0,72	2,27 ^b ± 0,15	2,49 ^b ± 0,29

339 *Valores expressos em média ± desvio padrão com letras diferentes na mesma coluna indicam diferença
 340 significativa (p<0,05) pelo teste de Tukey.

341 GA: Ácido Gálico; Q: Quercitina; T: Trolox

342 1: Água deionizada, 95 °C, 1h; 2: Água deionizada, 25 °C, 24h; 3: Etanol 70%, 25 °C, 24h.

343 Wang et al.(2003) encontraram valores de 62 mg/g de compostos fenólicos em folhas de
 344 alcachofra e 14 mg/g frutos de alcachofra. Ao estudar a quantidade de fenólicos do brócolis e
 345 aspargo, Sun et al. (2007), encontraram quantidades semelhantes para os extratos metanólicos
 346 (4,9 mg/g em base seca). Já para os extratos aquosos, os autores encontraram resultado maior
 347 para aspargo (4,9 mg/g em base seca) em relação ao brócolis (4,5 mg/g em base seca).

348 Estudo realizado por Asolini et al. (2006), no qual analisaram as concentrações de
 349 fenólicos de diversas plantas usadas como chás, os extratos etanólicos de sálvia e camomila
 350 apresentaram teores de compostos fenólicos em torno de 25 mg EAG/g, valor aproximado ao

351 encontrado no extrato etanólico (25,66 mg EAG/g amostra seca) das folhas de ora-pro-nóbis
352 desidratada.

353 Segundo Kahkonen et al. (1999), a alta atividade antioxidante não está relacionada
354 necessariamente a altas quantidades de fenóis, no entanto Pereira (2009) ao realizar análises *in*
355 *vitro* em extratos vegetais observou a relação direta quanto maior o conteúdo de fenólicos mais
356 elevada a atividade antioxidante.

357 Os teores de flavonoides obtidos para os extratos de folhas de ora-pro-nóbis, estão
358 representados na Tabela 3. Os resultados evidenciam que houve diferença significativa ($p <$
359 $0,05$) entre os extratos e que estes apresentaram valores de flavonoides de 16,31, 4,98 e 7,73
360 mg EQ/g. O extrato 1 apresentou o maior teor de flavonoides (16,31 mg EQ/g), diferindo
361 significativamente ($p > 0,05$) dos demais tratamentos, enquanto que o extrato 2 (4,98 mg EQ/g)
362 obteve o menor resultado. Estudo realizado por Pereira (2009), encontrou em amostra de
363 marcela, um valor de 12,69 mg EQ/g para flavonoides.

364 O IC_{50} é um parâmetro usado para determinar o potencial antioxidante das plantas. Ele
365 demonstra a quantidade necessária da planta para reduzir em 50% o DPPH, simulando assim
366 como a planta atuará em um radical livre no organismo. Os resultados dos potenciais
367 antioxidantes dos extratos da folha da ora-pro-nóbis estão apresentados na Tabela 3 através do
368 IC_{50} . A partir dos resultados foi possível verificar que houve diferença significativa ($p < 0,05$)
369 para o tratamentos 2, pode-se verificar que a extração com água destilada a 95°C por 1 hora foi
370 mais eficiente apresentando o valor de IC_{50} (1,78 mg/mL).

371 A planta *Ginkgo biloba*, considerada com alta atividade antioxidante, apresentou um
372 IC_{50} de 0,04072 mg/mL, em experimento conduzido por Mensor et al. (2001).

373 Estudo realizado por Palezi (2011) encontrou valor inferior para IC_{50} (0,1382 mg mL⁻¹)
374 em extratos de marcela extraídos com etanol 80% e Pereira (2009), encontrou valor de 5,26 mg
375 mL⁻¹ para marcela, considerando que quanto menor é o valor de IC_{50} , maior é a capacidade

376 antioxidante do material analisado. Cabe salientar que diferentes autores têm apresentado
377 valores de IC₅₀ de antioxidantes naturais com grandes diferenças, dificultando a comparação
378 dos resultados.

379 Os valores de FRAP dos extratos de folhas de ora-pro-nóbis obtidos nas diferentes
380 condições de extração, estão expostos na Tabela 3. Pode-se observar que houve diferença
381 significativa ($p < 0,05$) para o tratamento 1, os resultados variaram entre 2,07 e 6,54 μmol
382 TEAC/g.

383 Halvorsen et al. (2009) encontraram valores de FRAP para raiz de beterraba, raiz de
384 cenoura, couve, alcachofra, brócolis e rabanete de 1,98; 0,04; 2,65; 2,08; 0,35; e 0,39 $\mu\text{mol}/\text{mg}$,
385 respectivamente. A variação observada entre os diferentes materiais vegetais provavelmente
386 ocorreu pelo mecanismo específico do FRAP na avaliação da atividade antioxidante, uma vez
387 que este método é limitado à medição de compostos que promovam a transferência de elétrons
388 (PRIOR et al., 2005). Os valores do Radical ABTS^{•+} dos extratos de ora-pro-nobis mostraram
389 diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos, o resultado do extrato 1 (5,20 μmol
390 TEAC/g) apresentou maior valor em relação aos outros tratamentos (Tabela 3).

391 Pellegrini et al. (2003) analisando alguns vegetais verificaram valores para alcachofra,
392 beterraba, brócolis, cenoura, abóbora e rabanete na ordem de 1,55; 5,21; 3,04; 0,44; 0,43 e 2,22
393 $\mu\text{Mol Trolox}/\text{g}$, sendo que, quanto maior o valor do radical ABTS^{•+} maior é a capacidade
394 antioxidante.

395 De maneira geral, os extratos que apresentaram as melhores atividades antioxidantes
396 foram os que exibiram maiores concentrações de compostos fenólicos e flavonoides.

397 Os extratos de ora-pro-nóbis não apresentaram atividade antimicrobiana sobre os
398 microorganismos *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC14579,
399 *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis ATCC 13076, *Salmonella enterica*
400 subsp. *enterica* serovar, Choleraesuis ATCC 10708, *Salmonella enterica* subsp. *enterica*

401 serovar Typhimurium ATCC 14028, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC10145, *Escherichia coli*
402 ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 e *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048.

403 No teste de difusão de disco ocorreu uma ausência de atividade antimicrobiana das
404 substâncias presentes nos extratos das folhas de ora-pro-nóbis, ou pequenas concentrações das
405 mesma, sendo assim, não atingiu a concentração inibitória mínima para os microrganismos em
406 testes.

407 CONCLUSÃO

408 1. As folhas de ora-pro-nóbis desidratada apresentaram alto teor de cinzas, proteínas, fibra
409 alimentar, cálcio, ferro, potássio e magnésio.

410 2. Os resultados obtidos indicam que o extrato das folhas de ora-pro-nóbis apresentaram
411 capacidade antioxidante. O extrato obtido por agitação a 95 °C utilizando água deionizada como
412 solvente foi o que apresentou maior atividade antioxidante, comprovada pelos métodos DPPH,
413 FRAP e Radical ABTS^{•+}, e maior conteúdo de compostos fenólicos totais e flavonoides.

414 3. Os extratos não apresentaram atividade antimicrobiana, pelo teste da difusão em disco.

415 4. A utilização do extrato de ora-pro-nóbis demonstrou sendo uma alternativa viável como
416 antioxidante natural em substituição aos antioxidantes sintéticos, com possibilidade de
417 aplicação industrial em produtos alimentares.

418 BIBLIOGRAFIA

419 ALMEIDA FILHO, J.; CAMBRAIA, J. Estudo do valor nutritivo do “ora-pro-nobis” (*Pereskia*
420 *aculeata* Mill.). **Revista Ceres**, v. 21, n. 114, p. 105-111, 1974.

421 ALMEIDA, M.E.F.; JUNQUEIRA, A.M.B.; SIMÃO, A.A.; CORRÊA, A.D. Caracterização
422 química das Hortaliças não-convencionais conhecidas como Ora-pro-nobis. **Bioscience**
423 **Journal**, v.30, suplemente 1, p.431-439, 2014.

- 424 ASSOCIATION OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of**
425 **analysis of the association of the official analysis chemists**, 16th ed, Washington: AOAC,
426 p.1018, Supplement 1998, 1995.
- 427 ASOLINI, F. C.; TEDESCO, A. M.; CARPES, S.T. Antioxidant and Antibacterial Activities
428 of Phenolic Compounds from Extracts of Plants Used as Tea. **Brasilian Journal of Food**
429 **Technology**, v.9, n.3, p.209-215,2006.
- 430 ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos - Teoria e Prática**, 3.ed, Minas Gerais: UFV-
431 Universidade Federal de Viçosa, 2006, p.478.
- 432 BARBOSA, C. de O.; LOPES, I.B. de M.; MORGANO, M.A.; ARAÚJO, M.A. da M.;
433 MOREIRA-ARAÚJO, R.S. dos R. Conteúdo de minerais dos ingredientes e da multimistura.
434 **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n.4, p. 916-920, 2006.
- 435 BARBOSA, C. K. R.; FINGER, F. L.; CASALI, V. W. D.; OLIVEIRA, L. S.; PEREIRA, D.
436 M. Manejo e conservação pós-colheita de *Pereskia aculeata* Mill. em temperatura ambiente.
437 **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 2, 2012.
- 438 BARROS, K. N.; GUIMARÃES, H. E. T.; SARTOR, C. P.; FELIPE, D. F. Desenvolvimento
439 de uma pomada contendo extrato de *Pereskia aculeata* Mill. In: ENCONTRO
440 INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA CESUMAR, VI, 2009. Maringá. **Anais...**
441 Maringá: CESUMAR, 2009. p. 1-4.
- 442 BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure
443 of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p.70-76, 1996.
- 444 BIRCH, A. E.; FENNER, G. P.; WATKINS, R.; BOYD, L. C. Antioxidant properties of
445 evening primrose seed extracts. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 49, p. 4502-4507,
446 2001.
- 447 BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to
448 evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v.28, p. 25- 30, 1995.

- 449 BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997.
450 Regulamento Técnico de Aditivos Alimentares – definições, classificação e emprego. Brasília:
451 **Diário Oficial da União**, 1997.
- 452 BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 27 de 13 de janeiro de 1998.
453 Aprova o Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar
454 (declarações relacionadas ao conteúdo de nutrientes), constantes do anexo desta Portaria.
455 **Diário Oficial da União**, 1998.
- 456 BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº263, de 22 de setembro
457 de 2005. Aprova o Regulamento Técnico para Produtos de Cereais, Amidos, Farinhas e Farelos.
458 **Diário Oficial da União**, 2005.
- 459 COUTO, M. E. O. **Coleção de plantas medicinais aromáticas e condimentares**. Pelotas, RS:
460 Embrapa Clima Temperado, 91 p, 2006.
- 461 DAYRELL, M. S. **Extração e estudo do valor nutritivo de proteínas de folhas de ora pro**
462 **nobis (Pereskia aculeata Mill)**. 1977. 106 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade
463 Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- 464 ELLEUCH, M.; BEDIGIAN, D.; ROISEUX, O.; BESBES, S.; BLECKER, C. Dietary fibre
465 and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and
466 commercial applications: A review, *Food Chemistry*, v124, p.411-421, 2011.
- 467 FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. 9. ed. São Paulo: Atheneu, 2000.
468 307p.
- 469 GIRÃO, L. V. C.; SILVA FILHO, J. C. da; PINTO, E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.
470 Avaliação da composição bromatológica de ora-pro-nóbis. **Horticultura Brasileira**, v. 21, n.
471 2, 2003.
- 472 GOBBO - NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de
473 metabólitos secundário. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374 – 381, 2007.

- 474 HALVORSEN, B. L.; HOLTE, K.; MYHRSTAD, M. C. W.; BARIKMO, I.; HVATTUM, E.;
- 475 REMBERG, S. F.; WOLD, A. N.; HAFFNER, K.; BAUGEROD, H.; ANDERSEN, L. F.;
- 476 MOSKAUG, J.; JACOBS, D. V. R.; BLOMHOFF, R. A Systematic Screening of Total
- 477 Antioxidants in Dietary Plants. **The Journal of Nutrition**, v. 132, n. 3, p. 461-471, 2009.
- 478 KHADER, V., RAMA, S. Effect of maturity on macromineral content of selected leafy
- 479 vegetables. **Journal of Clinical Nutrition**, v. 12, n.1, p.45-49. 2003.
- 480 KAHKONEN, M. P.; HOPIA, A. I., VUORELA, H. J.; RAUHA, J. P.; PIHLAJA, K.;
- 481 KUJALA, T. S.; HEINONEN, M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic
- 482 compounds. **Journal Agriculture Food Chemistry**. v.47, p. 3954-3962, 1999.
- 483 KAZAMA, C.C.; UCHIDA, D. T.; CANZI, K. N.; SOUZA, P.; CRESTANI, S.;
- 484 GASPAROTTO, A. JR.; LAVERDE, A. JR. Involvement of arginine-vasopressin in the
- 485 diuretic and hypotensive effects of *Pereskia grandifolia* Haw. (Cactaceae). **Journal of**
- 486 **Ethnopharmacology**. v.144, n.1, p.86-93, 2012.
- 487 KIM, S.J.; MIN, S.C.; SHIN, H.J., LEE, Y.J., CHO, A. R., KIM, S. Y., & HAN, J. Evaluation
- 488 of the antioxidant activities and nutritional properties of ten edible plant extracts and their
- 489 application to fresh ground beef. **Meat Science**, v.93, n.3, p. 715-722, 2013.
- 490 KINUPP, V. F. Plantas alimentícias alternativas no Brasil: uma fonte complementar de
- 491 alimento e renda. **ABA journal**, v.1, p. 333-336, 2006.
- 492 KINUPP, V. F.; BARROS, I. B. I. Teores de proteína e minerais de espécies nativas, potenciais
- 493 hortaliças e frutas. **Food Science Technology**, v. 28, n.4, p. 846-57, 2008.
- 494 LEHNINGER, ALBERT LESTER. **Princípios de Bioquímica**. 3. ed. São Paulo: Sarvier,
- 495 p.897, 2002.
- 496 LISIEWSKA, Z.; GEGCZYNSKI, P.; BERNÁS, E.; KMIĘCIK, W. Retention of mineral
- 497 constituents in frozen leafy vegetables prepared for consumption. **Journal Food Composition**
- 498 **and Analysis**, v.22, n.3, p. 218-223, 2009.

