

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

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E
ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DE CAQUI
(*Diospyros kaky* L.) PARA PROTEÇÃO DE
PRODUTOS CÁRNEOS**

TESE DE DOUTORADO

Liana Inês Guidolin Milani

Santa Maria, RS, Brasil

2012

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E
ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DE CAQUI (*Diospyros kaky*
L.) PARA PROTEÇÃO DE PRODUTOS CÁRNEOS**

Liana Inês Guidolin Milani

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Área de concentração em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Nelcindo Nascimento Terra

Santa Maria, RS, Brasil

2012

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

Milani, Liana Inês Guidolin
Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante de extratos de caqui (*Diospyros kaky* L.) para proteção de produtos cárneos. / Liana Inês Guidolin Milani.-2012.
169 p.; 30cm

Orientador: Nelcindo Nascimento Terra
Coorientadora: Leadir Lucy Martins Fries
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, RS, 2012

1. Extratos Naturais 2. Antioxidante natural 3. *Diospyros kaky* L. 4. Produtos cárneos I. Terra, Nelcindo Nascimento II. Fries, Leadir Lucy Martins III. Título.

**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 tese de Doutorado

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE
DE EXTRATOS DE CAQUI (*Diospyros kaky* L.) PARA PROTEÇÃO
DE PRODUTOS CÁRNEOS**

elaborada por
Liana Inês Guidolin Milani

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

COMISSÃO EXAMINADORA:

Nelcindo Nascimento Terra, Dr.
(Presidente/Orientador)

Rogério Manoel Lemes de Campos, Dr. (UNIVASF)

Maristela Cortez Sawitzki, Dra. (UNIPAMPA)

Ernesto Hashime Kubota, Dr. (UFSM)

Cristiano Ragagnin de Menezes, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 21 de setembro de 2012.

*Dedico este trabalho aos meus filhos Lucas e Lorenzo
pelo carinho, amor e por serem motivo
de grande alegria em minha vida.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus por ter me dado coragem para enfrentar este desafio e por iluminar meus passos nesta caminhada.

Ao meu orientador Prof^o. Dr. Nelcindo Nascimento Terra pela oportunidade oferecida, pelo incentivo e apoio em todos os momentos, pelos ensinamentos transmitidos e por sempre acreditar em mim.

Aos meus pais Adelmo Lucca Guidolin e Carmem Maria Guidolin (*in memoriam*) que muito se esforçaram para contribuir com o meu desenvolvimento e educação, pelo amor e confiança incondicionais.

A meu esposo Flademir Milani pelo apoio emocional, por toda dedicação e compreensão nos momentos tomados durante a realização deste trabalho, por estar sempre ao meu lado me incentivando e ajudando a enfrentar as dificuldades.

Aos meus filhos Lucas e Lorenzo que em muitos momentos foram privados da minha presença, mas que sempre me transmitiram muita alegria, carinho e amor.

A Prof^a. PhD. Leadir Lucy Martins Fries pelas palavras amigas nos momentos difíceis e pelos ensinamentos transmitidos durante a realização do curso.

Aos professores participantes da banca examinadora pelas sugestões e correções fundamentais para esse trabalho.

A Ana Paula de Souza Rezer agradeço pela amizade, pelo companheirismo, pelo incentivo e ajuda nos momentos em que precisei durante a realização deste trabalho.

A Angela Maria Backes agradeço pela amizade, pelo convívio durante o período de realização do curso, pelo apoio e colaboração na realização de algumas etapas deste trabalho.

A Marialene Manfio e Moisés Alves Dias pela disponibilidade e auxílio prestado no Laboratório de Física química sempre que precisei.

A Lia Cidade por todo auxílio prestado e por ter se mostrado sempre disposta a ajudar, lembrando as datas e compromissos importantes.

A minha querida colega e amiga Mari Silvia Rodrigues de Oliveira pela convivência, pela amizade demonstrada ao longo desses anos e principalmente pelas palavras amigas nos momentos em que necessitei.

Aos demais colegas do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo convívio durante o período de realização do curso.

Aos bolsistas e estagiários do Laboratório de Microbiologia de Alimentos pela valiosa colaboração.

A chefia do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Prof.^o Ernesto Hashime Kubota e Prof.^a Luiza Helena Hecktheuer pelo apoio durante a realização do curso.

Aos professores do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos e do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pelos conhecimentos transmitidos, colaboração e amizade.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Tese de Doutorado
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos
Universidade Federal de Santa Maria

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DE CAQUI (*Diospyros kaky L.*) PARA PROTEÇÃO DE PRODUTOS CÁRNEOS

AUTORA: Liana Inês Guidolin Milani

ORIENTADOR: Nelcindo Nascimento Terra

CO-ORIENTADORA: Leadir Lucy Martins Fries

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 21 de setembro de 2012.

As alterações microbianas e oxidativas indesejáveis que podem ocorrer na carne ou nos produtos cárneos causam perda de qualidade e conseqüente desvalorização comercial. O consumo de produtos cárneos tem causado preocupação nos consumidores pela presença de conservantes sintéticos, os quais são questionados freqüentemente devido aos riscos de apresentarem efeitos colaterais maléficis à saúde. Com o intuito de controlar as referidas alterações, pesquisas têm sido desenvolvidas, com o propósito de estudar fitoquímicos naturais, obtidos de diversos substratos vegetais, os quais além de terem a preferência dos consumidores, também possuem a capacidade de atuarem como auxiliares na prevenção de doenças. Aos compostos fenólicos tem sido atribuída atividade antimicrobiana e antioxidante, e considerando tal capacidade foi utilizado neste estudo o caqui (*Diospyros kaky L.*) que é rico em polifenóis. Inicialmente foi comparada a atividade antioxidante dos extratos hidroetanólicos de *Diospyros kaki L.* das cultivares Quioto e Rama Forte em carne de frango e verificado o efeito dos mesmos sobre a cor e as características sensoriais das amostras. O extrato hidroetanólico bruto de caqui da cultivar Rama Forte, que apresentou maior teor de compostos fenólicos, maior atividade antioxidante e que não interferiu nas características sensoriais da carne de frango foi empregado nos testes posteriores. O extrato hidroetanólico de caqui da cultivar Rama Forte foi fracionado usando solventes com diferentes polaridades (n-hexano, clorofórmio e acetato de etila) e submetido juntamente com as frações hexânica, clorofórmica, de acetato de etila e a fração residual a determinação de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante e antimicrobiana *in vitro*. Também foi verificada a atividade antioxidante dos mesmos em carne bovina e comparada com a atividade do extrato oleoso de alecrim (Chr. Hansen®). O extrato e/ou frações mais eficientes foram avaliados quanto a atividade antioxidante e antimicrobiana, bem como quanto a influencia sobre as características sensoriais e a cor de produtos cárneos (hambúrguer e salame). Com base nos resultados obtidos pode-se verificar que o extrato hidroetanólico bruto de caqui da cultivar Rama Forte, bem como as frações residual e a de acetato de etila apresentaram atividade antioxidante na carne bovina durante o período de armazenamento, mas não apresentaram atividade antimicrobiana. Nas amostras de salame, o extrato hidroetanólico bruto de caqui da cultivar Rama Forte também apresentou atividade antioxidante e não alterou as características sensoriais nem as contagens microbianas realizadas após o período de processamento do salame. Já no hambúrguer congelado o extrato hidroetanólico bruto de caqui da cultivar Rama Forte e as frações residual e de acetato de etila, quando utilizados nas concentrações de 0,5 e 0,7%, não demonstraram potencial antioxidante e antimicrobiano, e não interferiram nas características sensoriais das amostras, enquanto que a fração acetato de etila (0,5 e 0,7%) contribuiu na retenção e estabilidade da cor vermelha das amostras de hambúrguer de carne bovina durante o período de armazenamento do produto congelado. Desta forma, com base nos resultados obtidos parece adequado supor que o extrato hidroetanólico bruto de caqui da cultivar Rama Forte e as frações residual e de acetato de etila apresentam potencial antioxidante, mas estudos mais aprofundados devem ser realizados principalmente no que se refere a atividade antioxidante em produtos cárneos congelados.

Palavras-chave: Compostos fenólicos. Extratos naturais. Caqui. *Diospyros kaky L.*. Hambúrguer. Salame.

ABSTRACT

Tese de Doutorado
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos
Universidade Federal de Santa Maria

EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF EXTRACTS OF PERSIMMON (*DIOSPYROS KAKYL.*) FOR THE PROTECTION OF MEAT PRODUCTS

AUTHOR:: Liana Inês Guidolin Milani
ADVISER: Nelcindo Nascimento Terra
CO-ADVISER: Leadir Lucy Martins Fries

Place and Date of Defense: Santa Maria, September 21th, 2012.

Microbial and oxidative changes occurring in meat and meat products cause loss of quality and consequent commercial devaluation. The consumption of meat products has caused concern among consumers by the presence of chemical preservatives, which are often questioned because of the risk of harmful side effects to health. In an attempt to control microbial and oxidative changes, researches have been performed with the purpose of isolating natural phytochemicals obtained from various plant substrates, which besides having the preference of the consumers, also have the ability to act helping in the prevention of diseases. Antioxidant and antimicrobial activities have been attributed to the phenolic compounds; persimmon (*Diospyros kaki L.*) was used in this study since it is rich in polyphenols. Initially, we compared the antioxidant activity of hydroethanolic extracts of *Diospyros kaki, L.* of the cultivars 'Quioto' and 'Rama Forte' in chicken meat. The effect of these cultivars on the color and sensory characteristics of the samples was also verified. The crude hydroethanolic extract of persimmon cv. 'Rama Forte' was used in subsequent tests since it showed a higher content of phenolic compounds, higher antioxidant activity, and it did not affect the sensory characteristics of chicken meat. The hydroethanolic extract of persimmon cv. 'Rama Forte' was fractionated using solvents with different polarities (n-hexane, chloroform, and ethyl acetate) and subjected along with the hexane, chloroform, and ethyl acetate fractions and the residual fraction to the determination of total phenolic compounds as well as antimicrobial and antioxidant activity *in vitro*. The antioxidant activity in beef was verified and compared with the activity of the oily extract of rosemary (Chr. Hansen ®). The extract and/or the most efficient fractions were evaluated for antioxidant and antimicrobial activity as well as for the influence on the sensory characteristics and color of meat products (beef burgers and salami). Based on the results obtained, the crude hydroethanolic extract of persimmon cv. 'Rama Forte' and the residual and ethyl acetate fractions showed antioxidant activity in beef during the storage period, however, no antimicrobial activity was observed. In the salami samples, the crude hydroethanolic extract of persimmon cv. 'Rama Forte' also showed antioxidant activity and did not alter the sensory characteristics or microbial counts performed after the manufacturing period of the salami. In the frozen beef burgers, crude hydroethanolic extract of persimmon cv. 'Rama Forte' and residual and ethyl acetate fractions, when used in the concentrations of 0.5 and 0.7%, did not show antioxidant potential or antimicrobial characteristics. Moreover, they did not interfere in the sensory samples. However, the ethyl acetate fraction (0.5 and 0.7%) contributed to the retention and stability of the red color of the samples of beef burgers during the storage of the frozen product. Thus, based on the results obtained, it seems appropriate to assume that the crude hydroethanolic extract of persimmon cv. 'Rama Forte' as well as residual and ethyl acetate fractions have antioxidant potential. Further studies should be performed mainly in relation to the antioxidant activity in frozen meat products.