- 499 MAHAN, K.L.; STUMP-SCOTT, S. **Krause: Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. 11.ed. São
500 Paulo: Roca, cap.11, p. 271 – 280, 2005.
- 501 MARTHA-ESTRELLA, G. P.; NIOKHOR, D. P.; STEVANOVIC, T.; Comparative study of
502 antioxidante capacity of yellow birch twigs at ambient and high temperatures. **Food**
503 **Chemistry**, v. 107, n. 1, p. 344-351, 2007.
- 504 McDOWELL, L.R. **Minerals in animal and human nutrition**. San Diego: Academic, 524p,
505 2005.
- 506 MELO, E. A.; MANCINI FILHO, J.; GUERRA, N.B.; MACIEL, G. R. Atividade antioxidante
507 de extratos de coentro (*Coriandrum sativum* l.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**,
508 Campinas, v. 23, p. 195-199, 2003.
- 509 MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; SANTOS, T.C.; CINTIA,
510 S.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidante activity
511 by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, v.15, n.2, p. 127-130, 2001.
- 512 MERCÊ, A. L. R.; LANDALUZE, J. S.; MANGRICH, A. S.; SZPOGANICZ, B.;
513 SIERAKOWSKI, M. R. Complexes of arabinogalactan of *Pereskia aculeate* Mill and Co^{2+} ,
514 Cu^{2+} , Mn^{2+} , and Ni^{2+} . **Bioresource Technology**, v. 76, n. 1, p. 29-37, 2001.
- 515 MERCADANTE, A. Z.; CAPITANI, C.D.; DECKER, E. A.; CASTRO, I. A. Effect of natural
516 pigments on the oxidative stability of sausages stored under refrigeration. **Meat Science**, v. 84,
517 n. 4, p. 718-726, 2010.
- 518 MIYAZAWA, M.; PAVAN, M.A.; MURAOKA, T. Análises químicas de tecido vegetal. *In*:
519 SILVA, F.C. (Org.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília:
520 Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. cap. 4, p.171-224.
- 521 NACIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS –NCCLS.
522 **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**. 8. ed. Wayne:
523 NCCLS, 2003. 58 p. NCCLS document M2-A8.

- 524 NEGRI, M. L. S. **Secagem das folhas de Espinheira-Santa-*Maytenus ilicifolia* Mart. Ex**
525 **Reiss. Sob diferentes temperaturas e influência nos teores de polifenóis, na atividade**
526 **antioxidante e nos aspectos microbiológicos.** 2007. 95.f. Dissertação (Mestrado em Ciências
527 Farmacêuticas)- Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.
- 528 ODHAV, B.; BEEKRUM, S.; AKULA, U.; BAIJNATH, H. Preliminary assessment of
529 nutritional value of traditional leafy vegetables in KwaZulu-Natal, South Africa. **Journal of**
530 **Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 5, p. 430-435, 2007.
- 531 OHSE, S.; RAMOS, D. M. R.; CARVALHO, S. M.; FETT, R.; OLIVEIRA, J. L. B.
532 Composição centesimal e teor de nitrato em cinco cultivares de alface produzidas sob cultivo
533 hidropônico. **Bragantia**, v.68, n.2, p.407-414, 2009.
- 534 OLIVEIRA, C. D. D. **Avaliação do potencial antimicrobiano e tripanocida de *Pereskia***
535 ***aculeata* Mill.** 2008. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) Universidade de Franca. Franca,
536 2008.
- 537 PALEZI, S. C. **Embutido Emulsionado a Base de Pescado (*Micropogonias furnierii*) com**
538 **adição de Isolado Proteico de Pescado e Antioxidante Natural de Marcela (*Achyrocline***
539 ***satureioides*).** 2011. 87f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) -
540 Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.
- 541 PARK, Y. K.; IKEGAKI, M.; ABREU, J. A. S.; ALCICI, N. M. F. Estudo de alguns
542 componentes da própolis coletada por *Apis mellifera* no Brasil. **Arquivos de biologia e**
543 **tecnologia**, v. 38, n. 4, p.1253-1259, 1995.
- 544 PELLEGRINI, N.; SERAFINI, M.; COLOMBI, B.; RIO, D. D.; SALVATORE, S.;
545 BIANCHI, M.; BRIGHENTI, F. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils
546 consumed in Italy assessed by three different *in vitro* assays. **The Journal of Nutrition**,
547 Bethesda, v.2, n.1, p.2812-2819, 2003.

- 548 PEREIRA, G.I.S.; PEREIRA, R. G. F. A.; BARCELOS, M. F. P.; MORAIS, A. R. Avaliação
549 química da folha de cenoura visando ao seu aproveitamento na alimentação humana. **Ciência**
550 **e Agrotecnologia**, v.27, n.4, p.852-857, 2003.
- 551 PEREIRA, M. G.; **Aplicação de Antioxidantes Naturais em Carne Mecanicamente**
552 **Separada (CMS) de Ave**. 2009. 128 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos
553 Alimentos) -Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- 554 PINTO, N. A. V. D.; VILAS BOAS, B. M.; CARVALHO, V. D. Caracterização mineral das
555 folhas de taioba (*Xanthosoma sagittifolium*). **Ciência e Agrotecnologia**, v.23, n. 1, p. 57-61,
556 1999.
- 557 PRIOR, R. L.; XIANLI, W.; SCHAICH, K. Standardized methods for determination of
558 antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of the**
559 **Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 4290-4302, 2005.
- 560 RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos
561 gordurosos. **Química Nova**. v.29, n. 4, p.755-760, 2006.
- 562 RAMOS, S. C.; MAGNONI, D., CUKIER, C. **Ferro e Ácido Fólico**. 2008. p. 01-35.
563 Disponível em:<[http://www.amway.com.br/checkout/multi/summary/downloadDigitalMedia](http://www.amway.com.br/checkout/multi/summary/downloadDigitalMediaProduct?productCode=270052_Ferro_e_AcFolico_IMEN)
564 [Product?productCode=270052_Ferro_e_AcFolico_IMEN](http://www.amway.com.br/checkout/multi/summary/downloadDigitalMediaProduct?productCode=270052_Ferro_e_AcFolico_IMEN)> Acesso em nov. 2015.
- 565 RE, R; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS,
566 C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free**
567 **Radical Biology and Medicine**, v.26, p.1231–1237, 1999.
- 568 ROCHA, D. R. C.; PEREIRA JÚNIOR, G. A.; VIEIRA, G.; PANTOJA, L.; SANTOS, A. S.;
569 PINTO, N. A. V. D. Macarrão adicionado de Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill)
570 desidratado. **Alimentos e Nutrição**, v. 19, n. 4, p. 459-65, 2008.
- 571 ROCKENBACH, I. I.; RODRIGUES, E.; GONZAGA, L. V.; CALIARI, V.; GENOVESE, M.
572 I.; GONÇALVES, A. E. S. S.; FETT, R; Phenolic compounds content and antioxidant activity

- 573 in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in
574 Brazil. **Food Chemistry**, v. 127, p. 174-179, 2011
- 575 ROHANI-GHADIKOLAEI, K; ABDULALIAN, E; WING-KEONG,N.G. Evaluation of the
576 proximate, fatty acid and mineral composition of representative green, brown and red seaweeds
577 from the Persian Gulf of Iran as potential food and feed resources. **Journal Food Science**
578 **Technology**, v.49, n.6, p.774-780, 2012.
- 579 ROJAS, M.C.; BREWER, M.S. Effect of natural antioxidants on oxidative stability of frozen,
580 vacuum-packaged beef and pork. **J. Food Quality**, v. 31, p. 173-188, 2007.
- 581 ROYO, V. de A.; MORAES, F. R. C. de; CESTARI, A.; LIMA, T. C.; SILVA, M. L. A. e;
582 MARTINS, C. H. G.; FURTADO, N. A. J. C. Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato
583 bruto de ramos de *Pereskia aculeata* Mill. In: Encontro Regional da Sociedade Brasileira de
584 Química, XIX, Ouro Preto, MG. **Anais...** Ouro Preto: SBQ, 2005. p. 171.
- 585 SALAZAR, J.; VELASQUES, R.; QUESADA, S.; PICCINELLI, A. L.; RASTRELLI, L.
586 Chemical composition and antinutritional factors of *Lycianthes synanthera* leaves (chomte).
587 **Food Chemistry**, v. 97, n. 2, p. 343-348, 2006.
- 588 SANTOS, M.A.T. Efeito do cozimento sobre alguns fatores antinutricionais em folhas de
589 brócoli, couve-flor e couve. **Ciência e Agrotecnologia**, v.30, p.294-301, 2006.
- 590 SARTOR, C. F. P.; AMARAL, V.; GUIMARÃES, H. E. T.; BARROS, K. N.; FELIPE, D. F. ;
591 CORTEZ, L. E. R.; VELTRINI, V. C. Estudo da ação cicatrizante das folhas de *Pereskia*
592 *aculeata* Mill. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 3, n. 2, p. 149-154, 2010.
- 593 SELANI, M.M.; CONTRERAS-CASTILLO, C.J.; SHIRAHIGUE, L.D.; GALLO, C.R. ;
594 PLATA-OVIEDO, M.; MONTES-VILLANUEVA, N. D. Wine industry residues extracts as
595 natural antioxidants in raw and cooked chicken meat during frozen storage. **Meat Science**, v.88,
596 n.3, p.397-403. 2011

- 597 SIGER, A.; CZUBINSKI, J.; KACHLICKI, P.; DWIECKI, K.; LAMPART-SZCZAPA, E.;
598 NOGALA-KALUCKA, M. Antioxidant activity and phenolic content in three lupin species.
599 **Journal of Food Composition and Analysis**. v.25, n.2, p.190–197, 2012.
- 600 SILVA, M. C.; ROCHA, C. R.; SILVA, T. M.; SILVA, M. R.; PINTO, N. A. V. D.(2005).
601 **Teores de proteínas, e fibras de taioba, ora-pro-nobis, serralha e mostarda coletadas no**
602 **município de Diamantina**. In: FUNDAÇÃO EDUCACIONAL CIENTÍFICA E
603 TECNOLOGIA DA UFVJA, 8., 2006, Diamantina, MG. **Anais...** Diamantina: editora UFVJA,
604 2006. 124p.
- 605 SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total
606 phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent.
607 **Methods Enzymol**, n. 299, p. 152-178, 1999.
- 608 SUN, T.; POWERS, J. R.; TANG, J. Evaluation of the antioxidante activity of asparagus,
609 broccoli and their juices. **Food Chemistry**, v. 105, n.1, p.101-106, 2007.
- 610 TAKEITI, C. Y.; ANTONIO, G. C.; MOTTA, E. M. P.; COLLARES- QUEIROZ, F. P.; PARK,
611 K. J. Nutritive evaluation of non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Mill).
612 **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 60, n. 1, p. 148-160, 2009.
- 613 TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C. BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análise**
614 **de solo, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre: Departamento de Solos, UFRGS,
615 1995. 174p.
- 616 TEIXEIRA, I. R.; SOUZA, C. M. DE; BORÉM, A.; SILVA, G F. Variação dos valores de pH
617 e dos teores de carbono orgânico, cobre, manganês, zinco e ferro em profundidade em Argissolo
618 Vermelho-Amarelo, sob diferentes sistemas de preparo do solo. **Bragantia**, v.62, p.119-126,
619 2003.
- 620 TONIOLO, R.; PIENIZ, S.; THYS, R. C. S.; NORENA, C. P. Z.; BRANDELLI, A.;
621 OILIVERA, F. C. Extração de compostos antioxidantes da casca do pinhão e aplicação em

- 622 carnes para evitar a oxidação lipídica. *In*: 9 Simpósio Latino americano de Ciência de
623 Alimentos, 2011. **Anais...**Campinas: UNICAMP, 2011.
- 624 UUSIKU, N. P.; OELOFSE, A.; DUODU, K. G.; BESTER, M; FABER, M. Nutritional value
625 of leafy vegetables of sub-Saharan Africa and their potential contribution to human health: A
626 review. **Journal Food Composition and Analysis**, v.23, p. 499-509, 2010.
- 627 VALENTE, L. M. M.; SCHEINVAR, L. A.; SILVA, G. C.; ANTUNES, A. P.; SANTOS, F.
628 A. L.; OLIVEIRA, T. F.; TAPPIN, M. R. R.; AQUINO NETO, F. R.; PERIERA, A.S.;
629 CARVALHAES, S. F.; SIANI, A. C.; SANTOS, R. R.; SOARES, R. O. A.; FERREIRA, E. F.;
630 BOZZA, M.; STUTZ, C.; GIBALD, D. Evaluation of the antitumor and trypanocidal activities
631 and alkaloid profile in species of Brazilian Cactaceae. **Pharmacognosy Magazine**, v. 3, n. 11,
632 p. 167-172, 2007.
- 633 XU, B. J.; CHANG, S. K. C. A comparative study on phenolic profiles and antioxidant
634 activities of legumes as affected by extraction solvents. **Journal of Food Science**, v.72, p. 159–
635 166, 2007.
- 636 WANG, M.; SIMON, J. E.; AVILES, I. F.; HE, K.; ZHENG, Q. Y.; TADMOR, Y. Analysis of
637 antioxidative phenolics compounds in artichoke. **Journal of Agricultural and Food**
638 **Chemistry**, v.51, n. 3, p.601-608, 2003.

4.2 Artigo Científico 2

AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E SENSORIAL DE MORTADELAS REFRIGERADAS ADICIONADAS DE EXTRATO DE ORA-PRO-NÓBIS (*Pereskia aculeata* Mill.) COMO ANTIOXIDANTE NATURAL

Artigo em fase final de revisão para ser submetido à Meat Science
(Configuração conforme as normas da revista)

¹Angela Souza Rodrigues*, ³Ernesto Hashime Kubota, ³Gilberti Helena Hubscher Lopes,
³Renius Mello, ³Rosa Cristina Prestes, ¹Camila Giacomelli da Silva, ¹Jamila dos Santos Alves,
²Natiéle Piovesan, ²Vanessa Viera, ⁴Tiffany Prokopp Hautrive.

¹ Aluna do Mestrado, Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos,
Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria – UFSM;

² Aluna do Doutorado, Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos,
Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria – UFSM;

³Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais,
Universidade Federal de Santa Maria – UFSM.

⁴Nutricionista, Hospital de Guarnição (HGU), Santa Maria.

*Autor correspondente: Angela Souza Rodrigues: Tel: 055-91361723

E-mail: ange-atinha@hotmail.com

35 RESUMO

36 A oxidação lipídica é a principal reação relacionada com a perda de qualidade e redução de
37 *shelf-life* em produtos cárneos. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do extrato das folhas
38 de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Mill.) sobre a estabilidade físico-química, microbiológica
39 e sensorial de mortadelas durante o armazenamento refrigerado a 4 °C. As mortadelas
40 diferenciaram-se em relação à adição de extrato e eritorbato de sódio. Foram realizadas duas
41 repetições para cada tratamento (N= 14). Foram analisadas a composição centesimal, pH,
42 atividade de água, oxidação lipídica, cor, avaliação microbiológica e sensorial das mortadelas.
43 A composição centesimal das mortadelas está de acordo com o exigido pela legislação
44 brasileira, houve diferença estatística (<0,05) no percentual de gordura. Observou uma
45 tendência de aumento nos valores de pH de todos os tratamentos, durante o tempo de
46 armazenamento. Os resultados encontrados para TBARS nas mortadelas foram na faixa de 0,29
47 a 0,84 mg. O tratamento com 0,2% de eritorbato de sódio e 2,0% de extrato de ora-pro-nóbis
48 apresentou maior eficiência em retardar a oxidação lipídica. Por outro lado o tratamento com
49 0% de eritorbato de sódio e 0% de extrato de ora-pro-nóbis apresentou menor proteção contra
50 a oxidação lipídica, pois, teve maior coeficiente angular da reta, alcançando 0,840 mg MDA/kg
51 de amostra no 70° dia. O comportamento do parâmetro de cor b* coincide com os valores de
52 TBARS, pois os tratamentos OPN2, controle e OPN4 foram as mortadelas que apresentaram
53 maior oxidação lipídica. A avaliação sensorial demonstrou uma boa aceitabilidade pelos
54 consumidores. A inclusão de extrato das folhas de ora-pro-nóbis influenciou positivamente
55 sobre a estabilidade físico-química, microbiológica e sensorial de mortadelas durante o
56 armazenamento refrigerado a 4 °C.

57 **Palavras-chave:** Mortadela. Extrato de ora-pro-nóbis. Oxidação lipídica.

58

59 ABSTRACT

60 Lipid oxidation is the main reaction related to the loss of quality and reduction of *shelf-life* of
61 meat products. The aim of this study was to evaluate the effect of the extract from the leaves of
62 ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.) On the physical and chemical stability, microbiological
63 and sensory bologna during cold storage at 4 °C. The mortadella differ with regard to the
64 addition of extract and sodium erythorbate. Two replicates were performed for each treatment
65 (n = 14). Analyses were carried out in chemical composition, pH, water activity, lipid oxidation,
66 color, microbiological and sensory evaluation. The chemical composition of bologna is in

67 accordance with required by Brazilian law, there was no statistical difference ($p < 0.05$) in the
68 percentage of fat. Observed a tendency of increasing the pH of all treatments during the storage
69 time. The results for TBARS in bologna were in the range 0.29 to 0.84 mg. Treatment with
70 0.2% sodium erythorbate, and 2.0% of *Pereskia aculeata* extract was more efficient in delaying
71 lipid oxidation. On the other hand treatment with 0% sodium erythorbate and 0% of *Pereskia*
72 *aculeata* extract had less protection against lipid oxidation, therefore, had a greater slope of the
73 line, reaching 0.840 mg MDA / kg sample on the 70th day. The color parameter b^* behavior
74 coincides with TBARS values, as OPN2 treatments, OPN 4 were the bologna that had higher
75 lipid oxidation. The sensory evaluation showed a good acceptance by consumers. Including
76 extract of ora-pro-nobis leaves influence positively on the physical and chemical stability,
77 microbiological and sensory bologna during cold storage at 4 °C.

78 **Keywords:** Bologna sausage. Ora-pro-nóbis extract. Lipid oxidation.

79

80 1 INTRODUÇÃO

81 O resgate e a valorização de hortaliças não-convencionais representam ganhos
82 importantes do ponto de vista cultural, econômico, social e nutricional. O cultivo dessas
83 hortaliças ocorre em grande parte por populações tradicionais (agricultores familiares) que
84 preservam o conhecimento acerca de seu cultivo e consumo, passando-o de geração a geração.
85 São nominadas hortaliças não-convencionais por estarem presentes em determinadas
86 localidades ou regiões exercendo influência na alimentação de uma população tradicional,
87 como a ora-pro-nóbis (BRASIL, 2010).

88 A ora-pro-nóbis também é popularmente conhecido como groselha-da-américa,
89 lobrobo, e é considerado um complemento nutricional devido ao seu conteúdo protéico, fibras,
90 ferro, cálcio, dentre outros. Suas folhas são apreciadas como suculentas e comestíveis, e podem
91 ser aproveitadas em várias preparações, como farinhas, saladas, refogados, tortas e massas
92 alimentícias assim como no macarrão (ROCHA et al., 2008).

93 Recentemente houve um crescimento na demanda por produtos cárneos mais saudáveis.
94 A formulação deste tipo de produto é baseada nas estratégias de processamento como uma das
95 formas de desenvolvimento de potenciais produtos funcionais a base de carne. Numerosos
96 ingredientes não cárneos têm sido usados para reformular produtos cárneos e, assim incluir
97 compostos mais saudáveis na sua formulação (YUNES et al., 2013)

98 Entende-se por mortadela “o produto cárneo industrializado, obtido de uma emulsão das
99 carnes de animais de açogue, acrescido ou não de toucinho, adicionado de ingredientes,

100 embutido em envoltório natural ou artificial, em diferentes formas e submetido ao tratamento
101 térmico adequado” (BRASIL, 2000). É um dos produtos cárneos com bom valor nutritivo
102 excelente aceitação pelo consumidor. Ramos; Gomide (2005) apontam que sua produção tem
103 superado em muitos outros produtos tidos como tradicionais pela indústria cárnea brasileira e,
104 por se tratar de um produto de amplo consumo popular, a tendência é de crescimento contínuo.
105 Além da fonte proteica e lipídica, uma infinidade de ingredientes não cárneos tem sido utilizada
106 na elaboração dos produtos emulsionados, visando reduzir perdas no cozimento e nos custos da
107 formulação, podendo melhorar ou alterar a aparência, a palatabilidade, a textura e,
108 principalmente, estabilizar os lipídios durante o cozimento (MASSINGUE, 2012).

109 A oxidação lipídica é um dos principais fatores limitantes da qualidade de carnes e
110 produtos cárneos, definindo o *shelf-life* na medida em que gera produtos indesejáveis, do ponto
111 de vista sensorial, nutricional e formação de substâncias tóxicas. Este processo está relacionado
112 à quantidade de ácidos graxos poli-insaturados, processos mecânicos e presença de íons
113 metálicos, oxigênio, pigmentos heme e antioxidantes (STEFANELLO et al., 2015).

114 Algumas estratégias são utilizadas para impedir a oxidação lipídica, dentre elas pode se
115 citar a utilização de embalagens a vácuo restringindo o acesso ao oxigênio durante o
116 armazenamento e o uso de antioxidante (TANG et al.,2001). O interesse por antioxidantes
117 naturais recentemente tem aumentado devido a percepção negativa dos consumidores sobre a
118 segurança dos antioxidantes sintéticos, os quais tem sido restringidos devido ao seu potencial
119 de carcinogênese, bem como outros efeitos maléficos a saúde (VELASCO, 2005).Isto denota a
120 importância do uso de compostos naturais para aumentar a vida útil dos produtos cárneos, sendo
121 uma tecnologia promissora, uma vez que muitas substâncias vegetais possuem propriedades
122 antioxidante. Os ingredientes funcionais em produtos cárneos podem melhorar a qualidade
123 nutricional e prolongar a vida útil (FERNÁNDEZ- GINÉZ et al., 2005).

124 Desta maneira, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do extrato das folhas de ora-
125 pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Mill.) sobre a estabilidade físico-química, microbiológica e
126 sensorial de mortadelas durante o armazenamento refrigerado.

127 **2 MATERIAIS E MÉTODOS**

128 **2.1 Matéria Prima**

129 As amostras de ora-pro-nóbis foram fornecidas por um estabelecimento comercial
130 produtor, localizado na cidade de Porto Belo (SC) na forma desidratada. As amostras foram
131 acondicionadas ao abrigo de luz e mantidas em freezer (-12 °C) até o momento de serem
132 utilizadas. As carnes, toucinho, CMS e os ingredientes foram adquiridos em estabelecimentos
133 comerciais de cidade de Santa Maria (RS) e armazenadas sob congelamento (-12 °C) até a
134 utilização.

135 **2.2 Obtenção do extrato de Ora-pro-nóbis**

136 O extrato das folhas de ora-pro-nóbis foi obtido segundo metodologia usada por Kim et
137 at. (2013). Para o preparo do mesmo as folhas de ora-pro-nóbis desidratadas foram pesadas e
138 adicionadas de água destilada na proporção de 1:20 (m/v). Após adição do solvente, a mistura
139 foi levada ao banho ultratermostatizado a temperatura controlada de 95 °C-100 °C (Solab,
140 modelo SL-152/10) e submetida agitação constante utilizando agitador (Marconi MA-039)
141 durante 60 minutos. Após o extrato foi filtrado em papel filtro, acondicionado em frascos âmbar
142 e armazenado em freezer (-12 °C) até o momento da sua utilização.

143 **2.3 Elaboração das Mortadelas**

144 A carne (dianteiro bovino), CMS (carne mecanicamente separada de aves) e gordura
145 (suína) foram previamente descongelados em geladeira a ± 4 °C (Electrolux, Curitiba, PR,
146 Brasil). As mortadelas foram elaboradas de acordo com a Tabela 1.

147 As matérias-primas moídas em disco com orifício de 8 mm foram transferidas conforme
148 cada tratamento, onde foram adicionados sal, polifosfato, condimento para mortadela, nitrito e
149 a metade da água/gelo. Após a absorção da água, foram adicionados os outros ingredientes e o
150 restante da água/gelo. Após a obtenção da emulsão cárnea, colocou-se o cutter na menor
151 velocidade e foi adicionado o toucinho para sua distribuição na massa. A massa foi embutida
152 em tripa artificial e as peças cozidas em tanque, iniciando-se a 60 °C e terminando a 80 °C até
153 atingir a temperatura de 73 °C no centro das peças, resfriadas imediatamente em água corrente
154 e levadas ao refrigerador (4 °C) até o momento das análises.

155 O extrato das folhas de ora-pro-nóbis e o eritorbato de sódio foram adicionados após os
156 ingredientes básicos, segundo os valores constantes na Tabela 1. Foram realizadas duas
157 repetições para cada tratamento (N= 14).

158 Tabela 1- Formulações das mortadelas adicionadas de diferentes concentrações de extrato de
 159 ora-pro-nóbis e eritorbato sódio.

Matéria-prima e Ingredientes (%)	Formulações (%)				
	CONTROLE	OPN1	OPN2	OPN3	OPN4 OPN5 OPN6
Carne (matéria-prima)	29,60	27,40	27,60	29,40	28,50
Toucinho (matéria-prima)	10	10	10	10	10
CMS (matéria-prima)	40	40	40	40	40
Sal	1	1	1	1	1
Gelo	10	10	10	10	10
Proteína concentrada de soja	4	4	4	4	4
Condimento para mortadela	1	1	1	1	1
Nitrito	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015
Glutamato monossódico	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Maltodextrina	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Lactato de sódio	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Carragena	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Pimenta preta moída	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Polifosfato	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Fécula de mandioca	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Extrato	0	0,20	0	0,20	0,10
Eritorbato	0	2,0	2,0	0	1,0
			100%		

160 CONTROLE: 0% eritorbato de sódio, 0% extrato de ora-pro-nóbis; OPN1: 0,2% eritorbato de sódio, 2,0% extrato
 161 de ora-pro-nóbis; OPN2: 0% eritorbato de sódio, 2,0% extrato de ora-pro-nóbis; OPN3: 0,2% eritorbato de sódio,
 162 0% extrato de ora-pro-nóbis; OPN4: 0,1% eritorbato de sódio, 1,0 % extrato de ora-pro-nóbis;

163 **2.4 Caracterização físico-química**

164 Para a realização das análises foram trituradas em multiprocessador até a formação de
165 uma pasta homogênea. As determinações umidade, cinzas, extrato etéreo, proteína. Os
166 carboidratos foi por diferença (AOAC,1995).

167 **2.5 Determinação de pH e Atividade de água (Aa)**

168 O pH e atividade de água foram realizados nos dias 0, 14, 28, 42, 56 e 70 de
169 armazenamento. A medida do pH foi realizada em potenciômetro (Modelo DM-23DC-
170 pHmetro, São Paulo, Brasil) conforme IAL(2008). A análise da atividade de água foi realizada
171 no equipamento Aqualab R[®], modelo CX-2 (Decagon Decive ins., 2003) com realização da
172 leitura direta.

173 **2.6 Oxidação lipídica- TBARS**

174 A avaliação da oxidação lipídica das mortadelas foi realizada pelo teste das Substâncias
175 Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico(TBARS) segundo Raharjo et al. (1992), adaptado por Pereira
176 (2009), com 10g de amostra previamente moída e homogeneizada em saqueta plástica,
177 adicionado 40 mL de ácido tricloroacético (TCA) 5% e 1 mL do antioxidante sintético
178 butilhidroxitolueno (BHT) 0,15%. A amostra foi homogeneizada por um minuto em
179 Stomacher, filtrada com auxílio de papel filtro qualitativo para balão volumétrico de 50 mL
180 sendo o volume completado com a solução de ácido tricloroacético 5%. Deste balão, retirou-se
181 uma alíquota de 5 mL e transferiu-se para tubo de ensaio, onde foi adicionado 5 mL de ácido
182 tiobarbitúrico 0,08 M em acético 50%. Os tubos foram incubados em banho-maria fervente por
183 40 minutos. A leitura foi realizada a 531 nm e os resultados comparados contra o branco. Os
184 valores de TBARS foram determinados nos dias 0, 14, 28, 42, 56, 70° de armazenamento e os
185 resultados foram expressos em mg de malonaldeído por quilograma de amostra (mg MDA/kg).

186 **2.7 Determinação da cor**

187 A cor das mortadelas foi analisada nos dias 0, 14, 28, 42, 56 e 70 de armazenamento de
188 acordo com o sistema da Comissão Internacional de Iluminação (CIE), usando os parâmetros
189 L^* , a^* e b^* (escala CIELAB), através da leitura em colorímetro (Spectrophotometer CM-700D)
190 calibrado em placa de calibração branco (RAMOS e GOMIDE, 2007). A análise foi realizada
191 com iluminante A e ângulo de observação de 10°. Foram efetuadas dez leituras na superfície
192 de cada amostra de mortadela em diferentes pontos de três proporções. Os resultados foram
193 expressos como L^* , a^* , b^* , C^* e h° . O valor de L^* determina a posição do ponto sobre o eixo
194 vertical de claridade; o valor de a^* é do ponto sobre o eixo (-) verde/vermelho (+) e o valor de
195 b^* , do ponto correspondente sobre o eixo (-) azul/amarelo (+).