Keywords: Phenolic compounds. Natural extracts. Persimmon. *Diospyros Kaky L.*. Burger Beef. Salami.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Artigo 1

FIGURA 1 - Inibição da oxidação lipídica nas amostras de carne de frango adicionadas dos extratos hidroetanólicos durante 14 dias de armazenamento a 4 °C (± 1 °C). 52

Artigo 2

FIGURA 1 - Atividade antioxidante do extrato hidroetanólico bruto de caqui, de suas frações e do extrato oleoso de alecrim pelo método de capacidade de seqüestro do radical DPPH. 61

FIGURA 2 - Placa de Petri com halo de inibição do crescimento microbiano frente ao disco impregnado com cloranfenicol 30 μ g (C+), discos com o extrato em 3 repetições (R) e disco com água destilada (controle negativo, C-). 62

Artigo 3

FIGURA 1 - Inibição da oxidação lipídica em amostras de carne bovina tratadas termicamente e adicionadas do extrato hidro etanólico de caqui cv. Rama Forte, de suas frações e do extrato oleoso de alecrim durante o período de armazenamento a 5 °C (± 1 °C). 89

FIGURA 2 - Valores médios da contagem de microrganismos aeróbios mesófilos das amostras de carne bovina controle e das submetidas aos diferentes tratamentos no zero e 20^o dia de armazenamento a 5 °C. 90

Artigo 4

FIGURA 1 - Valores médios de TBARS das amostras de salames controle e das adicionadas do extrato hidro etanólico bruto de caqui cv. Rama Forte e do extrato oleoso de alecrim durante o período de armazenamento. 116

LISTA DE TABELAS

Artigo 1

TABELA 1 - Quantidade de compostos fenólicos totais nos extratos hidroetanólicos de caqui cv. Quioto, cv. Rama Forte e erva-mate.	52
TABELA 2 - Valores médios do índice de TBARS das amostras de carne de frango controle e das adicionadas dos extratos hidroetanólicos durante o período de armazenamento a 4 °C (± 1 °C).	53
TABELA 3 - Médias das notas da análise sensorial (cor, aroma, sabor e textura) das amostras de carne de frango moída pertencentes ao grupo controle e aos grupos submetidos aos diferentes tratamentos, após 4 dias de armazenamento em congelamento a -18 °C.	54
TABELA 4 - Médias dos parâmetros L*, a* e b*, entre as amostras de carne de frango controle e as adicionadas dos extratos hidroetanólicos durante o período de armazenamento a 4 °C (± 1 °C).	55

Artigo 2

TABELA 1 - Quantidade de compostos fenólicos totais e valores de IC ₅₀ do extrato hidroetanólico bruto de caqui, das frações e do extrato oleoso de alecrim.	61
--	----

Artigo 3

TABELA 1 - Valores médios de TBARS das amostras de carne bovina controle e das adicionadas dos diferentes extratos durante o período de armazenamento a 5 °C (± 1 °C)	87
TABELA 2 - Médias dos parâmetros L*, a* e b*, das amostras de carne bovina controle e das adicionadas do extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte, de suas frações e do extrato oleoso de alecrim durante o período de armazenamento a 5 °C (± 1 °C).	88

Artigo 4

TABELA 1 - Quantidade de compostos fenólicos totais do extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte e do extrato oleoso de alecrim.	112
TABELA 2 - Valores médios da contagem de bactérias lácticas, <i>Staphylococcus</i> coagulase negativa e positiva, coliformes a 35 °C e 45 °C; e pesquisa de <i>Salmonella</i> sp. das amostras de salame controle e das adicionadas do extrato hidroetanólico de caqui cv. Rama Forte e do extrato oleoso de alecrim durante o período de fabricação.	113
TABELA 3 - Valores médios da atividade de água, pH, perda de peso e TBARS das amostras de salame controle, das adicionadas do extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte e do extrato oleoso de alecrim durante o período de fabricação.	114
TABELA 4 - Médias dos parâmetros L*, a* e b*, das amostras de salame controle e das adicionadas do extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte e do extrato oleoso de alecrim durante o período de fabricação. .	115
TABELA 5 - Valores médios das notas de aceitação sensorial para cor, aroma, sabor e textura dos salames controle e dos adicionados do extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte e do extrato oleoso de alecrim .	116

Artigo 5

TABELA 1 - Valores médios da pontuação dos provadores para os atributos de cor, aroma, sabor e textura dos hambúrgueres padrão, controle e adicionados dos extratos em teste.	123
TABELA 2 - Valores médios para a luminosidade (L^*), cor vermelha (a^*), cor amarela (b^*) e tonalidade cromática (h^*) na superfície dos hambúrgueres padrão, controle e adicionados dos extratos em teste durante o período de armazenamento de 14 meses a $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$).	124

Artigo 6

TABELA 1 - Valores médios da contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva, <i>Clostridium</i> sulfito redutores a $46\text{ }^{\circ}\text{C}$, coliformes totais, coliformes termotolerantes e pesquisa de <i>Salmonella</i> sp., das amostras de hambúrguer submetidas aos diferentes tratamentos logo após a sua elaboração.	138
TABELA 2 - Valores médios da contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e psicotróficos das amostras de hambúrguer controle e das submetidas aos diferentes tratamentos durante o período de armazenamento a $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$	139
TABELA 3 - Valores médios do teor de umidade, cinzas, proteínas e lipídeos da massa cárnea pronta para a elaboração dos hambúrgueres controle, padrão e dos diferentes tratamentos.	140
TABELA 4 - Valores médios de TBARS e pH das amostras de hambúrguer controle e das submetidas aos diferentes tratamentos durante o período de armazenamento a $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$	141

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	25
2 OBJETIVOS	27
2.1 Objetivo geral	27
2.2 Objetivos específicos	27
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	29
3.1 Microbiologia da carne e produtos cárneos	29
3.2 Oxidação lipídica	30
3.3 Antioxidantes	33
3.4 Extratos vegetais	34
3.5 Extratos vegetais como antioxidantes e antimicrobianos	36
4 ARTIGOS CIENTÍFICOS	47
4.1 Artigo 1 - Oxidação lipídica, características sensoriais e cor da carne de frango adicionada de extratos de caqui (<i>Diospyros kaki, L.</i>) e submetida a tratamento térmico.	47
Resumo	48
Abstract	49
Introdução	50
Material e Métodos	50
Resultados e Discussão	51
Conclusão	55
Referências Bibliográficas	55
4.2 Artigo 2 - Atividade antioxidante e antimicrobiana <i>in vitro</i> de extratos de caqui (<i>Diospyros kaki L.</i>) cv. Rama Forte	57
Resumo	58
Abstract	58
Introdução	59
Material e Métodos	59
Resultados e Discussão	60
Conclusão	62
Referências Bibliográficas	63
4.3 Artigo 3 - Efeito dos extratos de caqui (<i>Diospyros kaki L.</i>) cv. Rama Forte na oxidação lipídica, crescimento microbiano e na cor da carne bovina tratada termicamente.	65
Resumo	66
Abstract	66
Introdução	67
Material e Métodos	69
Resultados e Discussão	72
Conclusão	80
Referências Bibliográficas	81
4.4 Artigo 4 - Aplicação de extrato de caqui (<i>Diospyros kaki L.</i>) cv. Rama Forte em salame tipo Italiano.	91
Resumo	92
Abstract	92
Introdução	93
Material e Métodos	95

Resultados e Discussão	99
Conclusão	106
Referências Bibliográficas	106
4.5 Artigo 5 - Efeito de extratos de caqui (<i>Diospyros kaki</i> L.) cultivar Rama Forte e do extrato oleoso de alecrim (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.) nas características sensoriais e na estabilidade da cor de hambúrguer de carne bovina congelado.	117
Resumo	118
Abstract	119
Referências	126
4.6 Artigo 6 - Antioxidante natural de caqui (<i>Diospyros kaki</i> L.) para a conservação de hambúrguer de carne bovina.....	127
Resumo	127
Abstract	128
Introdução	128
Material e Métodos	129
Resultados e Discussão	131
Conclusão	134
Referências Bibliográficas	134
5 DISCUSSÃO.....	143
6 CONCLUSÕES	157
REFERÊNCIAS.....	159

1 INTRODUÇÃO

A carne ou produtos cárneos, devido ao seu conteúdo de umidade e demais nutrientes, são alimentos bastante susceptíveis a alterações de ordem físico-química e microbiológica (ARAUJO, 2008). A deterioração de alimentos por origem microbiana é um problema constante nas indústrias alimentícias e neste sentido tem sido uma das preocupações, considerando-se causas de perdas dos alimentos, diminuição da produtividade e de danos à saúde humana (ALMEIDA et al., 2008).

Os produtos da oxidação lipídica, também são indesejáveis, não somente pela redução do tempo de vida-útil e alterações sensoriais dos alimentos cárneos, mas também, pela destruição de constituintes essenciais deste alimento, como os ácidos graxos, ocasionando decréscimo do valor nutricional e formação de compostos tóxicos para a saúde humana (KARPINSKA; BOROWSKI; OZIEWICZ, 2001; MELO; GUERRA, 2002)

Com o intuito de conservar e aumentar o prazo de validade dos produtos cárneos são utilizados aditivos químicos sintéticos. No entanto, os consumidores tendem a evitar produtos que apresentem em sua composição conservantes de origem sintética. Desta forma, existe uma tendência cada vez maior de utilizar aditivos naturais (ALMEIDA et al., 2008) e se faz necessário estudar novos agentes que permitam a substituição racional dos conservantes sintéticos comumente utilizados e possibilitar sua inserção nos sistemas de conservação de alimentos.

Alguns produtos conhecidos como fitoquímicos, extraídos de diferentes vegetais, tem demonstrado potencial para preservação de alimentos, os quais têm comprovado propriedades antimicrobianas e antioxidantes (HSIEH; MAU; HUANG, 2001; WONG; KITTS, 2006; ALMEIDA et al., 2008). Alguns estudos têm avaliado o efeito de extratos vegetais contra alterações microbianas e oxidativas em produtos cárneos (MILANI et al., 2001; TERRA et al., 2008; XI et al., 2012), sendo que a importância dos compostos fenólicos nesta atividade é destacada (WONG; KITTS, 2006; ASOLINI ; TEDESCO; CARPES, 2006).