196 Também foram calculados os parâmetros C^* (saturação) e h^o (tonalidade) de acordo
197 com as fórmulas (1) e (2):

198

$$199 \quad C = \sqrt{(a^*{}^2 + b^*{}^2)}(1)$$

$$200 \quad h = \tan^{-1}(b^*/a^*)(2)$$

201 **2.8 Análises Microbiológicas**

202 As análises microbiológicas foram realizadas nos dias 0, 14, 28, 42, 56 e 70 de
203 armazenamento (4 °C) para microrganismos mesófilos e psicotróficos. A análises
204 microbiológicas de coliformes a 35 °C, coliformes a 45 °C, *Staphylococcus* coagulase positiva,
205 *Salmonella sp* e *Clostridium sulfito* redutor foram realizadas nos dias 0 e 35 de armazenamento
206 do produto (APHA, 2001).

207 **2.9 Análise Sensorial**

208 O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE:
209 42351515.1.0000.5346) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), reconhecido pela
210 Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – (CONEP/MS).

211 Foram avaliados a aceitabilidade de todas as formulações de mortadela elaboradas, com
212 50 provadores não treinados, adultos de ambos os sexos, consumidores de produtos cárneos. Os
213 provadores foram alunos, professores e funcionários do Departamento de Ciência e Tecnologia
214 dos Alimentos da UFSM.

215 A aceitação das amostras foi verificada através do teste afetivo de aceitabilidade em
216 nível laboratorial, apresentadas aos provadores de forma monódica e aleatória, através da
217 utilização de uma escala hedônica estruturada de 7 pontos (7- Gostei muito e 1 - Desgostei
218 muito). As amostras foram avaliadas com relação a cinco atributos: cor, odor, sabor, textura e
219 aparência global.

220 A análise ocorreu no 22 e 42 dias após a elaboração do produto, em uma sala com
221 cabines individuais no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento Ciência e Tecnologia
222 dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria – UFSM.

223 Cada julgador recebeu aproximadamente 30 g de cada formulação de produtos cárneos,
224 em pratos plásticos, codificados com números de três dígitos, em ordem aleatória,
225 acompanhados com água e biscoito tipo água e sal que foi utilizado pelo provador entre as
226 amostras, para limpeza das papilas gustativas. Todos os participante antes da avaliação foram
227 instruídos a assinar o termo de Consentimento Livre Esclarecido, seguindo a Resolução
228 466/2012 do CNS/MS (Apêndice A).

2.10 Análise Estatística

Para a composição centesimal efetuou-se análise de delineamento experimental inteiramente casualizado com (5) tratamentos (combinação entre eritorbato de sódio e extrato das folhas de ora-pro-nobis (Tabela 2), e duas repetições conforme o modelo estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \mathcal{E}_{ij}$$

em que , Y_{ij} = valor observado no i -ésimo tratamento e j -ésima repetição; μ =média geral da variável resposta; α_i = efeito fixo do i -ésimo tratamento; \mathcal{E}_{ij} = efeito aleatório associado à observação Y_{ij} , pressuposto $\mathcal{E}_{ij} \sim iidN(0, \sigma^2)$.

Nos dados de pH, TBARS, cor (b*) e análise sensorial efetuou-se análise do experimento em parcelas subdivididas (*split plot*) com delineamento em blocos casualizados, sendo a combinação entre eritorbato de sódio e extrato das folhas de ora-pro-nobis (Tabela 2) distribuídas nas parcelas e os tempos de armazenamento (1, 14,28,42,56 e 70 dias para pH, TBARS e cor; 22 e 42 dias para sensorial) distribuídos ao acaso nas subparcelas dentro de cada parcela, conforme o modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \gamma_k + (\alpha\gamma)_{ik} + \mathcal{E}_{ijk}$$

em que , Y_{ijk} = valor observado na i -ésima parcela, j -ésimo bloco e k -ésima subparcela; μ = média geral da variável resposta; α_i = efeito fixo da i -ésima combinação entre eritorbato de sódio e extrato das folhas de ora-pro-nobis (Antioxidante) ; β_j = efeito fixo do j -ésimo bloco; $(\alpha\beta)_{ij}$ = efeito residual das parcelas (erro A); γ_k = efeito fixo do k -ésimo tempo de armazenamento; $(\alpha\gamma)_{ik}$ =efeito fixo da interação entre o i -ésimo antioxidante e o k -ésimo tempo de armazenamento; \mathcal{E}_{ijk} = efeito residual das sub-parcelas (erro B) ou efeito aleatório associado a ijk -ésima observação, suposto $\mathcal{E}_{ij} \sim iidN(0, \sigma^2)$.

Os dados foram submetidos a análise de variância univariada (MANOVA) pelo procedimento GLM, suas médias ajustadas pelo método dos quadrados mínimos ordinários como comando LSMEANS e comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Independente da significância dos efeitos fixos no experimento em parcela subdividida foi efetuada análise de regressão polinomial a partir dos coeficientes para interpolação dos polinômios ortogonais para investigar as alterações nas variáveis dependentes em função do tempo de armazenamento, sendo o coeficiente de determinação expresso em relação a fonte tratamentos (regressão + falta de ajuste).

As análises estatísticas foram executadas no aplicativo SAS® - *System for Windows*™ versão 9.4 (SAS Institute Inc., Cary-NC, USA).

261 No parâmetro cor (L^* , a^* , C^* e h°) para reduzir o número de experiências (a fim de
 262 reduzir o tempo e custo) um desenho fatorial 2^2 foi utilizado com três repetições no ponto
 263 central. Todas as análises foram realizadas em triplicado. Os resultados foram submetidos à
 264 análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey com nível de significância de 95% ($p < 0,05$),
 265 utilizando SAS® - *System for Windows*™ versão 9.4 (SAS Institute Inc., Cary-NC, USA).

266

267 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

268 3.1 Composição centesimal do produto

269 Os resultados encontrados para composição centesimal das diferentes formulações de
 270 mortadelas estão apresentados na Tabela 2.

271

272 Tabela 2- Composição centesimal das mortadelas com diferentes concentrações de eritorbato
 273 de sódio e extrato das folhas de ora-pro-nóbis.

Tratamentos	Umidade (%)	Proteína (%)	Cinzas (%)	Gordura (%)	Carboidratos (%)
CONTROLE	61,25	13,82	3,27	19,33 ^a	2,35
OPN1	61,15	13,55	3,34	18,06 ^{ab}	3,95
OPN2	61,35	15,17	3,28	17,76 ^b	2,42
OPN3	60,10	14,42	2,77	18,47 ^{ab}	3,76
OPN4	60,37	14,58	3,27	18,80 ^{ab}	2,50
Média	60,84	14,30	3,19	18,48	2,99
Valor probabilístico	0,46	0,49	0,65	0,01	0,44
CV	1,48	6,31	1,55	3,79	36,10
EP	0,24	0,24	0,01	0,19	0,29

274 Médias na mesma coluna com letras diferentes sobrescritas diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey
 275 ($p < 0,05$).

276 $n=3$; CV (%)= coeficiente de variação; EP= erro padrão da média

277 CONTROLE: 0% eritorbato de sódio, 0% extrato de ora-pro-nóbis;

278 OPN1: 0,2% eritorbato de sódio, 2,0% extrato de ora-pro-nóbis;

279 OPN2: 0% eritorbato de sódio, 2,0% extrato de ora-pro-nóbis;

280 OPN3: 0,2% eritorbato de sódio, 0% extrato de ora-pro-nóbis;

281 OPN4: 0,1% eritorbato de sódio, 1,0 % extrato de ora-pro-nóbis;

282 Todas as formulações de mortadelas atendem os requisitos físico-químicos estabelecidos
283 pela Instrução Normativa n. 4, (BRASIL, 2000), que estabelece valor mínimo de 12% para
284 proteína e valores máximos de 65 %, de 30 % e de 10% para umidade, gordura e carboidratos
285 totais, respectivamente. Os teores de umidade, proteína, cinzas e carboidratos não apresentaram
286 diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos.

287 Houve diferença significativa ($p < 0,05$) somente para os percentuais de gordura. O teor
288 de gordura foi maior no Controle (19,33%), pode estar relacionada com a maior proporção de
289 gordura no Controle, pois esta formulação foi adicionada 29,60% de carne bovina e nas demais
290 foi adicionada menos carne. Hautrive (2014), ao analisar o efeito da substituição de gordura por
291 fibras alimentares em hambúrguer também encontrou maior valor de gordura no hambúrguer
292 tradicional (sem adição de fibras).

293 **3.2 Determinação de pH e Atividade de Água (Aa)**

294 Os resultados do efeito do eritorbato de sódio e do extrato das folhas de ora-pro-nóbis
295 no pH das mortadelas armazenadas a 4°C durante 70 dias estão apresentados na Tabela 4.

296 O pH variou entre 6,37 a 6,73, observou-se efeito significativo ($p < 0,05$) de antioxidante,
297 armazenamento e interação entre antioxidante e armazenamento. Estes dados diferem dos
298 resultados encontrados por Schmidt (2014), que em estudo sobre avaliação de hambúrguer
299 suíno adicionado de extrato de inflorescência de bananeira, encontrou valores de pH entre 6,19
300 à 6,59, não tendo diferença significativa ao longo da estocagem.

301 Bortoluzzi (2009), em estudo sobre a aplicação de fibra da polpa de laranja na fabricação
302 de mortadela de frango, identificou diferenças significativas nos valores de pH entre 5,49 e
303 6,44, durante o período de estocagem de 60 dias.

304 Neste estudo pode-se observar uma tendência de aumento nos valores de pH de todos
305 os tratamentos, durante o tempo de armazenamento. O pH dos produtos elaborados pode ter
306 sofrido um aumento devido a uma elevação nas contagens de microrganismos psicotróficos,
307 produtores de proteases. Ao iniciar a produção de proteases pelas bactérias, estas passam a
308 utilizar aminoácidos como substrato de crescimento, ao invés de utilizarem a glicose, resultando
309 o aumento do pH, devido a formação de amoníaco e aminas (TERRA; BRUM, 1988).

310 O pH de um alimento não exerce apenas influência sobre a velocidade de multiplicação
311 dos micro-organismos, mas também interfere na qualidade dos alimentos, durante o
312 armazenamento, tratamento térmico, dessecação, ou durante qualquer outro tipo de tratamento,
313 sendo também responsável direto pela deterioração de produtos alimentícios (VIEIRA, 2012).

314 Os valores de atividade de água (Aa) das mortadelas (Tabela 4) variaram de 0,96 a 0,98.
315 Observou-se diferença significativa ($p < 0,05$), entre os tratamentos, somente no dia 70. Em

316 relação ao período de armazenamento, houve uma diminuição nos valores. Segundo Yunes
317 (2010), a cinética de muitas reações depende da atividade de água, tais como inativação de
318 enzimas, a destruição de microrganismos, a reação de Maillard, a gelatinização do amido e a
319 desnaturação de proteínas durante o cozimento.

320 **3.3 Oxidação lipídica – TBARS**

321 Na Tabela 3, pode-se observar os valores médios de substâncias relativas ao ácido 2-
322 tiobarbitúrico (TBARS) das mortadelas ao longo do armazenamento. Houve efeito significativo
323 ($p < 0,05$) do antioxidante, do armazenamento e interação entre ambos sobre a oxidação das
324 mortadelas, seguindo um comportamento quadrático.

325 Os resultados encontrados de malonaldeído/kg nas mortadelas foram na faixa de 0,29 a
326 0,84 mg. Segundo Trindade et al. (2008) odores de ranço podem ser detectados por provadores
327 treinados e não treinados na faixa de 0,5-1,0 e 0,6-2,0 mg malonaldeído/kg amostra,
328 respectivamente. Ferreira et al. (2003) encontraram valores entre 0,13 a 0,92 mg de
329 malonaldeído/kg em salsichas elaboradas com substituição da gordura suína por óleo de
330 girassol.

331 O tratamento OPN1 (0,200% de eritorbato de sódio e 2,0% de extrato de ora-pro-nóbis)
332 apresentou maior eficiência em retardar a oxidação lipídica. Por outro lado o tratamento
333 Controle (0% de eritorbato de sódio e 0% de extrato de ora-pro-nóbis) apresentou menor
334 proteção contra a oxidação lipídica, pois, teve maior coeficiente angular da reta, alcançando
335 0,840 mg MDA/kg de amostra no 70° dia.

336 Ao contrário deste estudo, Yunes et al., (2013) observaram baixos valores TBARS em
337 mortadelas e redução dos valores durante o armazenamento, a mortadela padrão, somente com
338 gordura suína, apresentou valores de 0,22, 0,12 e 0,14 mg MDA/Kg para os dias 0, 30 e 60,
339 respectivamente. Os autores atribuíram a este fato, decomposição do MDA por alguns tipos de
340 microrganismos ou por oxidação do MDA, formando produtos que não reagem com o ácido
341 tiobarbitúrico (GRAU et al., 2001). Pode-se ressaltar que neste estudo não foi adicionado carne
342 mecanicamente separada (CMS) o que contribuiria para a elevação do índice oxidativo da
343 mortadela elaborada com óleos vegetais, portanto os valores de TBARS serão mais baixos
344 comparados com produtos que adicionam CMS na sua formulação.

345 Nota-se que no 28° dia de armazenamento houve uma redução nos valores de TBARS
346 para os tratamentos OPN1, OPN2 e OPN3. Alguns estudos têm demonstrado um aumento nos
347 valores de TBARS até certo ponto durante o período de estocagem, seguido então pela redução
348 desses valores (BABJI et al., 1998). Igene; Pearson (1979) estabeleceram que, durante a

349 avaliação da oxidação lipídica em alimentos estocados, os decréscimos dos valores de TBARS
350 ocorrem provavelmente devido a interações entre o malonaldeído e as proteínas.

351 Observou-se que há efeito da combinação do eritorbato de sódio com o extrato de ora-
352 pro-nobis sobre o processo oxidativo nas mortadelas. Foi possível observar que durante os 70
353 dias de estocagem nenhuma das mortadelas elaboradas alcançou este valor.

354

355 Tabela 3-Valores de pH, TBARS (mgMDA/kg de amostra) e Atividade de água das mortadelas
356 elaboradas com diferentes concentrações de extrato de ora-pro-nóbis e eritorbato de sódio
357 durante 70 dias de armazenamento (4°C).

T	Armazenamento (dias)						Média ou equação	Valor probabilístico			
	0	14	28	42	56	70		T	AR	TxAR	
pH									<0,001	<0,001	0,024
CONTROLE	6,55 ^{ba}	6,50 ^{baB}	6,65 ^{aA}	6,70 ^{aA}	6,65 ^{aA}	6,69 ^{aA}	$\hat{y} = 6,41 + 0,004x - 0,000x^2$ ($r^2 = ,79$)				
OPN1	6,42 ^{cb}	6,45 ^{bcB}	6,47 ^{abC}	6,54 ^{aC}	6,54 ^{aB}	6,48 ^{abC}					
OPN2	6,62 ^{bcA}	6,57 ^{ca}	6,66 ^{abA}	6,73 ^{aA}	6,63 ^{bcA}	6,66 ^{abA}					
OPN3	6,43 ^{bb}	6,44 ^{bb}	6,47 ^{bc}	6,57 ^{abC}	6,44 ^{bc}	6,48 ^{bc}					
OPN4	6,47 ^{cb}	6,37 ^{dc}	6,56 ^{bb}	6,61 ^{ab}	6,52 ^{bb}	6,57 ^{abB}					
Média	6,50	6,47	6,56	6,63	6,56	6,58			CV= 1,48	SEM= 0,01	
Atividade de água (Aa)									0,0091	<0,001	0,137
CONTROLE	0,98	0,98	0,98	0,98	0,97	0,96	0,98 ^{AB}				
OPN1	0,97	0,98	0,98	0,97	0,98	0,97	0,98 ^{AB}				
OPN2	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98 ^A				
OPN3	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98 ^A				
OPN4	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,97	0,98 ^B				
Média	0,98 ^a	0,98 ^a	0,98 ^a	0,98 ^a	0,98 ^a	0,97 ^b	$\hat{y} = 0,97 + 0,0001x - 0,00003x^2$ ($r^2 = 0,88$)				
								CV=0,50	SEM=0,00		
TBARS									<0,001	<0,001	<0,001
CONTROLE	0,455 ^{ca}	0,515 ^{bc}	0,560 ^{bcA}	0,585 ^{ba}	0,715 ^{aA}	0,840 ^{aA}					
OPN1	0,315 ^{bcB}	0,495 ^a	0,435 ^{abAB}	0,330 ^{bcC}	0,260 ^{cC}	0,345 ^{bcD}					
OPN2	0,395 ^{abAB}	0,420 ^{ab}	0,370 ^{bb}	0,445 ^{abBC}	0,380 ^{abBC}	0,500 ^{aC}					
OPN3	0,305 ^{bb}	0,395 ^{ab}	0,400 ^{abb}	0,345 ^{abC}	0,440 ^{aB}	0,405 ^{abCD}	$\hat{y} = 0,47 + 0,001x + 0,000x^2$ ($r^2 = 0,98$)				
OPN4	0,293 ^{db}	0,423 ^c	0,538 ^{ba}	0,489 ^{bcAB}	0,637 ^{aA}	0,660 ^{aB}	$\hat{y} = 0,31 + 0,007x - 0,000x^2$ ($r^2 = 0,91$)				
Média	0,353	0,450	0,461	0,438	0,486	0,550					
								CV=30,03	SEM=0,01		

358 ^aMédias na mesma linha com letras iguais sobrescritas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey
359 ($p < 0,05$).

360 ^AMédias na mesma coluna com letras iguais sobrescritas não diferem significativamente entre si pelo teste de
361 Tukey ($p > 0,05$).

362 $n=3$; CV(%)= coeficiente de variação; EP= erro padrão da média, T=tratamentos; AR=armazenamento

363 $x=$ Armazenamento(dias); $y=$ pH; TBARS; Atividade de água

364 CONTROLE: 0% eritorbato de sódio, 0% extrato de ora-pro-nobis;

365 OPN1: 0,2% eritorbato de sódio, 2,0% extrato de ora-pro-nobis;

366 OPN2: 0% eritorbato de sódio, 2,0% extrato de ora-pro-nobis;

367 OPN3: 0,2% eritorbato de sódio, 0% extrato de ora-pro-nobis;

368 OPN4: 0,1% eritorbato de sódio, 1,0 % extrato de ora-pro-nobis;

369 3.4 Determinação da cor

370 A cor consiste no primeiro parâmetro observado pelos consumidores no ato da compra
 371 de um produto cárneo. Os efeitos das variáveis estudadas (extrato de ora-pro-nobis, eritorbato
 372 de sódio e tempo) e suas interações sobre o parâmetro de cor L^* estão apresentados na Tabela
 373 4. O valor p é uma medida de plausibilidade dos resultados da amostra quando a hipótese nula
 374 é assumida como verdadeira. Quanto menor o valor de p , menos provável que os resultados da
 375 amostra venham de uma população onde a hipótese nula é verdadeira (OLIVEIRA et al., 2006).

376 Tabela 4-Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta de parâmetro de cor L^* ,
 377 com base no planejamento fatorial 2^2 .

	L^*		
	Efeitos	Desvio Padrão	p
Média/Interação	63,765	0,527	<0,001*
(X1) Ora-pro-nobis (%)	-4,868	0,597	<0,001*
(X2) Eritorbato de sódio	3,017	3,311	0,365
(X3) Tempo	0,080	0,020	0,000*
X1xX2	-0,500	1,626	0,759
X1xX3	-0,000	0,007	0,958
X2xX3	-0,004	0,068	0,952

378 * Significância de 95%.

379

380 Para o comportamento do parâmetro cor L^* pode ser observado efeito significativo ($p <$
 381 0,05) de primeira ordem para as variáveis extrato de ora-pro-nóbis e tempo, sendo que a variável
 382 extrato de ora-pro-nóbis influenciou negativamente, enquanto a variável tempo mostrou efeito
 383 positivo na resposta. Desta forma quanto maior tempo de armazenamento e menores
 384 concentrações de extrato de ora-pro-nóbis maiores os valores do parâmetro L^* (luminosidade)
 385 dentro das condições testadas no planejamento.

386 Joseph et al., (2014) também relataram uma diminuição no valor de L^* em produto
 387 cárneo adicionado de compostos de tomate. Observações semelhantes foram registradas

388 também em embutido cárneo suíno armazenado sob refrigeração com a adição de extratos de
 389 folhas de *curry* e hortelã (BISWAS et al., 2012), sendo possível confirmar que extratos vegetais
 390 incorporados em produtos cárneos são capazes de alterar a sua coloração característica (KIM
 391 et., 2013).

392 Na ANOVA, conforme Tabela 5, estão apresentados os valores da resposta do
 393 parâmetro de cor L^* . O valor de F também é calculado para a falta de ajuste para avaliar se o
 394 modelo está ou não bem ajustado, ou seja, valores altos de F significam muita falta de ajuste.

395 Com os coeficientes de regressão obtidos pela ANOVA é possível testar a significância
 396 dos mesmos através da estatística F (*Fischer-Snedecor*). A estatística F determina a relação
 397 significativa entre a variável dependente e o conjunto de variáveis explicativas, testando-se as
 398 hipóteses: H_0 (hipótese nula) se $\beta_1=\beta_2=\dots=\beta_n=0$ (não existe relação linear entre a variável
 399 dependente e o conjunto de variáveis explicativas) e H_1 (hipótese alternativa) se pelo menos
 400 um coeficiente de regressão não é igual a zero, existe relação linear. Os valores críticos de F
 401 são obtidos em tabelas. Se F encontrado for maior que o F crítico, rejeita-se H_0 .

402 O valor de F calculado foi aproximadamente 2,7 vezes maior que o F tabelado (1,79).
 403 O teste-F assegurou a validade do modelo, já que o F calculado (4,78) foi maior que o F tabelado
 404 (1,79), para um intervalo de confiança de 95%. Já o F da falta de ajuste (1,08) foi
 405 aproximadamente 1,65 vezes menor que o F tabelado (1,78).

406 Diante disso, o valor de F calculado para a Falta de ajuste foi menor que o F tabelado,
 407 assim o modelo encontrado para a resposta de parâmetro de cor L^* foi preditivo e significativo,
 408 tornando adequada a sua utilização.

409 Tabela 5- Análise de Variância (ANOVA) para a resposta de parâmetro de cor L^* .

Fonte de variação	Soma Quadrática	GL	Média quadrática	F calculado
Regressão	198,77	34	5,84	4,78
Resíduo	60,09	49	1,22	
Falta de ajuste	28,292	21	1,34	1,08
Erro puro	67,000	54	1,24	
Total	258,86	83	7,06	

410 O índice a^* varia de verde ($-a^*$) a vermelho ($+a^*$), e é a coordenada de cor mais sensível
 411 a caracterização da cor vermelha e na sua estabilidade (Ramos e Gomide, 2007). Os efeitos das
 412 variáveis estudadas (extrato de ora-pro-nóbis, eritorbato de sódio e tempo) e suas interações
 413 sobre o parâmetro de cor a^* estão apresentados na Tabela 6.

414 Para o comportamento do índice a^* pode ser observado efeito significativo ($p < 0,05$)
 415 individual para as variáveis extrato de ora-pro-nóbis e eritorbato de sódio, as variáveis extrato
 416 de ora-pro-nóbis e eritorbato de sódio influenciaram positivamente na resposta. Desta forma,
 417 quanto maiores as concentrações de extrato de ora-pro-nóbis e eritorbato de sódio, maiores os
 418 valores do parâmetro a^* .

419 Tabela 6-Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta de parâmetro de cor a^* ,
 420 com base no planejamento fatorial 2^2 .

	a^*		
	Efeitos	Desvio Padrão	p
Média/Interação	10,891	0,205	<0,001*
(X1) Ora-pro-nobis (%)	1,542	0,232	<0,001*
(X2) Eritorbato de sódio	4,119	1,288	0,002*
(X3) Tempo	-0,016	0,008	0,055
X1xX2	1,708	0,633	0,009*
X1xX3	0,000	0,003	0,923
X2xX3	-0,001	0,026	0,969

421 * Significância de 95%.

422 Também houve efeitos de ordem secundária para ora-pro-nóbis e eritorbato. As
 423 interações entre concentração de extrato de ora-pro-nóbis e eritorbato de sódio aumentaram
 424 significativamente os valores de a^* . Vieira (2012) encontrou resultados contrários ao deste
 425 estudo, onde relata redução nos valores do parâmetro a^* em linguças adicionadas de 2,0 % de
 426 extrato de própolis ao fim de 56 dias de armazenamento. Tal fato foi atribuído a diminuição dos

427 pigmentos heme da carne, que é altamente correlacionada com a redução do valor de a^* . Entre
 428 as variáveis testadas a que apresentou maior influência no parâmetro a^* foi a concentração de
 429 eritorbato de sódio, ou seja, aumentou a intensidade na coloração vermelha.

430 A ANOVA para a resposta do parâmetro de cor a^* estão apresentados na Tabela 7. O
 431 valor de F calculado foi aproximadamente 3,60 vezes maior que o F tabelado (1,79). O teste-F
 432 assegurou a validade do modelo, já que o F calculado (6,48) foi maior que o F tabelado (1,79),
 433 para um intervalo de confiança de 95%. Já o F da falta de ajuste (0,71) foi aproximadamente
 434 2,5 vezes menor que o F tabelado (1,78).

435 O valor de F calculado para a Falta de ajuste foi menor que o F tabelado, assim o modelo
 436 encontrado para a resposta de parâmetro de cor a^* foi preditivo e significativo, tornando
 437 adequada a sua utilização.

438 Tabela 7- Análise de Variância (ANOVA) para a resposta de parâmetro de cor a^* .

Fonte de variação	Soma Quadrática	GL	Média quadrática	F calculado
Regressão	46,28	34	1,36	6,48
Resíduo	10,57	49	0,21	
Falta de ajuste	3,18	21	0,15	0,71
Erro puro	11,23	54	0,21	
Total	56,85	83	1,57	

439

440 As médias obtidas para a variável b^* (onde $-b^*$ representa direção ao azul e $+b^*$ direção
 441 ao amarelo) neste estudo foram de 14,05 a 15,71 (Tabela 8). As mortadelas OPN2, Controle e
 442 OPN4 apresentaram maior ($p < 0,05$) palidez. Este resultado coincide com os valores de
 443 TBARS, pois OPN2, Controle e OPN4 foram as mortadelas que apresentaram maior oxidação
 444 lipídica. Houve efeitos significativo ($p < 0,05$) do antioxidante, do armazenamento e interação
 445 entre ambos sobre a oxidação das mortadelas, seguindo um comportamento quadrático. Viuda-
 446 Martos et al., (2010) sugeriram que alterações na matriz do alimento, como no grau de oxidação,
 447 podem ter influência neste parâmetro de cor.

448 É possível observar que o tratamento OPN3 (0,2 % de eritorbato de sódio e 0% de
 449 extrato de ora-pro-nóbis) apresentou valores de b^* significativamente ($p < 0,05$) menores do que
 450 os OPN2, Controle e OPN4. Deste modo, o tratamento OPN3 apresentou melhor eficiência na
 451 preservação oxidativa não influenciando no aumento do parâmetro b^* . Segundo Zapata *et al.*
 452 (2006) baixos valores de b^* corresponde à menor intensidade de amarelo e constituem-se em
 453 um fator favorável para a aceitação da carne em função de sua coloração.

454 Tabela 8- Valores de parâmetro b^* das mortadelas elaboradas com diferentes concentrações de
 455 extrato de ora-pro-nóbis e eritorbato de sódio durante 70 dias de armazenamento (4 °C).

T	Armazenamento (dias)						Média ou equação	Valor probabilístico		
	0	14	28	42	56	70		T	AR	TxAR
	Parâmetro b^*							<0,001	<0,001	0,024
CONTROLE	15,30 ^{abAB}	15,20 ^{ab}	15,45 ^{aA}	14,75 ^{bAB}	14,75 ^{bA}	15,30 ^{abAB}	$\hat{y} = 15,44 - 0,022x - 0,000x^2$ ($r^2 = 0,79$)			
OPN1	15,40 ^{aAB}	15,20 ^{ab}	14,90 ^{abAB}	15,00 ^{abAB}	14,25 ^{bB}	14,70 ^{bB}				
OPN2	15,75 ^{aA}	15,20 ^{ab}	15,10 ^{abAB}	15,10 ^{abAB}	14,65 ^{bAB}	15,20 ^{abAB}				
OPN3	14,95 ^{aB}	14,75 ^a	14,65 ^{abB}	14,43 ^{abB}	14,05 ^{bB}	14,65 ^{abB}				
OPN4	15,33 ^{aAB}	15,21 ^{ab}	14,87 ^{bAB}	15,25 ^{aA}	15,10 ^{bA}	15,51 ^{aA}				
Média	15,35	15,11	14,99	14,91	14,56	15,07		CV= 2,89	SEM= 0,05	

456 ^aMédias na mesma linha com letras iguais sobrescritas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey
 457 ($p > 0,05$).

458 ^AMédias na mesma coluna com letras iguais sobrescritas não diferem significativamente entre si pelo teste de
 459 Tukey ($p > 0,05$).