Neste contexto, o caqui (*Diospyros kaky L.*) contém alto teor de polifenóis, entre estes os taninos que apresentam atividade antimicrobiana e antioxidante (SCALBERT, 1991; GU et al., 2008). Katsube et al. (2004) estudaram a atividade antioxidante do extrato etanólico de 52 plantas comestíveis, através da capacidade

de seqüestro de radicais DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e do teste de oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL), sendo que o caqui adstringente (*Diospyros kaki* L.) estava entre as quatro plantas que apresentaram maior atividade, enquanto que o caqui não adstringente mostrou pequena atividade antioxidante. Os autores também verificaram que as amostras com maior teor de compostos fenólicos apresentaram tendência a ter alta atividade seqüestradora de radical DPPH e alta atividade antioxidante no ensaio de oxidação da LDL. Em geral tem sido verificado que frutos de cultivares de caquis adstringentes possuem maior teor de compostos fenólicos que as cultivares não adstringentes (SUZUKI et al., 2005; GIORDANI et al., 2011).

Considerando o exposto este trabalho teve por objetivo quantificar os compostos fenólicos totais nos extratos hidro etanólicos de caqui da cultivar Quioto (não adstringente) e Rama Forte (adstringente), assim como comparar a atividade antioxidante destes extratos em carne de frango e verificar o efeito na cor e nas características sensoriais da mesma. O extrato de caqui da cultivar que demonstrou melhor atividade antioxidante foi empregado em testes posteriores. Caracterizou-se o efeito antimicrobiano e antioxidante *in vitro* e em produtos cárneos do extrato hidroetanólico bruto de caqui da cultivar selecionada e também das frações de compostos obtidos do referido extrato através do fracionamento com solventes de diferentes polaridades. O fracionamento do extrato hidroetanólico bruto visou isolar os princípios ativos potencializando sua ação e minimizando a interferência sobre as características sensoriais dos produtos cárneos.

Pretendeu-se determinar o extrato e/ou as frações com maior capacidade antimicrobiana e antioxidante *in vitro* e em carne, bem como verificar sua atividade antimicrobiana e antioxidante em produtos cárneos como salame e hambúrguer. Também determinar a possível interferência nas características sensoriais dos produtos cárneos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Obter extratos naturais a partir de frutos de *Diospyros kaki* L. para adição em produtos cárneos, avaliando sua atividade antioxidante e antimicrobiana; bem como a aceitação sensorial nos produtos cárneos elaborados.

2.2 Objetivos específicos

- Elaborar extratos hidroetanólicos brutos de caqui da cultivar (cv.) Quioto e Rama Forte e determinar o teor de compostos fenólicos totais;

- Verificar o efeito da adição de extratos hidroetanólicos brutos de caqui da cultivar Quioto e Rama Forte em carne de frango submetida à moagem, adicionada de NaCl e tratada termicamente, e comparar com o extrato hidroetanólico de *Ilex paraguariensis* L. (erva mate);

- Selecionar entre as cultivares de caquis estudados a que apresentar maior atividade antioxidante e menor interferência sobre a cor e as características sensoriais da carne de frango;

- Elaborar extrato hidroetanólico bruto a partir de frutos da cultivar de caqui selecionada e fracioná-lo através do emprego de solventes de polaridade crescente;

- Determinar a concentração de compostos fenólicos totais dos extratos hidroetanólicos brutos e das frações obtidas;

- Avaliar a atividade antimicrobiana e antioxidante *in vitro* do extrato hidroetanólico bruto de caqui da cultivar selecionada e de suas frações;

- Avaliar a atividade antioxidante e antimicrobiana do extrato hidroetanólico bruto de caqui da cultivar selecionada e de suas respectivas frações em carne bovina;

- Selecionar o extrato hidroetanólico bruto e/ou as frações do extrato que apresentaram boa atividade antioxidante e/ou antimicrobiana *in vitro* e na carne bovina para comprovar sua ação em produtos cárneos como salame e hambúrguer;

- Avaliar a aceitação das formulações dos produtos cárneos adicionados de extratos através de análise sensorial.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Microbiologia da carne e produtos cárneos

As carnes são produtos altamente perecíveis com atividade de água suficiente para o crescimento da maioria dos microrganismos. Como a carne é altamente protéica, ela é relativamente tamponada e permite o crescimento dos microrganismos (FORSYTHE, 2002).

A vida útil da carne refrigerada em aerobiose é considerada curta, não mais que uma ou duas semanas, e depende fundamentalmente da taxa bacteriana inicial e da influencia de diversos fatores como a temperatura de armazenamento, o pH, a tensão de oxigênio e o potencial redox. Sua alteração se deve principalmente as bactérias psicrotróficas que são aquelas bactérias cuja temperatura ótima de crescimento situa-se em torno de 20 a 23 °C, mas podem proliferar sem grandes dificuldades em temperaturas de refrigeração. São muitos os tipos de microrganismos psicrotróficos detectados na carne refrigerada; entre os mais freqüentes vale mencionar espécies dos gêneros: *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Brochothyrix*, *Lactobacillus*, *Enterobacter*, *Hafnia* e *Alteromonas*. Contudo também foram encontradas, embora com menos freqüência, espécies dos gêneros *Yersinia*, *Campylobacter*, *Alcaligenes*, *Vibrio*, *Aeromonas* e *Arthrobacter*. Em meio a essa diversidade, as bactérias aeróbias gram negativas são as que adquirem maior importância com destaque de diversas espécies do gênero *Pseudomonas* que são normalmente as responsáveis pela alteração da carne refrigerada. Em algumas ocasiões (carnes com pH elevado), participam da alteração de forma regular, junto com as *Pseudomonas*, outras bactérias, entre as quais se destaca a *Shewanella putrefaciens*, em função deste microrganismo ser muito sensível ao decréscimo do pH e só se proliferar quando esse parâmetro está próximo a 6 (ORDÓÑEZ et al., 2005). Também poderão ser encontrados alguns bolores e leveduras em carne bovina e de aves. As leveduras mais encontradas em carnes bovinas e aves fazem parte dos gêneros *Candida* e *Rhodotorula* (JAY, 2005).

Na carne moída ou na carne bovina de hambúrguer são evidenciadas, predominantemente, as bactérias deteriorantes aeróbias Gram-negativas como

Pseudomonas, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Moraxella* e *Aeromonas*, que crescem na superfície desses alimentos e, ocasionalmente, as anaeróbias Gram-positivas como *Lactobacillus*, que se desenvolvem no interior (FORSYTHE, 2002; JAY, 2005).

As bactérias *Pseudomonas* e outras aeróbias Gram-negativas normalmente deterioram os produtos cárneos durante a estocagem a frio em aerobiose. As bactérias ácido-láticas causam deteriorações típicas em carnes estocadas em embalagens com atmosfera modificada ou embalagens à vácuo (FORSYTHE, 2002).

Por ser um produto nutritivo, a carne pode ser deteriorada rapidamente pelo crescimento de microrganismos e até ser prejudicial à saúde devido à contaminação de patógenos. Caso microrganismos como as *Pseudomonas spp.*, *Brochothrix thermosphacta* e bactérias ácido-láticas cresçam na carne, esta se tornará deteriorada e inadequada para o consumo. No entanto, é a presença e/ou o desenvolvimento de patógenos causadores de toxinfecções alimentares tais como *Salmonella*, linhagens de *Escherichia coli* produtoras de toxinas, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum* e *Staphylococcus aureus* produtores de toxinas, que tornam os produtos cárneos e de aves preocupantes (FORSYTHE, 2002; AHN; GRÜN; MUSTAPHA, 2007).

Em geral, produtos cárneos fermentados têm uma longa história de segurança alimentar no mundo. Isso não significa que eles nunca tenham sido responsáveis por surtos alimentares, mas quando estes acontecem, são casos esporádicos (JAY, 2005). Muitos surtos alimentares ocorreram nos EUA nos anos de 1990, envolvendo produtos de carne fermentada. Como consequência, o USDA ordenou uma redução de 5 log no número de patógenos, especialmente da *E. coli* O157:H7, durante a manufatura de lingüiças fermentadas secas e semi-secas (JAY, 2005). Em contrapartida, muitos estudos têm sido realizados, investigando a eficácia de processamentos domésticos e comerciais na redução do número de patógenos (JAY, 2005).

Diante do exposto, percebe-se que o controle da contaminação microbiana tem sido uma preocupação constante na indústria da carne.

3.2 Oxidação lipídica da carne e produtos cárneos

A oxidação dos lipídios ocorre através de uma reação em cadeia, envolvendo três estágios: a iniciação, a propagação e a terminação. É um processo básico

causador de rancidez nos produtos alimentícios, e pode ocorrer durante o armazenamento, processamento e aquecimento. A reação inicia a partir de radicais livres altamente reativos, os quais reagem com oxigênio ou ácidos graxos, gerando mais radicais livres e hidroperóxidos que reagem em cadeia (HAMILTON et al., 1997; ARAUJO, 2008). Portanto, a prevenção destas reações em cadeia poderá minimizar os seus efeitos adversos e aumentar a vida-de-prateleira dos alimentos.

As reações de oxidação lipídica dependem de mecanismos reacionais diversos complexos, os quais estão relacionados com o tipo de estrutura lipídica e o meio onde esta se encontra. O número e a natureza das insaturações presentes no ácido graxo, o tipo de interface entre os lipídios e o oxigênio, a exposição à luz e ao calor, bem como a presença de pró-oxidantes (íons metálicos de transição) ou de antioxidantes, são fatores determinantes para a estabilidade oxidativa dos lipídios (FRANKEL et al., 1994; BERSET; CUVELIER, 1996).

A carne possui uma complexa estrutura física e a composição química susceptível à oxidação, sendo que sua estabilidade oxidativa depende do equilíbrio e da interação entre substâncias endógenas antioxidantes e pró-oxidantes, e de sua composição de substratos propensos à oxidação, incluindo ácidos graxos poliinsaturados, colesterol, proteínas e pigmentos conforme foi exposto por Serpen, Gökmen e Fogliano (2012).

A oxidação dos lipídios inicia-se nas ligações insaturadas dos ácidos graxos e desta forma, a presença de gorduras polinsaturadas nos produtos cárneos os torna susceptíveis à oxidação. Além disso, no tecido animal a oxidação lipídica é acelerada pela hemoglobina, mioglobina e pelo citocromo C. O aquecimento da carne libera o ferro da mioglobina e de outras metaloproteínas que atuam como catalisadores, acelerando a reação da oxidação de fosfolipídios; transforma a mioglobina em molécula pró-oxidante, induz a decomposição de peróxido e desnatura enzimas protetoras que atuam no controle da oxidação (ARAUJO, 2008).