460 $n=3$; CV(%)= coeficiente de variação; EP= erro padrão da média, T=tratamentos; AR=armazenamento

461 $x=$ Armazenamento(dias); $y=$ pH; TBARS; Atividade de água

462 CONTROLE: 0% eritorbato de sódio, 0% extrato de ora-pro-nobis;

463 OPN1: 0,2% eritorbato de sódio, 2,0% extrato de ora-pro-nobis;

464 OPN2: 0% eritorbato de sódio, 2,0% extrato de ora-pro-nobis;

465 OPN3: 0,2% eritorbato de sódio, 0% extrato de ora-pro-nobis;

466 OPN4: 0,1% eritorbato de sódio, 1,0 % extrato de ora-pro-nobis;

467 Na Tabela 9 estão expressos os valores de C^* , pode-se observar efeito significativo ($p <$
 468 $0,05$) de primeira ordem para as variáveis extrato de ora-pro-nobis e tempo, sendo que a variável
 469 extrato de ora-pro-nóbis influenciou positivamente, enquanto a variável tempo influenciou
 470 negativamente na resposta. Assim, quanto menor o tempo de armazenamento e maior a
 471 concentração de extrato de ora-pro-nóbis maiores os valores do parâmetro C^* (grau de
 472 saturação).

473 Também houve efeitos de ordem secundária da interação entre a concentração de extrato
 474 de ora-pro-nóbis e eritorbato de sódio que aumentaram significativamente os valores de C^* .

475 Efeitos contrários de diminuição do parâmetro C^* foram encontrados por Schmidt, 2014
 476 em hambúrguer de carne suína, indicando uma diminuição na vivacidade da cor vermelha dos
 477 hambúrgueres, que pode estar relacionada com o aumento da oxidação lipídica.

478 Tabela 9- Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta de parâmetro de cor C^* .

	C^*		
	Efeitos	Desvio Padrão	p
Média/Interação	18,770	0,152	<0,001*
(X1) Ora-pro-nobis (%)	1,420	0,173	<0,001*
(X2) Eritorbato de sódio	0,780	0,957	0,418
(X3) Tempo	-0,025	0,006	<0,001*
X1xX2	1,458	0,470	0,003*
X1xX3	-0,001	0,001	0,409
X2xX3	-0,009	0,020	0,642

479 * Significância de 95%.

480 Na Tabela 10 estão apresentados os valores da ANOVA para a resposta do parâmetro
481 de cor C^* . O valor de F calculado foi aproximadamente 2,6 vezes maior que o F tabelado (1,79).

482 O valor de F calculado para a falta de ajuste foi menor que o F tabelado, desta forma o
483 modelo encontrado para a resposta de parâmetro de cor h^o foi preditivo e significativo, tornando
484 adequada a sua utilização.

485 Tabela 10- Análise de Variância (ANOVA) para a resposta de parâmetro de cor C^* .

Fonte de variação	Soma Quadrática	GL	Média quadrática	F calculado
Regressão	328,61	34	9,66	4,71
Resíduo	100,83	49	2,05	
Falta de ajuste	37,60	21	1,79	0,89
Erro puro	108,03	54	2,00	
Total	429,44	83	11,71	

486 O teste-F assegurou a validade do modelo, já que o F calculado (4,71) foi maior que o
 487 F tabelado (1,79), para um intervalo de confiança de 95%. Já o F da falta de ajuste (0,89) foi
 488 aproximadamente 2,0 vezes menor que o F tabelado (1,78). O valor de F calculado para a Falta
 489 de ajuste foi menor que o F tabelado, desta forma o modelo encontrado para a resposta de
 490 parâmetro de cor C^* foi preditivo e significativo, tornando adequada a sua utilização.

491 O ângulo de tonalidade (h°) é a grandeza associada aos comprimentos de onda do
 492 espectro visível, representando a qualidade da cor (azul, vermelho, amarelo, etc.) e permitindo
 493 diferenciá-la (RAMOS; GOMIDE, 2007).

494

495 Tabela 11-Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta de parâmetro de cor h° .

	h°		
	Efeitos	Desvio Padrão	p
Média/Interação	54,545	0,653	<0,001*
(X1) Ora-pro-nobis (%)	-2,546	0,738	0,001*
(X2) Eritorbato de sódio	-13,815	4,094	0,001*
(X3) Tempo	0,003	0,026	0,894
X1xX2	-3,292	2,011	0,106
X1xX3	-0,005	0,008	0,583
X2xX3	-0,033	0,084	0,699

496 * Significância de 95%.

497 Analisando a Tabela 11, observa-se efeito significativo ($p < 0,05$) de primeira ordem
 498 para as variáveis extrato de ora-pro-nóbis e eritorbato de sódio, as variáveis extrato de ora-pro-
 499 nóbis e eritorbato de sódio influenciaram negativamente na resposta. Logo, quanto menor as
 500 concentrações de extrato de ora-pro-nóbis e eritorbato de sódio maiores os valores do parâmetro
 501 h° .

502 A Tabela 12 apresenta a ANOVA para a resposta de parâmetro de cor h° . O valor de F
 503 calculado foi aproximadamente 4,0 vezes maior que o F tabelado (1,79). O teste-F assegurou a
 504 validade do modelo, já que o F calculado (7,11) foi maior que o F tabelado (1,79), para um
 505 intervalo de confiança de 95%. Já o F da falta de ajuste (1,44) foi aproximadamente 1,24 vezes
 506 menor que o F tabelado (1,78).

507 O valor de F calculado para a falta de ajuste foi menor que o F tabelado, desta forma o
 508 modelo encontrado para a resposta de parâmetro de cor h° foi preditivo e significativo, tornando
 509 adequada a sua utilização.

510 Tabela 12- Análise de Variância (ANOVA) para a resposta de parâmetro de cor h° .

Fonte de variação	Soma Quadrática	GL	Média quadrática	F calculado
Regressão	21,77	34	0,64	7,11
Resíduo	4,90	49	0,09	
Falta de ajuste	2,75	21	0,13	1,44
Erro puro	5,21	54	0,09	
Total	26,67	83	0,73	

511

512 3.5 Análise microbiológica

513 Pelos resultados das análises microbiológicas observou-se que as mortadelas elaboradas
 514 encontravam-se dentro dos padrões microbiológicos vigentes estabelecidos pela Resolução
 515 RDC n. 12, da ANVISA (BRASIL, 2001). Verificou-se ausência de *Salmonella* em 25 g de
 516 amostra e valores menores que $1,0 \times 10$ UFC.g⁻¹ para Coliformes a 35 °C, Coliformes a 45 °C,
 517 *Staphylococcus coagulase* positiva, *Staphylococcus coagulase* negativa e *Clostridium sulfito*
 518 redutores.

519 3.6 Análise sensorial

520 A aceitabilidade das mortadelas foi avaliada aos 22 e 42 dias de armazenamento do
 521 produto (Tabela 13). Os valores médios das notas atribuídas para todos os atributos avaliados
 522 ficaram entre 4 e 5, classificados como "indiferente" e "gostei" na escala hedônica estruturada
 523 de sete pontos.

524 No 22° dia de armazenamento do produto, todos os atributos não apresentaram diferença
525 significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos avaliados, demonstrando a não interferência das
526 concentrações aplicadas de extrato das folhas de ora-pro-nóbis e eritorbato de sódio. Venturini
527 et al. (2011), ao avaliarem atributos sensoriais em linguiça de frango adicionada de extrato de
528 alecrim, também observaram que não houve diferença perceptível pela adição das diferentes
529 concentrações de extrato testadas. Stefanello (2015) relatou que a adição de cogumelo de sol
530 em pó interferiu na concepção dos provadores, sendo que, o tratamento sem pó apresentou nota
531 superior aos outros tratamentos, diferindo dos resultados obtidos neste estudo.

532 No 42° dia de estudo, o atributo odor não diferiu significativamente ($p < 0,05$) entre os
533 tratamentos. Em relação ao atributo sensorial cor, os tratamentos OPN2 (0% de eritorbato e 0,2
534 % de extrato) e Controle (0% de eritorbato e 0% extrato) diferiram estatisticamente dos demais
535 tratamentos, sendo assim os tratamentos que foram adicionados eritorbato de sódio tiveram
536 maiores médias em relação aos tratamentos com adição de extrato de ora-pro-nóbis e sem
537 antioxidante. Observou-se que o extrato das folhas de ora-pro-nóbis interferiu na qualidade da
538 cor das mortadelas, evidenciando um aspecto mais escuro em comparação aos outros
539 tratamentos. O tratamento Controle, também apresentou interferência na cor, fato que pode
540 estar relacionado com a oxidação dos pigmentos durante o armazenamento, tendo em vista que
541 o tratamento não apresenta nenhum antioxidante.

542 Em relação ao atributo sabor no 42° dia de armazenamento, o tratamento Controle,
543 obteve a menor média em relação aos outros tratamentos, demonstrando que a não utilização
544 de antioxidante pode influenciar no sabor característico deste produto por ocorrência de uma
545 possível oxidação.

546 Nos atributos textura e aparência, os tratamentos OPN2 (0% de eritorbato e 2 % de
547 extrato), Controle (0% de eritorbato e 0% extrato) e OPN4 (0,1% de eritorbato e 1% extrato),
548 obtiveram menor média e diferiram estatisticamente ($p < 0,05$) em relação aos demais
549 tratamentos, tais valores corroboram com os encontrados para TBARS neste estudo, uma vez
550 que os tratamentos OPN2, Controle e OPN4 apresentaram maior índices de oxidação lipídica.

551 Tabela 13-Resultados da análise sensorial das mortadelas elaboradas com diferentes
 552 concentrações de extrato de ora-pro-nóbis e eritorbato de sódio, nos dias 22 e 42 de
 553 armazenamento a -4 °C.

T	Armazenamento (dias)		Média	Valor probabilístico T	
	22	42		22	42
	Cor			0,096	<0,001
CONTROLE	5,15	4,28 ^b	4,72		
OPN1	4,83	5,06 ^a	4,95		
OPN2	4,75	4,26 ^b	4,51		
OPN3	5,23	4,92 ^a	5,08		
OPN4	5,05	4,68 ^{ab}	4,87		
Média	5,00	4,64		CV=11,92	EP=0,07
	Odor			0,581	0,173
CONTROLE	5,16	4,78	4,97		
OPN1	4,96	5,02	4,99		
OPN2	4,95	4,56	4,76		
OPN3	5,13	4,88	5,01		
OPN4	5,16	4,86	5,01		
Média	5,07	4,82		CV=10,39	EP=0,05
	Sabor			0,803	0,042
CONTROLE	5,15	4,74 ^b	4,95		
OPN1	5,10	4,94 ^{ab}	5,02		
OPN2	5,26	4,86 ^{ab}	5,06		
OPN3	5,23	5,36 ^a	5,30		
OPN4	5,03	4,80 ^{ab}	4,92		
Média	5,15	4,94		CV=13,10	EP=0,08
	Textura			0,356	<0,000
CONTROLE	4,96	4,46 ^b	4,71		
OPN1	4,91	5,18 ^a	5,05		
OPN2	5,30	4,46 ^b	4,88		
OPN3	5,18	5,26 ^a	5,22		
OPN4	4,96	4,30 ^b	4,63		
Média	5,06	4,73		CV=12,99	EP=0,08
	Aparência			0,657	<0,001
CONTROLE	5,21	4,46 ^b	4,84		
OPN1	4,95	5,16 ^a	5,06		
OPN2	5,03	4,16 ^b	4,60		
OPN3	5,20	5,08 ^a	5,14		
OPN4	5,03	4,04 ^b	4,54		
Média	5,08	4,58		CV=12,82	EP=0,08

554 ^aMédias na mesma linha com letras iguais sobrescritas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey
 555 (p>0,05).

556 ^AMédias na mesma coluna com letras iguais sobrescritas não diferem significativamente entre si pelo teste de
 557 Tukey (p>0,05).

558 n=50; CV(%)= coeficiente de variação; EP= erro padrão da média, T=tratamentos;

559 CONTROLE: 0% eritorbato de sódio, 0% extrato de ora-pro-nobis;

560 OPN1: 0,2% eritorbato de sódio, 2,0% extrato de ora-pro-nobis;

561 OPN2: 0% eritorbato de sódio, 2,0% extrato de ora-pro-nobis;

562 OPN3: 0,2% eritorbato de sódio, 0% extrato de ora-pro-nobis;

563 OPN4: 0,1% eritorbato de sódio, 1,0 % extrato de ora-pro-nobis;

564 4. Conclusão

565 As mortadelas com adição de extrato de ora-pro-nóbis e eritorbato de sódio
566 apresentaram características físico-químicas e microbiológicas dentro dos padrões adequados
567 pela legislação brasileira.

568 Os níveis de TBARS demonstraram que o extrato das folhas de ora-pro-nóbis juntamente
569 com eritorbato de sódio foi eficaz em retardar a oxidação lipídica das mortadelas armazenadas
570 a 4 °C, sendo as mortadelas adicionadas de 0,2% de eritorbato de sódio e 2,0% de
571 extrato(OPN1) as que apresentaram menor oxidação lipídica após os 70 dias de
572 armazenamento.

573 No 42º de análise sensorial, as mortadelas com adição de 2,0% de extrato das folhas de
574 ora-pro-nóbis (OPN2) e sem adição de antioxidantes (CONTROLE) apresentaram menor
575 aceitação sensorial.

576 Portanto, a inclusão de extrato das folhas de ora-pro-nóbis influenciou sobre a
577 estabilidade físico-química, microbiológica e sensorial de mortadelas durante o armazenamento
578 refrigerado a 4 °C.

579 Bibliografia

- 580 APHA (2001) – *Committee on Microbiological for Foods. Compendium of methods for the*
581 *microbiological examination of foods* (4ed). Washington: American Public Health
582 Association.
- 583 AOAC (1995) - *Official methods of analysis of the association of the official analysis*
584 *chemists* (16ed). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- 585 Babji, A. S.; Chin, S. Y.; Chempaka, S.; Alina, A. R. (1998). Quality of mechanically
586 deboned chicken meat frankfurter incorporated with chicken skin. *International*
587 *Journal of Food Sciences and Nutrition*, 49, 5, 319-326.
- 588 Biswas, A. K., Chatli, M.K., Sahoo, J. (2012). Antioxidant potential of curry (*Murraya*
589 *koenigii* L.) and mint (*Mentha spicata*) leaf extracts and their effect on colour and
590 oxidative stability of raw ground pork meat during refrigeration storage. *Food Chemi*
591 *stry*, 133, 2, 467-472.
- 592 Bortoluzzi, R.C. *Aplicação de fibra obtida da polpa da laranja na elaboração de*
593 *mortadela de frango*. 2009. 112f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) -
594 Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. Disponível em:
595 <www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9131/tde-13072009-214817/en.php> Acesso
596 em: 02 jan. 2016.
- 597 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 4
598 de 31 de março de 2000. Institui Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de
599 Carnes Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Linguiça e de Salsicha. Brasília:
600 *Diário Oficial da União*, 2000.
- 601 BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro
602 de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para
603 alimentos. Brasília: *Diário Oficial da União*, 2001.

- 604 BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução
605 Normativa – IN nº 62, de 26 de agosto de 2003. Dispõe sobre Métodos analíticos
606 oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal
607 e água. Brasília: *Diário Oficial da União*, 2003.
- 608 BRASIL. Manual de hortaliças não convencionais. Ministério da Agricultura Pecuária e
609 Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo.
610 Brasília: MAPA/ACS, 2010.
- 611 Buainain, A. M., Batalha, M. O. *Agronegócios: cadeia produtiva de produtos orgânicos*.
612 Brasília: IICA/MAPA/SPA, 2007.
- 613 Conceição, F. V. E., Gonçalves, E. C. B. A. (2009). Qualidade físico-química de mortadelas
614 e carnes moídas e conhecimentos dos consumidores na conservação destes produtos.
615 *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 29, 2, 283-290.
- 616 Dutcosky, S. D. (2007). *Análise sensorial de alimentos* (p.239). Curitiba: Champagnat.
- 617 Fernández-Ginés, J. M., Fernández-López, J., Sayas-Barberá, E., Pérez Alvarez, J. A.
618 (2005). Meat products as functional foods: a review. *Journal of Food Science*, 70, 2,
619 37-43.
- 620 Ferreira, M. F., Silva, A. T., Robbs, P. G., Gaspar, A., Schmelzer-Nagel, W. (2003).
621 Avaliação físico-química de salsichas tipo Viena com substituição de gordura
622 animal por óleo de girassol. *Brazilian Journal of Food Technology*, 6, 1, 1-7.
- 623 Frey, W (1983). *Fabricacion fiable de embutidos* (p.194). Editorial Acriba, Zaragoza, España.
- 624 Grau, A., Guardiola, F., Grimpa, S., Barroeta, A.C., Codony, R. (2001). Oxidative
625 stability of dark chicken meat through frozen storage: influence of dietary fat and
626 -tocopherol and ascorbic acid supplementation. *Poultry Science*, 80, 11, 1630- 1642.
- 627 Hautrive, T.P.; *Elaboração e avaliação de produtos cárneos com adição de ingredientes*
628 *funcionais através de seus efeitos no metabolismo de ratos*. 2014. 181 f. Tese
629 (Doutorado em Ciências e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa
630 Maria, Santa Maria.
- 631 IAL (2008). *Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos* (4ed). São Paulo: Instituto
632 Adolfo Lutz.
- 633 Igene, J. O., Pearson, A. M. (1979). Role of phospholipids and triglycerides in warmed- over
634 flavor development in meat model systems. *Journal of Food Science*, 44,5, 1285-1290.
- 635 Joseph, S., Chatli, M. K., Biswas, A. K., Sahoo, J. (2014). Oxidative stability of pork
636 emulsion containing tomato products and pink guava pulp during refrigerated aerobic
637 storage. *Journal of Food and Science Technology*, 51,11,3208-3216.
- 638 Kim, S. J., Min, S. C., Shin, H. J., Lee, Y. J., Cho, A. R., Kim, S. Y., Han, J. (2013).
639 Evaluation of the antioxidant activities and nutritional properties of ten edible plant
640 extracts and their application to fresh ground beef. *Meat Science*, 93, 715-722.
- 641 Melo Filho, A. B., Biscontini, T. M. B., Andrade, S. A. C. Níveis de nitrito e nitrato em
642 salsichas comercializadas na região metropolitana do Recife. *Ciência e Tecnologia de*
643 *Alimentos*, 24, 390-394.
- 644 Monteiro, C. L. B. (1984) *Técnicas de avaliação sensorial* (2ed). Curitiba: Universidade
645 Federal do Paraná, CEPPA.
- 646 Massingue, A. A. *Uso da carne mecanicamente separada de aves na elaboração de*
647 *mortadelas à base de carne de cordeiros e ovelhas*. 2012. 105f. Dissertação
648 (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras,
649 Lavras, MG, 2012.
- 650 Oliveira, R. F. A.; Pessoa, V. M. N. Índice de bulbo úmido termômetro de globo (IBUTG),
651 vestimenta condutiva e perda de peso de eletricitas do grupo de manutenção de linhas
652 energizadas da companhia energética de Alagoas (CEAL): uma correlação arriscada não
653 amparada pelo Anexo N° 3 da NR-15. In: ENCONTRO NACIONAL DE

- 654 ENGENHARIA DE PRODUÇÃO, 26. 2006. Fortaleza. *Anais...* Fortaleza/CE:
655 ABEPRO, 2006, p.1-9.
- 656 Pereira, M. P. *Aplicação de Antioxidantes Naturais em carne mecanicamente separada (CMS)*
657 *de ave*. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2009, 128 f. (Dissertação,
658 Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos).
- 659 Pinheiro, E. M. *Processamento de carne de ovina adulto*. Santa Maria: Universidade Federal
660 de Santa Maria, 1989, 70 f. (Dissertação, Mestrado em Ciência e Tecnologia de
661 Alimentos).
- 662 Pinheiro, R. S. B., Jorge, A. M., Francisco, C. L. (2008). Composição química e rendimento da
663 carne ovina in natura e assada. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28, 154-157.
- 664 Raharjo, S., Sofos, J. N., Schmidt, G. R. (1992). Improved speed, specificity, and limit of
665 determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C18 method for
666 measuring lipid peroxidation in beef. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40,
667 2182-2185.
- 668 Ramos, E. M., Gomide, L. A. M.; Fontes, P. R.; Ramos, A. L. S., Peternelli, L. A (2005). Meat
669 color evaluation and pigment levels in bullfrog (*Rana catesbeiana*) slaughtered by
670 different methods. *Aquaculture*, 245, 175-182.
- 671 Ramos, E. M., Gomide, L. M. A. *Avaliação da qualidade de carnes: fundamentos e*
672 *metodologias*. Viçosa, MG: UFV, 2007, 599 p.
- 673 Rocha, D.R.C. (2008). Macarrão adicionado de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller)
674 desidratado. *Alimentos e Nutrição*. 19, 459-465.
- 675 Stefanello, F. S.; Cavalheiro, C. P.; Ludtke, F. L.; Silva, M. S.; Fries, L. L. M.; Kubota, E. H.
676 (2015). Efeito da adição de extrato de cogumelo do sol em linguiça suína e avaliação da
677 estabilidade oxidativa e microbiológica do produto. *Semina: Ciências Agrárias*, 36, 171-186.
- 678 Tang, S., Kerry, J. P., Sheehan, D., Buckley, D. J., Morrissey, P. A. (2001). Antioxidative
679 effect of added tea catechins on susceptibility of cooked red meat, poultry and fish
680 patties to lipid oxidation. *Food Research International*, 34, 651-657.
- 681 Terra, N N., Brum, M. A. R. (1988). *Carne e seus derivados: técnicas de controle de qualidade*
682 (p. 119). São Paulo:Nobel..
- 683 Terra, N. N. (1998). *Apontamentos de Tecnologia de Carnes* (p. 226). São Leopoldo: Unisinos,
684 Terra, N.N .(2005) *Apontamento de tecnologia de carnes*. Florianópolis: UFSC.
- 685 Terra, N. N., Milani, L. I. G., Fries, L. L. M., Umu, D., Cirolini, A., Santos, B. A. (2008).
686 Extrato de erva mate (*Ilex paraguariensis*) como antioxidante, em carne de peru
687 submetida a tratamento térmico. *Hig. Aliment*, 22, 189-193.
- 688 Trindade, M. A., Nunes, T. P., Contreras-Castillo, C. J., Felício, P. D. (2008). Estabilidade
689 oxidativa e microbiológica em carne de galinha mecanicamente separada e adicionada
690 de antioxidantes durante período de armazenamento a -18 °C, *Ciência e Tecnologia de*
691 *Alimentos*, 28, 160-168.
- 692 Schmidt, M. M. *Avaliação da atividade antioxidante de extrato de inflorescência de*
693 *bananeira e sua aplicação em hambúrguer de carne suína*. 2014. 77f. Dissertação
694 (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos. Pós-Graduação em Ciência e
695 Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2014.
- 696 Velasco, J. (2005). *Aplicación de antioxidants naturales em productos cárnicos*. Carnetec,
697 Chicago, 12, 35-37.
- 698 Venturini, A. C., Cavenaghi, A. D., Castillo, C. J. C., Quinones, E. M. (2011). Sensory and
699 microbiological evaluation of uncured fresh chicken sausage with reduced fat content.
700 *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 31, 629-634.

- 701 Vieira, V. B. *Obtenção do extrato de própolis assistida por micro-ondas, aplicação em linguiça*
702 *Toscana e avaliação da sua capacidade antioxidante*. 2012. 79f. Dissertação (Mestrado
703 em Ciência e Tecnologia dos Alimentos. Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos
704 Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- 705 Viuda-Martos, M.; Ruiz-Navajas, Y.; Fernández-López, J.; Pérez-Álvarez, J. A. (2010). Effect
706 of orange dietary fibre, oregano essential oil and packaging conditions on *shelf-life* of
707 bologna sausages. *Food Control*, 21, 436-443.
- 708 Martos, V. M., Navajas, R. Y., López, F. J., Álvarez, P. J. A. (2010). Effect of added citrus
709 fibre and spice essential oils on quality characteristics and shelf life of mortadella. *Meat*
710 *Science*, 85, 568-576.
- 711 Wood JD, Richardson RI, Nute GR, et al. (2004) Effects of fatty acids on meat quality: a review.
712 *Meat Science* 66, 21-32.
- 713 Yunes, J. F. F. *Avaliação dos efeitos da adição de óleos vegetais como substitutos de*
714 *gordura animal em mortadela*. 2010. 103f. Dissertação (Mestrado em Ciência e
715 Tecnologia de Alimentos) -Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.
- 716 Yunes, J. F. F., Cavalheiro, C. P., Milani, L. I. G., Scheeren, M. B., Blazquez, F. J. H., Ballus,
717 C. A., Terra, N. N. (2013). Efeito da substituição da gordura suína por óleos vegetais
718 nas características de qualidade, estabilidade oxidativa e microestrutura de mortadela,
719 *Semina: Ciências Agrárias*, 34, 1205-1216.
- 720 Zapata, J.F.F.; Andrade, A.A.; Barreto, S.C.S.; Abreu, V.K.G.; Fuentes, M.F.F.; Freitas, E.R.;
721 Garruti, D.S. (2006). Avaliação Preliminar do Armazenamento em Congelamento sobre
722 a Qualidade da Carne de Peito de Frangos de Dois Tipos Genéticos. *Brazilian Journal*
723 *of Food Technology*, 9, 185-191.

5 CONCLUSÃO

A caracterização química demonstrou que as folhas de ora-pro-nóbis podem ser consideradas importantes fontes de proteínas (15,71g%), fibra alimentar (50,55 g%), cinzas (17,25 g%) cálcio (3.883 mg 100 g), ferro (31,9 mg 100 g), potássio (2.6839 mg 100 g) e magnésio (2.710 mg 100 g). Assim, o extrato obtido por agitação a 95°C utilizando água deionizada como solvente foi o mais eficiente, pois apresentou maior atividade antioxidante, comprovada pelos métodos DPPH, FRAP e Radical ABTS^{•+}, e maior conteúdo de compostos fenólicos totais e flavonoides. Foi verificada uma relação entre o conteúdo de fenólicos, flavonoides totais e a capacidade antioxidante *in vitro*, evidenciando que estes compostos são os principais responsáveis pelo potencial antioxidante dos extratos das folhas de ora-pro-nóbis.

As mortadelas com adição de extrato das folhas de ora-pro-nóbis apresentaram características físico-químicas e microbiológicas dentro dos padrões adequados pela legislação brasileira. O pH variou entre 6,37 a 6,73, observou-se uma tendência de aumento nos valores de pH de todos os tratamentos. Os valores de atividade de água das mortadelas variaram de 0,96 a 0,98, observou-se diferença significativa ($p < 0,05$), entre os tratamentos, somente no dia 70.

Os níveis de TBARS demonstraram que o extrato das folhas de ora-pro-nóbis juntamente com eritorbato de sódio foi eficaz em retardar a oxidação lipídica das mortadelas armazenadas a 4 °C, sendo as mortadelas adicionadas de 0,2% de eritorbato de sódio e 2,0% de extrato(OPN1) as que apresentaram menor oxidação lipídica após os 70 dias de armazenamento. As mortadelas OPN2, Controle e OPN4 apresentaram maior ($p < 0,05$) palidez. Este resultado coincide com os valores de TBARS, pois OPN2, Controle e OPN4 foram as mortadelas que apresentaram maior oxidação lipídica.

No 22° dia de armazenamento do produto, todos os atributos não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos avaliados, demonstrando a não interferência das concentrações aplicadas de extrato das folhas de ora-pro-nóbis e eritorbato de sódio. No 42° de análise sensorial, as mortadelas com adição de 2,0% de extrato das folhas de ora-pro-nóbis (OPN2) e sem adição de antioxidantes (CONTROLE) apresentaram menor aceitação sensorial.

Assim, com base nos resultados obtidos no presente estudo pode-se concluir que o extrato das folhas de ora-pro-nóbis se apresenta como uma fonte alternativa vegetal, com potencial antioxidante a ser aproveitado pela indústria cárnea, pois o extrato das folhas de ora-pro-nóbis foi satisfatório em garantir a vida de prateleira de mortadelas frente a oxidação lipídica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, C de O. **Avaliação físico-química e microbiológica de linguiça toscana porcionada e armazenada em diferentes embalagens, sob condições de estocagem similares às práticas em supermercado.** 2005. 150p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2005.

ALMEIDA, P.L.; NAGHETINI, C. C.; NUNAM, E. A.; JUNQUEIRA, R. G.; GLÓRIA, M. B. A. 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.

ALMEIDA, M. E. F.; CORRÊA, A. D. Utilização de cactáceas do gênero *Pereskia* na alimentação humana em um município de Minas Gerais. **Revista Ciência Rural**, v. 42, n. 4, p. 751-56, 2012.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos - Teoria e Prática**, 3.ed, Minas Gerais: UFV- Universidade Federal de Viçosa, p.478, 2006.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos - Teoria e Prática**. Viçosa: Ed UFV, 2011.