A carne crua não apresenta problema sério de oxidação e a degradação em condições de refrigeração é devida à ação bacteriana ou enzimática. Em condições de congelamento, a vida útil é determinada pelas alterações oxidativas que afetam os lipídios, as quais ocorrem em maior velocidade em carnes de aves e suínos do que de bovinos. A carne de frango oxida mais rapidamente que a carne bovina, em razão do elevado teor de ácidos graxos insaturados, especialmente nos fosfolipídios. A carne de peru torna-se rancificada mais rapidamente, em virtude da maior

concentração de fosfolipídios (em torno de 30 a 40% do lipídio total). A carne de suína possui também elevado teor de fosfolipídios altamente insaturados, além de lipídios totais, que contribuem com 50 a 60% de ácidos graxos insaturados. (ARAUJO, 2008).

Segundo Serpen, Gökmen e Fogliano (2012) a composição de antioxidantes endógenos e compostos pró-oxidantes podem diferir entre carne de diferentes espécies, entre animais de uma única espécie e nos diferentes tipos de músculo. Também a dieta do animal por meio de pastagens ou de grãos desempenha um importante papel na modificação da concentração de antioxidantes, pró-oxidantes e ácidos graxos na carne. Sistemas antioxidantes endógenos são formados por compostos não enzimáticos hidrofílicos e lipofílicos, como vitamina E, vitamina C, carotenóides, polifenóis, tióis, e enzimas celulares como a superóxido dismutase, catalase e glutatona peroxidase. Juntos, os sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos operam para neutralizar a ação do pró-oxidantes no tecido muscular tanto em animais vivos e também após o abate (CHAN; DECKER, 1994; SERPEN; GÖKMEN; FOGLIANO, 2012).

A desintegração da estrutura da carne pela moagem/trituração libera ácidos graxos insaturados dos fosfolipídios presentes nas membranas e ions Fe^{++} da mioglobina, iniciando a oxidação mesmo em condições de resfriamento (ARAUJO, 2008).

Os produtos da oxidação lipídica são indesejáveis tanto pelo resultado da decomposição de lipídios e produção de compostos voláteis, como também, pela destruição de constituintes essenciais, ocasionando um decréscimo do valor nutricional dos alimentos e a formação de compostos tóxicos durante o processamento (MELO; GUERRA, 2002; AHN; GRÜN; MUSTAPHA, 2007). A oxidação lipídica em carnes pode ser estimada através do valor de TBARS (substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico) visto que produtos primários da oxidação lipídica constituem-se principalmente de hidroperóxidos, os quais são rapidamente decompostos em várias substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico, particularmente carbonilas, sendo o malonaldeído o elemento mais importante (TARLADIGS; PEARSON; DUGAN, 1964).

Segundo Hamilton (1997) o efeito nocivo das reações de oxidação dos lipídios pode ser minimizado basicamente com refrigeração, acondicionamento e

armazenamento adequados, embora a reação não seja detida por completo já que a auto-oxidação requer energia de ativação reduzida.

A estabilidade oxidativa dos alimentos é dependente do equilíbrio entre a composição e concentração do substrato e a presença de pró-oxidantes e antioxidantes. Desta forma, a remoção do oxigênio, inativação de enzimas, proteção contra a luz e íons metálicos são importantes para evitar ou minimizar a oxidação lipídica. No entanto, estas medidas nem sempre são aplicáveis. A adição de antioxidantes constitui prática mais comum para aumentar a estabilidade dos lipídios (DECKER, 1998).

3.3 Antioxidantes

Antioxidantes são substâncias usadas para controlar reações oxidativas em alimentos e neste sentido preservar alimentos através do retardo da deterioração, rancidez e descoloração resultante da autooxidação (ADEGOKE et al., 1998). Os antioxidantes são classificados segundo sua forma de atuação em antioxidantes primários e secundários. Os primários atuam interrompendo a cadeia de reação através da doação de elétrons ou hidrogênio aos radicais livres, resultando em produtos termodinamicamente estáveis e/ou reagindo com os radicais livres, formando o complexo lipídio-antioxidante (TAKEMOTO, 2004). Esquemáticamente, seu modo de ação pode ser representado da seguinte forma: inibição da fase inicial da reação pela interação com os radicais livres ou na etapa de propagação, reagindo com os radicais alcóxil ou peróxil, e ou, pela formação do complexo antioxidante-peróxil (ARAUJO, 2008). São exemplos de antioxidantes deste grupo os antioxidantes BHA (butil-hidroxi-anisol), BHT (butil-hidroxitolueno), TBHQ (t-butil-hidroquinona), tocoferóis e galatos (TAKEMOTO, 2004).

Os antioxidantes secundários atuam retardando a etapa de iniciação da autooxidação, por diferentes mecanismos: como quelantes, formando complexos com metais, ou seqüestrantes, que reagem com o oxigênio livre, removendo-o do sistema. Como exemplo de quelantes tem-se o EDTA (etileno diamino tetracético), ácido cítrico, ácido tartárico e polifosfatos (SHAHIDI, 2000). As substâncias mais usadas como seqüestrantes são: o ácido ascórbico, ácido eritórbico, sulfitos e palmitato de ascorbila. Também existem substâncias que atuam através da

decomposição de hidroperóxidos para formar espécie não radical, absorvendo a radiação ultravioleta e desativando o oxigênio singlet (JADHAVI et al., 1997).

O uso de antioxidantes deve atender aos seguintes requisitos: ser compatível com o substrato, não conferir odor ou sabor estranho ao produto, ser efetivo durante todo o período de armazenamento, ser estável ao processo de aquecimento e ser facilmente incorporado ao alimento (MELO; GUERRA, 2002). Existe uma grande quantidade de compostos, tanto naturais quanto sintéticos, com propriedades antioxidantes, mas para o emprego em alimentos, os mesmos devem apresentar certos requerimentos, sendo um deles a segurança da saúde dos consumidores (NAWAR, 1996).

Há uma tendência geral, no processamento de alimentos, de se substituir os antioxidantes sintéticos pelos naturais ou pelo uso preferencial de ingredientes que naturalmente possuem atividade antioxidante (TSALIKI; LAGOURI; DOXASTAKIS, 1999; HAYES et al., 2010).

3.4 Extratos vegetais

Os compostos fenólicos, como os metabólitos secundários de plantas, são comumente encontrados em vários vegetais e têm como importantes funções a atividade antimicrobiana e defesa contra o estresse oxidativo das espécies reativas de oxigênio (ROS) endógenas e dos radicais livres (SIMÕES et al., 2001; KIM; CHUNG, 2002).

Segundo relatado por Schirmer e Langsrud (2010) os componentes antimicrobianos ativos em ervas, especiarias e frutas podem ser divididas em subgrupos por sua estrutura química e o modo como exercem sua função antimicrobiana. Os grupos mais importantes incluem fito-fenólicos em ervas e especiarias; flavonóides e ácidos em frutos e bagas; e glucosinolatos em vegetais crucíferos.

Diversos pesquisadores têm trabalhado na separação, identificação, quantificação dos compostos fenólicos em alimentos, enfrentando muitos problemas metodológicos, pois, além de englobarem uma gama enorme de substâncias (fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonóides, taninos e ligninas), eles são, na maioria das vezes, de grande polaridade, muito reativos e suscetíveis a ação de enzimas (KING; YOUNG, 1999).

Existem várias metodologias para preparação de extratos vegetais, visando o isolamento de seus constituintes químicos. Um método considerado adequado é o de extração hidroalcoólica (etanol/água 50/50, v/v ou metanol) para obtenção do extrato bruto (CECHINEL; YUNES, 1998). Posteriormente, este extrato pode ser submetido a um processo de separação líquido-líquido, com solventes de polaridades crescentes, buscando extração dos respectivos compostos: hexano (para extração de esteróides, terpenos, acetolenonas), diclorometano (para lignanas, flavonóides metoxilados, sesquiterpenos, lactonas, triterpenos, cumarinas), acetato de etila (flavonóides, taninos, xantonas, ácidos triterpênicos, saponinas, compostos fenólicos em geral) e butanol (flavonóides glicosilados, taninos, saponinas, carboidratos), visando uma semi-purificação das substâncias através de suas polaridades. Outros solventes de polaridades similares também podem ser utilizados (CECHINEL; YUNES, 1998; VOGEL, 1981).

O solvente utilizado na extração e o método de extração podem influenciar significativamente no nível dos componentes recuperados, dessa maneira pode determinar a habilidade antioxidante de cada tipo de extrato (KOKA et al., 2007).

Diferentes sistemas solventes como água, misturas aquosas de etanol, metanol, e acetona comumente têm sido usados para extrair os antioxidantes a partir de matérias primas vegetais, como frutas, verduras, legumes e outros gêneros alimentícios (SUN; HO, 2005).

Xu e Chang (2007) concluíram que diferentes solventes utilizados na extração, resultam em distintas composições fenólicas e seus antioxidantes. Extratos obtidos usando solventes de alta polaridade são mais efetivos seqüestradores de radicais livres e inibidores bacterianos, do que aqueles obtidos usando solventes de menor polaridade. Majhenic, Skerget e Knez (2007), ao comparar os solventes: água, metanol, acetona (35%) e etanol (60%), utilizados em sementes de guaraná, concluíram que o extrato etanólico foi o mais eficiente como antioxidante e como antimicrobiano.

Zhao e Hall (2008) elaboraram extratos de uvas passas com diferentes solventes em diferentes concentrações e verificaram que extratos obtidos com etanol:água (60:40, v/v) apresentaram maior conteúdo de fenólicos totais, mas a atividade antioxidante obtida com o extrato elaborado com etanol:água (80:20, v/v) foi significativamente maior que outros extratos obtidos de diferentes concentrações de solventes.

Souza (2006) trabalhando com subprodutos de *Solanum tuberosum* na extração de antioxidantes, concluiu que o extrato aquoso (hidroetanólico) e o purificado (obtido pelo método de fracionamento) foram efetivos no controle da oxidação lipídica em cortes de frango, porém o purificado foi mais eficaz, e não diferiu do controle na análise sensorial.

A extração de polifenóis de caqui tem sido realizada usando métodos que diferem em muitas variáveis, tais como as características do extrator, número de extrações, tempo e temperatura de extração, conseqüentemente, os dados relatados na literatura, obviamente que são afetados pelo processo de extração, juntamente com o método de quantificação instrumental, que nem sempre são facilmente comparáveis (GIORDANI et al., 2011).

3.5 Extratos vegetais como antioxidantes e antimicrobianos

Nos últimos anos compostos antimicrobianos e antioxidantes extraídos de fontes vegetais têm sido estudados e utilizados em produtos cárneos devido aos potenciais benefícios a saúde (AHN; GRÜN; MUSTAPHA, 2007, HAYES et al., 2010).

A determinação da atividade antioxidante de produtos naturais teve início com Chipault et al. (1952) em especiarias, ingredientes utilizados em alimentos desde os primórdios da história, não somente para melhorar ou ressaltar as características sensoriais dos alimentos mas também para preservá-los. No entanto, o interesse pelos antioxidantes naturais teve início nos anos 80 diante da comprovação de efeitos maléficos causados por doses elevadas de BHT, BHA e t-BHQ (t-butil hidroquinona) sobre o peso do fígado e marcada proliferação do retículo endoplasmático, entre outras (DURÁN; PADILLA, 1993). Como conseqüência, ênfase foi dada na identificação e purificação de novos compostos com atividade antioxidante, provenientes de fontes naturais, que possam atuar sozinhos ou sinergicamente com outros aditivos, como alternativa para prevenir a deterioração oxidativa de alimentos e limitar o uso dos antioxidantes sintéticos (MELO; GUERRA, 2002).

Alguns extratos vegetais tem se mostrado um meio efetivo para conservar a qualidade de carnes e produtos cárneos. Muitas especiarias têm sido estudadas por suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas (WONG; KITTS, 2006). Tem se

observado que o alecrim e o orégano possuem forte atividade antioxidante. O alecrim é utilizado como condimento há mais de mil anos e suas propriedades antioxidantes foram amplamente estudadas e sua eficácia tem sido comprovada na conservação e vida útil dos alimentos (BENZAQUEN, 2009).

Segundo Economou, Oreopoulou e Thomopoulos (1991) extratos de alecrim e sálvia tem se mostrado altamente eficientes como antioxidantes. As substâncias com atividade antioxidante identificadas no extrato de alecrim foram o ácido rosmarínico, carnosol e o ácido carnósico (ARAUJO, 2008). O ácido rosmarínico é de ampla ocorrência em vegetais da sub família Nepetoideae (Lamiaceae) como por exemplo no alecrim, sálvia, melissa e orégano (SIMÕES et al., 2001). Vários compostos fenólicos têm sido isolados do orégano tais como glucosídeos, ácidos fenólicos e derivados terpenos (BENZAQUEN, 2009).

Farbood, Macneil e Ostovar (1976) estudaram a ação antimicrobiana de extrato de Alecrim em carne mecanicamente separada de frango (CMS), peito de peru e carne bovina. Demonstraram que o extrato de alecrim foi efetivo contra *Staphylococcus aureus*, porém não contra a contagem total em placas. Campo, Amiot e Nguyen (2000) verificaram que o extrato de alecrim é mais apropriado como antimicrobiano para alimentos com baixo conteúdo de gorduras e proteínas e naqueles em que as bactérias Gram positivas sejam o maior problema.

Segundo Velasco (2005) os extratos de sálvia, alecrim e orégano se encontram disponíveis comercialmente e são empregados comumente na elaboração de produtos cárneos. Os extratos vegetais se encontram normalmente em forma líquida e são adicionados a produtos cárneos em 500-5000 ppm da base gordurosa (VELASCO, 2005).

Obviamente que o emprego de extratos vegetais tem aumentado o valor dos produtos que os contém. Entretanto o emprego destes extratos tem certas limitações, entre as quais se destacam a dificuldade para padronizar e o potencial antioxidante. Muitos fatores, incluindo o clima, o período de colheita, o processo de extração e o manejo da matéria prima, podem afetar o potencial antioxidante dos extratos (VELASCO, 2005).

O extrato de alecrim quando não purificado, apresenta como desvantagem um aroma forte e característico, que pode afetar a cor, inferir sabor residual e causar aroma desagradável no produto ao qual foi adicionado, além do seu alto custo quando purificado (BROOKMAN, 1991).

Os chás são bebidas populares e fontes significativas de compostos fenólicos, são considerados importantes integrantes das dietas devido ao seu alto potencial antioxidante (ASOLINI; TEDESCO; CARPES, 2006). As folhas da *Camellia sinensis* que é comumente empregada como chá (preto ou verde) são ricas em polifenóis, principalmente as catequinas. As catequinas do chá verde são consideradas seqüestradores de radicais livres e quelantes de metais, sendo usados como antioxidantes naturais, antibacterianos e agentes antivirais (TANG et al., 2001). Estudos verificaram propriedades antioxidantes das catequinas em carnes e produtos cárneos (SHAHIDI et al., 1992, TANG et al., 2001).

Extratos de chá verde são disponíveis comercialmente os quais podem ser utilizados para retardar a oxidação e conseqüentemente, prolongar o tempo de armazenamento dos produtos cárneos prontos como nuggets de frango, corte de carnes pré-assadas, hambúrguer e seus derivados, tiras de frango, salsichas tipo Frankfurter, mortadela, e outros (BENZAQUEN, 2009).

Alguns trabalhos têm sido desenvolvidos com a *Ilex paraguariensis* (erva mate), sendo que tem demonstrado atividade antioxidante e também antimicrobiana. A erva mate é uma planta que cresce naturalmente ou também é cultivada na Argentina, Uruguai, Brasil e Paraguai. As partes aéreas desta planta são usadas para preparar a bebida denominada de mate (FILIP et al., 2000). Investigações fitoquímicas da *Ilex paraguariensis* identificaram compostos como os derivados cafeoil, principalmente 3,5-dicafeoilquínico, 4,5-dicafeoilquínico, 3,4-dicafeoilquínico, ácido clorogênico, ácido caféico e flavonóides como a quercetina e rutina (FILIP et al., 2001).

Gugliucci e Stahl (1995) verificaram que extratos aquosos e alcoólicos de *Ilex paraguariensis* inibiram a oxidação da lipoproteína de baixa densidade *in vitro*, exibindo potência comparável ao ácido ascórbico. Gugliucci (1996) demonstrou que extratos de *Ilex paraguariensis* apresentam capacidade antioxidante *in vivo*, protegendo a lipoproteína humana de baixa densidade contra a oxidação. Filip et al. (2000) ao testarem a atividade antioxidante da *Ilex paraguariensis* e outras espécies aparentadas (*Ilex* spp.), consumidas na América do Sul, constataram que a *Ilex paraguariensis* apresenta maior atividade antioxidante. Experimentos realizados por Schinella et al. (2000) confirmaram as propriedades antioxidantes de extratos aquosos de erva mate ao verificarem inibição na peroxidação lipídica em microsomas de fígado de rato.

Girolometto et al. (2009) determinaram *in vitro* a intensidade de atividade de inibição bacteriana e intensidade de atividade de inativação bacteriana de extratos hídricos e etanólicos de cambitos e folhas de *Ilex paraguariensis* sobre as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella* Enteritidis e *Escherichia coli*. Todos estes microrganismos apresentaram sensibilidade aos extratos de *Ilex paraguariensis*, no entanto a *Salmonella* Enteritidis demonstrou maior sensibilidade, seguida por *Enterococcus faecalis*. A presença de matéria orgânica diminuiu, enquanto o tempo de exposição aumentou, a sensibilidade de *Salmonella* Enteritidis e *Enterococcus faecalis* aos diferentes extratos de *Ilex paraguariensis* testados. Atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos de *Ilex paraguariensis* sobre a *Salmonella* sp. também foi constatada por Wiest et al. (2009).

Kubo (1993) comprovaram a atividade antimicrobiana de *Ilex paraguariensis* frente a bactérias e fungos patogênicos. Dentre as bactérias que sofreram inibição total encontraram-se *Bacillus subtilis*, *Brevibacterium ammoniagenes*, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans*.

Alguns experimentos têm sido conduzidos com a utilização de extratos de erva mate em produtos cárneos. Milani et al. (2001) estudaram os efeitos antioxidantes (através do índice do TBARS) e antimicrobianos dos extratos etanólicos e metanólicos de chá verde, chá preto e de erva mate (*Ilex paraguariensis*) na carne mecanicamente separada (CMS) de frango. Os extratos não apresentaram proteção antimicrobiana, no entanto todos demonstraram ação antioxidante quando comparados com as amostras sem tratamento.

Milani et al. (2002) avaliaram o efeito antioxidante de extratos hidro etanólico e metílico de casca de maçã, folhas de alcachofra e extrato metílico de erva mate em CMS de frango mantidas sob refrigeração e congelamento. Observaram através do índice de TBARS que o extrato metílico de erva mate apresentou maior poder antioxidante que os demais extratos testados. Observaram que após um mês de armazenamento as amostras de CMS controle mantidas sob congelamento apresentaram o índice de TBARS de 7,95 enquanto que a amostra tratada com o extrato metílico de erva mate apresentou valor de 1,68.

Terra et al. (2008) verificaram que o extrato hidro etanólico de erva mate apresentou atividade antioxidante em carne de peru moída submetida a tratamento térmico de 75 °C/20 minutos, apresentando pequena redução de sua atividade antioxidante em presença de cloreto de sódio. Observaram também que o extrato

hidro etanólico de erva mate, na concentração de 0,5%, não demonstrou atividade antimicrobiana sobre os microrganismos aeróbios mesófilos.

Terra et al. (2002) compararam a adição do BHA e do extrato hidro etanólico de erva mate a 0,5% e 1% em salame tipo italiano com objetivo de avaliar a rancificação. Verificaram que nos tratamentos com adição de extrato de erva mate houve proteção contra a oxidação lipídica comparável ao BHA. Os tratamentos com extrato de erva-mate 0,5% e BHA obtiveram os melhores resultados sensoriais quando comparados aos tratamentos com o extrato de erva-mate 1% e controle. Verificaram que o extrato hidro-etanólico de erva mate 0,5% além de inibir a oxidação lipídica também melhorou a cor do salame.

Campos et al. (2007) trabalhando com salame, concluíram que a adição de extrato hidroetanólico de erva mate controlou a oxidação lipídica mantendo o produto cárneo com baixos valores de TBARS.

Furtado et al. (2004a), aplicaram extratos hidro etanólicos de marcela (*Achyrocline satureioides*) e de erva mate (*Ilex paraguariensis*) em lingüiça, mantida a 5 °C por 35 dias. Observaram que os extratos apresentaram ação protetora contra a rancificação da lingüiça, sendo que o extrato hidro etanólico de marcela apresentou ação superior ao extrato etanólico de erva mate. Furtado et al. (2004b), aplicaram os mesmos extratos hidro etanólicos de marcela e de erva mate em lingüiça mantida a 5 °C por 35 dias, e verificaram que os extratos hidro etanólicos de marcela a 0,5 e 1% apresentaram poder de inibição do crescimento microbiano (contagem de bactérias aeróbias mesófilas, psicrotróficos e coliformes totais) nesse produto.