ASOLINI, F. C.; TEDESCO, A. M.; CARPES, S. T. Atividade antioxidante e antibacteriana dos compostos fenólicos dos extratos de plantas usadas como chás. **Brazilian Journal of food technology**. v. 9, n. 3, p. 209- 215, 2006.

BIRCH, A. E.; FENNER, G. P.; WATKINS, R.; BOYD, L. C. Antioxidant properties of evening primrose seed extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n.9, p. 4502-4507, 2001.

BAILEY, A. E. **Bailey's industrial oil and fat products, edible oil and fat products: oils and oilseeds**. New York, v.2, p.403, 1996.

BIANCHIN, M. **Atividade antioxidante de ervas aromáticas e pólen apícola e seus efeitos durante armazenamento de patê de frango**. 2014. 76 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997. Regulamento Técnico de Aditivos Alimentares – definições, classificação e emprego. Brasília: **Diário Oficial da União**, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 4 de 31 de março de 2000 – Anexo IV – Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Mortadela, Linguiça, Salsicha, Almôndega, Hambúrguer e Fiambre. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, publicado em 5 de abril de 2000.

BRASIL. **Manual de hortaliças não convencionais**. Brasília: Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo, 2010.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998.

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

CASAGRANDE, M. **Avaliação do potencial antioxidante de coprodutos de indústrias de sucos de uva e de vinho visando sua aplicação em linguiça de frango**. 2013. 121 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2014.

CENCI, D. F. **Estudo da influência de variáveis do processo emulsificação de mortadela de frango**. 2013. 95f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, RS, 2013.

SHAH, M. A.; SOWRIAPPAN, J. D. B.; SHABIR, A. M. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. **Meat Science**, v.98 p. 21–33, 2014.

CHOE, E.; MIN, D. B. Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.8, p. 345-358, 2009.

CONACHER, H. B. S.; IVERSON, F.; PY, L.; PAGE, B.D. Levels of BHA and BHT in human and animal adipose tissue: interspecies extrapolation. **Food and Chemical Toxicology**, v.24, n.10/11, p. 1159-1162, 1986

CONCEIÇÃO, F. V. E.; GONÇALVES, E. C. B. A. Qualidade físico-química de mortadelas e carnes moídas, e conhecimentos dos consumidores na conservação destes produtos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n.2, p. 283-290, 2009.

DEANS, S. G.; RITCHIE, G. Antibacterial properties of plant essential oils. **International Journal of Food Microbiology**, v. 5, n. 2, p. 165-180, 1987.

DUARTE, M. R.; HAYASHI S. S. Estudo anatômico de folha e caule de *Pereskia aculeata* Mill. (Cactaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, n.2, p.103-109, 2005.

FERNANDÉZ-GINÉS, J. M.; FERNANDÉZ – LOPÉZ, J.; SAYAS-BARBERÁ, E.; PÉRES-ALVAREZ, J. A. Meat products as functional foods: a review. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 2, p. 37-43, 2005.

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. **Fennema's Food chemistry**, 4.ed. Boca Raton: CRC Press, p.1100, 2007.

GEORGANTELIS, D.; AMBROSIADIS, I.; KATIKOU, P.; BLEKAS, G.; GEORGAKIS, S. A. Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4°C. **Meat Science**, v. 76, n. 1, p. 172-181, 2007.

GRONNER, A.; SILVA, V. D.; MALUF, W. R. **Ora-Pro-Nobis (*Pereskia aculeata*) - a carne de pobre**. Boletim Técnico de Hortaliças, 1. ed, n. 37, 1999.

HAYOUNI, E. A.; ABEDRABBA, M.; BOUIX, M.; HAMDI, M. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercuscoccifera* L. and *Juniperusphoenicea* L. fruit extracts. **Food Chemistry**, v. 105, n. 3, p. 1126-1134, 2007.

KAZAMA, C. C.; UCHIDA, D. T.; CANZI, K.N.; SOUZA, P.; CRESTANI, S.; GASPAROTTO, A, Jr.; LAVERDE, A. Jr. Involvement of arginine-vasopressin in the diuretic and hypotensive effects of *Pereskia grandifolia* Haw. (Cactaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 144, n. 1, p. 86-93, 2012.

KINUPP, V.F. Plantas alimentícias alternativas no Brasil: uma fonte complementar de alimento e renda. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.1, n.1, p.333-336, 2006.

KOBA, K.; MATSOUKA, A.; OSADA, K.; HUANG, Y. Effect of loquat (*Eriobotya japonica*) extracts on LDL oxidation. **Food Chemistry**, v. 104, n.1, p.308-316, 2007.

KULISIC, T.; RADONIC, A.; KATALINIC, V.; MILOS, M. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. **Food Chemistry**, v. 85, n. 4, p.633-640, 2004.

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, 2009.

MASSINGUE, A. A. **Uso da carne mecanicamente separada de aves na elaboração de mortadelas à base de carne de cordeiros e ovelhas**. 2012. 105P. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2012.

MATARAGAS, M.; DROSINOS, E. H. Shelf life establishment of a sliced, cooked, cured meat product based on quality and safety determinants. **Journal of Food Protection**, v. 70, n. 8, p. 1881-1889, 2007.

MERCADANTE, A. Z.; CAPITANI, C. D.; DECKER, E. A.; CASTRO, I.A. Effect of natural pigments on the oxidative stability of sausages stored under refrigeration. **Meat Science**, v. 84, n. 4, p. 718-726, 2010.

MILANI, L. I. G.; FRIES, L. L. M.; TERRA, N. N.; KUBOTA, E. H.; QUADROS, C.; TERRA, A. M.; FURTADO, A. S.; SILVA, P. T. Antioxidantes e antimicrobianos naturais para carne mecanicamente separada de frango. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 4, 2001, CAMPINAS. **Anais...Campinas**, p.122, 2001.

NAM, K. C.; AHN, D. U. Use of antioxidants to reduce lipid oxidation and off odor volatiles of irradiated pork homogenates and patties. **Meat Science**, v. 63, n.1, p.1-8, 2003.

OLIVEIRA, D. F.; COELHO, A. R.; BURGARDT, V. C. F.; HASHIMOTO, E. S.; LUNKES, A. M.; MARCHI, J. F.; TONIAL, I. B. Alternativas para um produto cárneo mais saudável: uma revisão. **Brazilian Journal Food Technology**, v.16, n.3, p. 163-174, 2013.

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

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

PINHEIRO, E. M. **Processamento de carne de ovina adulto**. 1989, 70p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 1989.

PATEIRO, M.; LORENZO, J. M.; AMADO, I. R.; FRANCO, D. Effect of addition of green tea, chestnut and grape extract on the shelf-life of pig liver pate. **Food Chemistry**, v. 147, n. 15, p. 386-394, 2014.

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

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

ROCHA, D. R. C. Macarrão adicionado de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata miller*) desidratado. **Alimentos e Nutrição**. v.19, n.4, p. 459-465, 2008.

ROJAS, M. C.; BREWER, M. S. Effects of natural antioxidants on oxidative stability of cooked, refrigerated beef and pork. **Journal of Food Science: Sensory and nutritive qualities of food**, v. 72, n. 4, p. 282-288, 2007.

SELANI, M. M.; CONTRERAS-CASTILLO, C. J.; SHIRAHIQUE, L. D.; GALLO, C. R.; PLATA-OVIEDO, M.; MONTES-VILLANUEVA, N. D. Wine industry residues extracts as natural antioxidants in raw and cooked chicken meat during frozen storage. **Meat Science**, v. 88, n. 3, p. 397-403, 2011.

SERAFINI, L. F.; SCHMIDT, C. A. P.; KARLING, M; VECCHIA, P. D.; SCHLEGER, I. C.; CABRAL, I. S. R.; CARPES, S. T. **Evaluation of antioxidant potential of organic bee pollen heterofloral of *Apis mellífera*: a comparative study between two conditions of extraction**. In: 16TH WORLD CONGRESS OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY - IUFOST E XVII LATIN AMERICAN SEMINAR OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY - ALACCTA, Foz do Iguaçu, PR, 2012.

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

SHELEF, L. A. Antimicrobial effects of spices. **Journal of Food Safety**, v.6, n.1, p. 29-44, 1983.

SHIBAMOTO, T. Analytical methods for trace levels of reactive carbonyl compounds formed in lipid peroxidation systems. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, n. 1, p. 12–25, 2006.

SIGER, A.; CZUBINSKI, J.; KACHLICKI, P.; DWIECKI, K.; LAMPART-SZCZAPA, E.; NOGALA-KALUCKA, M. Antioxidant activity and phenolic content in three lupin species. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 25, n. 2, p.190–197, 2012.

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

TAN, B.; JIANNAN, H.; HUANG, D.; YANG, W.; ZHANG, P.; SHABANOV, N. V.; KNYAZIKHIN, Y.; NEMANI, R. R.; MYNENI, R. B. Assessment of the broadleaf crops leaf area index product from the Terra MODIS instrument. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 135, n.1-4, p. 124-134, 2005.

TANG, S.; KERRY, J. P.; SHEEHAN, D.; BUCKLEY, D. J.; MORRISSEY, P. A. Antioxidative effect of added tea catechins on susceptibility of cooked red meat, poultry and fish patties to lipid oxidation. **Food Research International**, v. 34, n. 8 p. 651-657, 2001.

TERRA, N. N. **Apontamento de tecnologia de carnes**. Florianópolis: UFSC, p.37, 2005.

TERRA, N. N.; MILANI, L. I. G.; FRIES, L. L. M.; URNAU, D.; CIROLINI, A.; SANTOS, B. A. Extrato de erva mate (*Ilex paraguariensis*) como antioxidante, em carne de peru submetida a tratamento térmico. **Higiene Alimentar**, v. 22, n. 166/167, p. 189-193, 2008.

VELASCO, J. Aplicación de antioxidants naturales em productos cárnicos. **Carnetec**, v. 12, n. 1, p. 35-37, 2005.

VERHAGEN, H.; BECKERS, H. H.; COMUTH, P. A.; MAAS, L. M.; HOOR, F.; HENDERSON, P. T.; KLEINJANS, J. C. Disposition of single oral doses of butylated hydroxytoluene in man and rat. **Food Chemical Toxicology**, v.27, n.12, p. 765-772, 1989.

WITSCHI, H. P. Enhanced tumour development by butylated hidroxytoluene (BHT) in the liver, lung and gastro-intestinal tract. **Food Chemical Toxicology**, v. 24, n. 10/11, p.1127-1130, 1986.

APÊNDICES

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Você está sendo convidado (a) para participar, como voluntário, da pesquisa intitulada: **“ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE ORA-PRO-NOBIS (*Pereskia aculeata* Mill.) E SUA APLICAÇÃO EM MORTADELA”** que tem como objetivo elaborar um produto cárneo que apresente as melhores características antimicrobiana e antioxidante; através de extratos com adição de antioxidante natural. Porém não está bem esclarecido na literatura se o produto cárneo elaborado com antioxidante natural possui efeitos benéficos quando comparados com o produto de formulação tradicional, isto justifica a importância do trabalho.

Procedimentos a serem realizados

Serão oferecidas a você amostras de mortadela contendo extrato de ora-pro-nobis. Será solicitado que você as prove, marcando nas fichas a sua resposta com relação às características sensoriais (sabor, odor, etc.) do produto oferecido.

Riscos possíveis e benefícios esperados

Você não é obrigado a participar deste projeto. No caso de recusa você não terá nenhum tipo de prejuízo. A qualquer momento da pesquisa você é livre para retirar-se da mesma.

Os riscos ao ingerir o produto poderão ser de resposta alérgica e desconforto gástrico, em função de algum ingrediente das formulações. Para minimizar tais riscos, serão excluídos da pesquisa sujeitos alérgicos.

Você não receberá benefícios diretos pela participação na pesquisa, mas beneficiará a comunidade científica, as indústrias de alimentos e a sociedade em geral, ao ajudar a construir o conhecimento dos parâmetros sensoriais e de aceitação dos produtos testados.

Confidencialidade

O material coletado e os seus dados serão utilizados somente para esta pesquisa e ficarão guardados na UFSM, Av. Roraima n. 1000, CEP: 97105900- Santa Maria- RS prédio 42, sala 3207 do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, por 5 anos sob a responsabilidade do Prof^o. Ernesto Hashime Kubota e após serão destruídos. Telefone e e-mail do Comitê de Ética em Pesquisa, caso necessite é 3220- 9362, e-mail: cep.ufsm@gmail.com

Os pesquisadores responsáveis pelo estudo são a Prof^o Dr^o. Ernesto Hashime Kubota e Angela Souza Rodrigues, aluna do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFSM. Em qualquer etapa do estudo você terá acesso aos pesquisadores responsáveis pelo estudo para esclarecimento de eventuais dúvidas.

Utilização dos dados obtidos

Os dados obtidos com esta pesquisa serão publicados em revistas científicas reconhecidas. Os seus dados serão analisados em conjunto com os de outros participantes, assim, não aparecerão informações que possam lhe identificar, sendo mantido o sigilo de sua identidade.

Este estudo obteve aprovação junto ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria.

Telefones para contato com os pesquisadores

*Profº. Drº. Ernesto Hashime Kubota – Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos – CCR

E-mail: ernehk2008@yahoo.com.br

Telefone para contato : (55) 3220 8254

*Angela Souza Rodrigues – Mestranda do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – UFSM

E-mail: ange-atinha@hotmail.com

Telefone para contato : (55) 91361723

Acredito ter sido suficientemente informado(a) a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo intitulado “**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE ORA-PRO-NOBIS (*Pereskia aculeata* Mill.) E SUA APLICAÇÃO EM MORTADELA**”. Ficaram claros para mim quais são os objetivos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo.

Nome do participante: _____

Assinatura: _____

Santa Maria ____, de _____ de 2015

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste sujeito de pesquisa ou representante legal para a participação neste estudo.

Santa Maria ____, de _____ de 2015

Pesquisador responsável: _____

APÊNDICE B

FICHA DE ANÁLISE SENSORIAL

Nome: _____ Data: __/__/__

Sexo: () F () M

Idade: () 17 – 30 () 31 – 50 () +51

Você está recendo uma amostra de mortadela, por favor, prove-a e assinale, através da escala, o quanto gostou ou desgostou dos seguintes atributos do produto:

Amostra: _____

ESCALA	ATRIBUTOS				
	COR	ODOR	SABOR	TEXTURA	APARÊNCIA
GOSTEI MUITÍSSIMO					
GOSTEI MUITO					
GOSTEI					
INDIFERENTE					
DESGOSTEI					
DESGOSTEI MUITO					
DESGOSTEI MUITÍSSIMO					

Observações: _____

Obrigada!