Alguns estudos têm avaliado o efeito sinérgico da combinação de vários extratos de plantas. Hsieh, Mau e Huang (2001) determinaram a atividade antimicrobiana dos extratos combinados de “corni fructus” (*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.), canela (*Cinnamomum cassia* Blume) e cebolinha chinesa (*Allium tuberosum* Rottler) sobre patógenos comuns em alimentos, incluindo bactérias, leveduras e bolores. Verificaram que o extrato combinado mostrou um amplo espectro antimicrobiano e quando o extrato combinado foi utilizado em bolinhos de carne suína, suco de goiaba, chá verde e chá preto o efeito antimicrobiano foi observado conforme esperado. Segundo os autores além de ser usado como tempero, o extrato combinado é adequado para a incorporação em vários produtos alimentares, onde um aditivo naturalmente antimicrobiano é desejado (HSIEH; MAU; HUANG, 2001).

Schirmer e Langsrud (2010) investigaram o efeito inibitório de antimicrobianos naturais sobre o crescimento de bactérias deteriorantes típicas de carne suína marinada. Inicialmente determinaram através de ensaio em microplacas a concentração inibitória mínima (MIC) de timol, cinamaldeído, isotiocianato de alila, ácido cítrico, ácido ascórbico, extrato de alecrim e do extrato de semente de uva contra *Lactobacillus algidus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc carnosum*, *Carnobacterium maltaromaticum*, *Carnobacterium divergens*, *Brochothrix thermosphacta* e *Serratia proteamaculans*. Os antimicrobianos foram testados individualmente ou em combinação e mostraram efeito sinérgico no crescimento microbiano *in vitro*. Posteriormente os antimicrobianos isoladamente ou combinados foram adicionados na carne suína embalada a vácuo para avaliar os efeitos da preservação. Verificaram que concentrações antimicrobianas de até 10 vezes os valores do MIC não mostraram nenhum efeito sobre o crescimento bacteriano total na carne suína embalada a vácuo o que significa que embora a maioria dos antimicrobianos inibiu o crescimento de bactérias deteriorantes *in vitro*, o mesmo resultado não ocorreu no sistema cárneo natural.

Pereira (2009) avaliou cinco extratos naturais em relação a sua atividade antioxidante e antimicrobiana na Carne Mecanicamente Separada (CMS) de frango armazenada sob refrigeração de 0 a +4 °C durante 10 dias. Foram estudadas a erva mate (*Ilex paraguariensis*), a marcela (*Achyrocline satureioides*), uma mistura de erva mate (50%) com marcela (50%), o chá verde (*Camellia sinensis*) e o própolis sem álcool. O extrato de marcela teve o melhor efeito na inibição da oxidação lipídica da CMS de frango, apresentando os menores valores médios de TBARS. Foi verificado também que o tratamento com a mistura de extratos de erva mate e de marcela apresentou a menor contagem média de aeróbios mesófilos totais em relação aos demais tratamentos e o extrato de erva mate apresentou a menor contagem média de bactérias lácticas.

A capacidade antioxidante e/ou antimicrobiana de alguns subprodutos da indústria de alimentos vem sendo estudados. O extrato de oliva obtido do resíduo resultante da extração do azeite de oliva tem demonstrado ser um antioxidante efetivo para inibir a rancidez da carne moída suína e bovina pré-cozida. Mediante a adição do extrato de oliva na carne pré-cozida suína e bovina, verificou-se que a reação de oxidação lipídica pode reduzir-se entre 63 e 83% na carne de bovino e entre 47 e 66% na carne suína (DEJONG; LANARI, 2009).

A atividade antimicrobiana e antioxidante de extratos de semente de uva e de casca de pinheiro foi testada em carne moída cozida por Ahn, Grün e Mustapha (2007). Foi verificado que os extratos de semente de uva e de casca de pinheiro a 1,0% efetivamente reduziram o número de *Escherichia coli* O157:H7 e *Salmonella* Typhimurium, e retardaram o crescimento de *Listeria monocytogenes* e *Aeromonas hydrophila*. O extrato de casca de pinheiro resultou em reduções de 1,7; 2,0; 0,8 e 0,4 log UFC/g, respectivamente, nas contagens de *E. coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium, e de *Aeromonas hydrophila*, respectivamente, após 9 dias armazenamento refrigerado (4 °C). Os extratos mantiveram as amostras estáveis quanto a coloração e a oxidação lipídica mantendo-as com valores de TBARS inferiores as amostras tratadas com os antioxidantes sintéticos BHA/BHT. Segundo Johnston (2009) o extrato de semente de uva é um meio efetivo para conservar a qualidade da carne em alimentos prontos para o consumo pré-cozidos, congelados e resfriados. O estudo concluiu que o extrato de semente de uva é uma alternativa natural viável aos ingredientes sintéticos como o BHA e o BHT, que tem sido usados a muito tempo para conservar a carne pré cozida.

Ahn et al. (2002) avaliaram a atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* de extratos de semente de caqui e de uva. Verificaram que ambos os extratos tem forte capacidade de seqüestro de radicais DPPH *in vitro*, e inibiram a peroxidação *in vivo* em fígado de ratos. O extrato de semente de caqui apresentou a concentração de tanino total e atividade de seqüestro de radicais DPPH maior que o extrato de semente de uva. Segundo os autores a forte atividade de seqüestro de radicais *in vitro*, ao menos em parte, pode ser resultado da alta concentração de tanino total presentes nestes extratos.

Extratos de casca de batata também têm demonstrado propriedades antioxidantes. Em estudos realizados com extratos de casca de batata, foi observado que apresentaram atividade antioxidante similar ao BHA (RODRIGUEZ de SOTILLO; HADLEY; HOLM, 1994). Kanatt et al. (2005) empregaram o extrato de casca de batata em carne de cordeiro processada submetida a radiação. Verificaram que o mesmo apresentou atividade antioxidante comparável ao BHT. Souza (2006) verificou que extratos obtidos da casca da batata inglesa são efetivos como protetores contra a oxidação lipídica em cortes de frango.

A romã é uma importante fonte de compostos bioativos e tem sido usada na medicina de vários países. Muitas partes da fruta da romã são conhecidas por possuir atividade antioxidante e antimicrobiana, sendo que o extrato da casca possui maior atividade antioxidante que o extrato obtido da polpa da romã (NAVEENA et al., 2008; NEGI; JAYAPRAKASHA, 2003). A casca da romã é rica fonte de taninos e outros compostos fenólicos. Naveena et al. (2008) verificaram que extrato de casca de romã inibiu substancialmente a oxidação lipídica de hambúrguer de frango cozido, em maior extensão que a vitamina C, sem alterar os atributos sensoriais do produto. Concluíram que o extrato de casca de romã pode ser empregado como uma excelente fonte de antioxidante natural.

Além de apresentar importância nutricional, as frutas são uma importante fonte vegetal que vem sendo explorada devido às propriedades antimicrobianas e antioxidantes (WANG; CAO; PRIOR, 1996; ALONSO et al., 2004; SILVEIRA et al., 2005). O caqui é uma fruta que tem merecido a atenção dos pesquisadores devido à abundância em polifenóis, incluindo flavonóides e não flavonóides com diversas variações estruturais, entre estes o ácido gálico, ácido benzóico, ácido cinâmico, ácido p-cumárico, catequinas e as proantocianidinas ou taninos condensados (GORINSTEIN et al., 1999; GORINSTEIN et al., 2001; AHN et al., 2002; SUZUKI et al., 2005; PARK et al., 2006; GU et al., 2008; GIORDANI et al., 2011). Segundo Gorinstein et al. (2001) 61,4% dos polifenóis totais da variedade de caqui – Triumph são ácido p-cumárico; 22,1% de ácido gálico, seguido de 10,3% de ácido ferúlico. Estudo realizado com caquis cultivados no Japão verificou que os caquis taninosos possuem maior concentração de polifenóis do que os não taninosos. Essa diferença se dá principalmente pela maior concentração de ácido gálico em caquis taninosos (SUZUKI et al., 2005). Conforme Dalvi (2008) a presença de carotenóides e polifenóis no caqui conferem-lhe uma atividade antioxidante expressiva.

Hagerman et al. (1998) sugeriram que tanino, ou polifenóis poliméricos, podem ser muito mais potentes como antioxidantes do que são os fenóis simples monoméricos devido ao alto peso molecular e a proximidade de muitos anéis aromáticos e grupos hidroxila. Os resultados obtidos por Gu et al. (2008) estão de acordo com esta sugestão e indicaram que os taninos condensados de elevado peso molecular foram os principais antioxidantes presentes na polpa de caqui.

Conforme foi relatado por Giordani et al. (2011) levando-se em conta a adstringência do caqui, uma tendência comum que pode ser extrapolada a partir dos

resultados de estudos sobre várias cultivares, apesar de Gorinstein et al. (1994) não terem encontrado diferenças entre a variedade não adstringente Fuyu e a adstringente Triumph, é que o teor de polifenóis solúveis é geralmente de cinco a quarenta vezes maior no grupo adstringente do que nas cultivares não adstringentes (KATSUBE et al., 2004; SUZUKI et al., 2005).

Katsube et al. (2004) estudaram a atividade antioxidante do extrato etanólico de 52 plantas comestíveis, através da capacidade de seqüestro de radicais DPPH e do teste de oxidação da LDL, sendo que o caqui adstringente (*Diospyros kaki*, L.) estava entre as quatro plantas que apresentaram maior atividade, enquanto que o caqui não adstringente mostrou pequena atividade antioxidante. A ação antioxidante do caqui adstringente foi atribuída a uma atividade seqüestradora de radicais livres causando à expansão do tempo da fase lag (fase inicial lenta) da cinética de peroxidação lipídica. O aumento da fase lag foi proporcional a concentração de caqui no meio reacional. Esse comportamento foi confirmado no ensaio de avaliação de atividade sequestrante com radical DPPH (KATSUBE et al., 2004).

Chen et al. (2008) mostrou que o extrato etanólico de caqui cv. Mopan, a principal cultivar de caqui adstringente cultivada no norte da China, apresentou atividade de captura de radicais DPPH e ABTS (cerca de 23 μmol Trolox equivalente /g) significativamente maior que as encontradas em extratos etanólicos de uvas, maçãs e tomates, sendo correlacionado com um maior teor de compostos fenólicos totais, que foi 8 vezes maior que o do tomate, demonstrando que está em bom acordo com a atividade antioxidante mais forte do seu extrato etanólico. Gorinstein et al. (2001) obtiveram resultados semelhantes, e mostram que o teor de compostos fenólicos totais em caqui é maior do que o de maçã. Garcia et al. (2004) usando o método do radical ABTS, também determinou uma alta atividade antioxidante em extrato de frutos de caqui (406 μmol Trolox equivalente /g), que apresentou-se em torno de duas vezes maior do que a de mirtilos e amoras, ambos considerados excelentes fontes de compostos antioxidantes. Em experimento conduzido por Fu et al. (2011) onde estudaram a capacidade antioxidante e o conteúdo total de fenólicos de 62 frutas verificaram que o caqui se destacou entre as sete frutas que apresentaram maior teor de fenólicos totais e elevada capacidade antioxidante.

Han et al. (2002) investigaram a capacidade de seqüestro de radicais livres DPPH por extratos metanólicos de *Diospyros kaki*, *Laminaria japônica* e *Undaria*

pinatifida. O extrato obtido do *Diospyros kaki* apresentou maior potencial de seqüestro de radicais DPPH.

Dalvi (2008) estudou a propriedade antioxidante de extrato aquoso de polpa de caqui Rama Forte em processos oxidativos mediados por Fe (III) *in vitro*. O extrato de polpa de caqui apresentou atividade antioxidante satisfatória, sendo capaz de diminuir significativamente o dano oxidativo à 2-desoxiribose mediado por Fe(III)-co-quelante e ascorbato.

Milani et al. (2009) avaliaram a atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato hidro alcoólico bruto de caqui da cultivar Quioto e das frações obtidas com o emprego de solventes com diferentes polaridades. A atividade antimicrobiana foi testada contra *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Bacillus cereus* ATCC 14579 e *Salmonella* Enteritidis, através do teste de difusão em placas. O extrato hidro alcoólico bruto de caqui e a fração aquosa residual exibiram atividade antimicrobiana contra desenvolvimento de *Salmonella* Enteritidis e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442. O maior halo de inibição foi de 17,25 mm, proporcionado pelo extrato hidro alcoólico bruto de caqui sobre a *Salmonella* Enteritidis. O mesmo extrato também apresentou maior teor de compostos fenólicos (232,12mg equivalentes de ácido gálico por 100ml de extrato).

Em experimento conduzido por Kawase et al. (2003) foi verificado que o extrato de pele de caqui (*Diospyros kaki* Thunb.) não exibiu atividade antimicrobiana contra o *Helicobacter pylori* no teste de micro diluição em caldo pois apresentou concentração inibitória mínima (MIC) maior que 100 µg/mL em contraste com os agentes eficientes: metronidazol (MIC = 74 µg/mL), claritromicina (MIC = 1,9 µg/mL) e eritromicina (MIC = 1,8 µg/mL). Verificaram também que o mesmo extrato não promoveu inibição significativa contra a infecção do HIV em teste de inibição dos efeitos citopáticos induzidos.

Em relação a propriedades antioxidantes de extratos de caqui em produtos cárneos, Hoffmann et al. (2003) verificaram que extratos brutos (aquoso e hidroetanólico) de caqui da cultivar Taubaté apresentaram ação antioxidante a 0,5% e 1,0% em carne mecanicamente separada de frango (CMS) durante armazenamento a 5°C. Quando a -18°C as médias dos valores de TBARS, das amostras de CMS, incorporadas dos extratos, não apresentaram diferença significativa do controle. Hoffmann (2003) verificou que extrato aquoso de caqui, a 1% na carne mecanicamente separada de frango que foi incorporada em 30% ao

produto cárneo frescal (lingüiça) apresentou ligeira ação antioxidante, mas sem diferença significativa das amostras referência (CMS adicionada de 0,1% de extrato de alecrim sobre o teor de gordura) e do que o controle (CMS sem extrato). Verificou também que o extrato aquoso de caqui incorporado a CMS de frango em 1% mostrou-se um realçador de sabor da lingüiça, fato relevante do ponto de vista sensorial de produtos cárneos.

Segundo Ahn, Grün e Mustapha (2007) sistemas antioxidantes e antimicrobianos naturais podem melhorar a estabilidade e segurança de produtos cárneos. Entretanto, o uso de altas concentrações dos extratos naturais pode resultar em efeitos adversos nas propriedades sensoriais dos produtos cárneos. Desta forma é de suma importância o desenvolvimento de extratos naturais com propriedades antimicrobianas e antioxidantes que possam ser utilizados em baixas concentrações e que não interfiram nas características sensoriais do produto final.

4 ARTIGOS CIENTÍFICOS

4.1 Artigo 1

Artigo Científico publicado no **Brazilian Journal of Food Technology**,
Campinas, v. 13, n. 4, p.242-250, 2010, DOI: 10.4260/BJFT2010130400033

OXIDAÇÃO LIPÍDICA, CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS E COR DA CARNE DE FRANGO ADICIONADA DE EXTRATOS DE CAQUI (*Diospyros kaki*, L.) E SUBMETIDA A TRATAMENTO TÉRMICO

Oxidação lipídica, características sensoriais e cor da carne de frango adicionada de extratos de caqui (*Diospyros kaki*, L.) e submetida a tratamento térmico

*Effect of persimmon (*Diospyros kaki*, L.) extracts on the lipid oxidation, sensory characteristics and colour of heat treated chicken meat*

Autores | Authors

✉ **Liana Inês Guidolin MILANI**

Universidade Federal de Santa Maria
(UFSM)
Departamento de Tecnologia e Ciência
dos Alimentos (DTCA)
Av. Roraima, 1000, Camobi, Prédio 42
CEP: 97105-900
Santa Maria/RS - Brasil
e-mail: lianamilani@yahoo.com.br

Nelcindo Nascimento TERRA
Leadir Lucy Martins FRIES
Ana Paula de Souza REZER

Universidade Federal de Santa Maria
(UFSM)
Departamento de Tecnologia e Ciência dos
Alimentos (DTCA)
e-mail: nelcindo@terra.com.br
lucymicro@yahoo.com.br
anarezer@bol.com.br

Sabrina Fagundes FERREIRA

Universidade Federal de Santa Maria
(UFSM)
e-mail: sabri_ferreira@yahoo.com.br

Alexandre José CICHOSKI
Carlos Roberto Ferreira
VALENTE

Universidade Federal de Santa Maria
(UFSM)
Departamento de Tecnologia e Ciência dos
Alimentos (DTCA)
e-mail: ajcichoski@hotmail.com
carlosferreira@smail.ufsm.br

Resumo

Os objetivos deste estudo foram verificar a atividade antioxidante dos extratos hidroetanólicos de *Diospyros kaki*, L. (caqui) das cultivares (cv.) Quioto e Rama Forte em carne de frango submetida à moagem, adicionada de NaCl e tratada termicamente, além de compará-la com a atividade do extrato hidroetanólico de *Ilex paraguariensis* L. (erva-mate), verificando o efeito dos extratos na cor e nas características sensoriais das amostras. Para tanto, a carne de coxa e sobrecoxa de frango, desossada e sem pele, foi moída, adicionada de 2% de NaCl, homogeneizada e dividida em porções, nas quais foram adicionados 0,5 e 1% dos extratos hidroetanólicos de caqui das cultivares Quioto e Rama Forte e 0,5% do extrato de erva-mate. Após o tratamento térmico de 75 °C/20 min, as amostras foram resfriadas, embaladas e armazenadas durante 14 dias a 4 °C ($\pm 1^\circ\text{C}$), e periodicamente determinaram-se o TBARS e a cor. As amostras foram submetidas à análise sensorial. Os extratos hidroetanólicos de caqui cv. Rama Forte e cv. Quioto (0,5 e 1%) e o de erva-mate (0,5%) apresentaram atividade antioxidante, promovendo inibição da oxidação lipídica na carne de frango de 91,46, 93,49, 11,33, 49,13 e 94,88%, respectivamente. Os extratos de ambas as cultivares de caqui não promoveram alterações sensoriais nas amostras, diferentemente do extrato de erva-mate (0,5%), que alterou tanto a cor como o sabor. As porções de carne que continham 0,5% do extrato de erva-mate apresentaram valores de L^* e a^* inferiores aos valores obtidos nas porções do controle e dos extratos de caqui. Na medida em que as duas concentrações de extrato de caqui da cv. Rama Forte apresentaram os melhores resultados, parece adequado concluir que este extrato possa ser aproveitado na conservação de carne de frango moída e tratada termicamente, por ter apresentado elevada atividade antioxidante e por não ter promovido alterações perceptíveis nas características sensoriais (cor, aroma, sabor e textura) da carne de frango.

Palavras-chave: Oxidação lipídica; Antioxidantes naturais; Caqui; Erva-mate.

✉ Autor Correspondente | Corresponding Author

Recebido | Received: 04/02/2010
Aprovado | Approved: 29/10/2010

■ Summary

This study aimed to verify the antioxidant activity of hydroethanolic extracts from the *Diospyros kaki*, L. cultivars Quioto and Rama Forte on ground, salted and heat treated chicken meat, and compare with the effect of the hydroethanolic extract from *Ilex paraguariensis* (yerba mate), verifying the effects on the colour and the sensory characteristics of the samples. Boneless, skinless chicken leg and thigh meat was ground 2% of salt added, homogenized and divided into portions that were submitted to treatment with 0.5 and 1% of hydroethanolic extracts from the *Diospyros kaki*, L. (persimmon) cultivars Quioto and Rama Forte, and with 0.5% of the hydroethanolic extract from yerba mate. After heat treatment at 75 °C for 20 min the samples were cooled, packed and stored at 4 °C (± 1 °C) for a period of 14 days, periodically determining the TBARS and colour. A sensory analysis for the colour, aroma, flavour and texture of the samples was also carried out. The hydroethanolic extracts from the *Diospyros kaki*, L. cultivars Rama Forte and Quioto (0.5% and 1%) and the hydroethanolic extract from yerba mate (0.5%) showed antioxidant activity, causing, respectively, 91.46, 93.49, 11.33, 49.13 and 94.88% inhibition of lipid oxidation in the chicken meat. The hydroethanolic extracts from both persimmon cultivars caused no sensory alterations in the samples. On the other hand, the yerba mate extract (0.5%) caused alterations in the colour and flavour of the treated samples, showing lower L^* and a^* values than the control and the other treated samples. Based on the present findings, it was concluded that the hydroethanolic extract from the persimmon cultivar Rama Forte could be used in the preservation of heat treated ground chicken, since it showed high antioxidant potential and did not cause perceptible alterations in the colour, aroma, flavour or texture characteristics of the samples.

Key words: Lipid oxidation; Natural antioxidants; Persimmon; Yerba mate.

Oxidação lipídica, características sensoriais e cor da carne de frango adicionada de extratos de caqui (*Diospyros kaki*, L.) e submetida a tratamento térmico

MILANI, L. I. G. et al.

1 Introdução

A oxidação lipídica nos alimentos é um sério problema para a indústria de alimentos, pois os produtos originados são indesejáveis tanto pela decomposição dos lipídios como pela produção de compostos voláteis. Estes promovem alterações sensoriais, como também destruição de constituintes essenciais, ocasionando o decréscimo do valor nutricional e a formação de compostos tóxicos durante o processamento e o armazenamento do alimento (MELO e GUERRA, 2002; KARPINSKA et al., 2001).

A presença de gorduras poli-insaturadas nos produtos cárneos os torna mais susceptíveis à oxidação, assim como algumas operações de processamento, como a redução do tamanho das porções de carne, o cozimento e a adição de sal, promovem a ruptura do balanço oxidativo, provocando rápido desenvolvimento da rancidez oxidativa em carnes (ARAUJO, 2008).

O controle da oxidação lipídica nos alimentos é desejável e o benefício dos antioxidantes durante a estocagem de alimentos cárneos tem sido estudado (AHN et al., 2007). O interesse por antioxidantes naturais recentemente tem aumentado devido à percepção negativa dos consumidores sobre a segurança dos antioxidantes sintéticos, os quais têm sido restringidos devido ao seu potencial de carcinogênese, bem como outros efeitos maléficos à saúde (TANG et al., 2001; MELO e GUERRA, 2002; VELAZCO, 2005).

Como consequência, ênfase foi dada na identificação e na purificação de novos compostos com atividade antioxidante, provenientes de fontes naturais, e incluídos em alimentos, visando limitar o uso dos antioxidantes sintéticos (MELO e GUERRA, 2002). As frutas vêm sendo exploradas devido às propriedades antioxidantes (WANG et al., 1996). O caqui é uma fruta que tem merecido a atenção dos pesquisadores devido à abundância em compostos fenólicos, incluindo flavonoides, ácido gálico, ácido *p*-cumárico, catequinas e os taninos condensados (PARK et al., 2006; GU et al., 2008).

Devido à grande quantidade de compostos fenólicos que apresentam propriedades antioxidantes, a *Ilex paraguariensis* (erva-mate) tem sido estudada (ASOLINI et al., 2006). Investigações fitoquímicas da *Ilex paraguariensis* identificaram compostos, como os derivados cafeoil, principalmente 3,5-dicafeoilquínico, 4,5-dicafeoilquínico, 3,4-dicafeoilquínico, ácido clorogênico, ácido cafeico e flavonoides, como a quercetina e a rutina (FILIP et al., 2001). Extratos de *Ilex paraguariensis* demonstraram boa atividade antioxidante em carnes e produtos cárneos (TERRA et al., 2002, 2008; CAMPOS et al., 2007).

Este experimento teve como objetivos verificar a atividade antioxidante dos extratos hidroetanólicos

de *Diospyros kaki*, L. (caqui) das cultivares Quioto e Rama Forte em carne de frango submetida à moagem, adicionada de NaCl e tratada termicamente, e comparar esta atividade antioxidante com a atividade do extrato hidroetanólico de *Ilex paraguariensis* L. (erva-mate), assim como verificar o efeito dos extratos na cor e nas características sensoriais.

2 Material e métodos

2.1 Preparo do extrato hidroetanólico de caqui

Os caquis (*Diospyros kaki*, L.) utilizados foram da cv. Quioto (não adstringente) e da cv. Rama Forte (adstringente), provenientes de um pomar comercial de Nova Pádua-RS, os quais foram colhidos em março de 2009 (estágio semimaduro). Para o preparo do extrato hidroetanólico, os caquis foram desidratados em estufa com circulação de ar forçada a 60 °C por 48 h e posteriormente foram reduzidos a pó. O produto vegetal desidratado foi homogeneizado com uma solução hidroetanólica (etanol 80%), na proporção de 20%, utilizando-se liquidificador, durante 3 min na velocidade média. Em seguida, foi transferido para um béquer, no qual se ajustou o pH para 5,48 com solução de ácido acético 50%, permanecendo em béquer imerso em banho de ultrassom (Thornton®, modelo T14) durante 25 min à temperatura ambiente (ZHAO e HALL, 2008). Transcorrido este período, submeteu-se a parte sólida a mais duas extrações sucessivas. O filtrado das três extrações foi concentrado até 6% do volume inicial em rotaevaporador (Fisatom® 802) com vácuo de -760 mgHg e temperatura da água do banho a 44 °C (± 1 °C). Os extratos hidroetanólicos assim obtidos foram colocados em frascos de vidro âmbar ao abrigo da luz e mantidos a 4 °C (± 1 °C) até o momento de serem utilizados.

2.2 Preparo do extrato hidroetanólico de erva-mate

O extrato hidroetanólico de erva-mate foi elaborado conforme Pereira (2009). Para tanto, a erva-mate em pó foi adicionada de etanol 95% e água destilada, nas quantidades de 28 g, 112 mL e 28 mL, respectivamente. Essa mistura foi homogeneizada por 40 min, ficando em seguida em repouso por 20 min. Transcorrido este período, procedeu-se à filtração utilizando-se papel de filtro Whatman nº 6. A parte sólida foi extraída por mais duas vezes com adição de etanol 95% (140 mL em cada extração). Os três filtrados foram reunidos e concentrados em rotaevaporador (Fisatom® 802) com vácuo de -760 mgHg até o volume final de 25 mL, obtendo-se assim o extrato bruto, que foi mantido sob refrigeração em frasco de vidro âmbar, protegido da luz com papel alumínio. Na primeira extração, o solvente empregado foi uma mistura de etanol 95% com água destilada e, nas duas seguintes,

Oxidação lipídica, características sensoriais e cor da carne de frango adicionada de extratos de caqui (*Diospyros kaki*, L.) e submetida a tratamento térmico

MILANI, L. I. G. et al.

etanol 95%. A temperatura da água do banho-maria no evaporador foi de 45 a 47 °C.

2.3 Determinação de compostos fenólicos totais dos extratos

Para a determinação de fenólicos totais dos extratos, foi utilizado o método de Folin-Ciocalteu, descrito por Singleton et al. (1999). A curva padrão foi construída usando o ácido gálico nas concentrações de 0 a 15 mg%. O conteúdo total dos compostos fenólicos foi expresso em mg equivalente de ácido gálico por 100 mL (mg GAE.100 mL⁻¹) de extrato.

2.4 Preparo, armazenamento e análises das amostras de carne de frango

Utilizou-se carne de coxa e sobrecoxa de frango, desossada e sem pele, adquirida em um supermercado de Santa Maria-RS. A carne foi moída em disco de 5 mm e adicionou-se 2% de NaCl que foi homogeneizado em misturadeira (marca JAMAR®); posteriormente, dividiu-se em seis porções iguais de 1,2 kg. Uma das porções foi considerada controle (C, sem adição de extrato); a segunda porção, o tratamento 1 (T1, adicionado de 0,5% de extrato hidroetanólico de caqui cv. Quioto); a terceira porção, o tratamento 2 (T2, adicionado de 1% de extrato hidroetanólico de caqui cv. Quioto); a quarta porção, o tratamento 3 (T3, adicionado de 0,5% de extrato hidroetanólico de caqui cv. Rama Forte); a quinta porção, o tratamento 4 (T4, adicionado de 1,0% de extrato hidroetanólico de caqui cv. Rama Forte), e a sexta porção, o tratamento 5 (T5, adicionado de 0,5% de extrato hidroetanólico de erva-mate). Dividiu-se a porção de carne de frango do controle e dos tratamentos em partes de 100 g, as quais foram moldadas em forma de hambúrguer e tratadas termicamente a 75 °C (±1 °C) por 20 min. Após o resfriamento (+25 °C), foram embaladas em filme permeável ao oxigênio e armazenadas a 4 °C (±1 °C), durante 14 dias. Determinaram-se o índice de TBARS e a cor (L^* , a^* e b^*) logo após o tratamento térmico e o resfriamento das amostras (dia 0) e no 3º, 7º, 10º e 14º dia de armazenamento. As amostras para a realização da análise sensorial, após serem embaladas, foram congeladas (-18 °C) e a análise sensorial realizada após quatro dias de armazenamento. Este congelamento ocorreu para evitar a deterioração, uma vez que foram realizadas primeiramente as análises de TBARS e cor.

2.5 Determinação da oxidação lipídica

As substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) resultantes da oxidação lipídica das amostras de carne de frango foram determinadas segundo o método de Raharjo et al. (1992), com modificações conforme Pereira (2009). Os tubos com as amostras e os reativos foram colocados em banho-maria fervente por 5 min,

resfriados, e a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 531 nm. A densidade ótica lida foi multiplicada por 7,8. O resultado foi expresso em miligramas de malonaldeído por quilograma de amostra.

A percentagem de inibição da oxidação lipídica proporcionada pelos tratamentos foi calculada conforme descrito por Tang et al. (2001). A soma dos valores de TBARS de todos os dias analisados para amostras controle e tratadas, foi usada para calcular a percentagem de inibição da oxidação lipídica, através da fórmula:

$$(\text{controle} - \text{tratamento}) \div \text{controle} \times 100$$

2.6 Determinação da cor

Foi realizada utilizando-se o sistema CIE em aparelho Minolta Chroma Meter CR-300, através da leitura dos parâmetros L^* (que representa a percentagem de luminosidade, preto 0% e branco 100%), a^* ($-a^*$ verde e $+a^*$ vermelho) e b^* ($-b^*$ azul e $+b^*$ amarelo). As leituras foram realizadas à temperatura ambiente na superfície das amostras de carne de frango, em quadruplicata para cada amostra avaliada.

2.7 Análise sensorial

A análise sensorial foi realizada logo após o descongelamento das amostras, que foram colocadas em formas de alumínio e assadas por 1 h em forno de fogão a gás doméstico, com a temperatura interna do forno de 180 a 210 °C. Foi realizado o teste de aceitação utilizando escala afetiva para avaliação dos atributos sensoriais de cor, aroma, sabor e textura, segundo método descrito por Minim (2006), no qual o valor 1 correspondeu a 'desgostei extremamente' e 9, 'gostei extremamente'. O painel de julgadores foi composto por 35 provadores não treinados.

2.8 Análise estatística

O desenho experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com um controle e cinco tratamentos sem repetições, totalizando seis unidades experimentais. Os dados foram coletados em triplicata para determinação de compostos fenólicos totais e determinação do índice de TBARS. A análise estatística dos dados obtidos em todas as análises, inclusive na análise sensorial, foi realizada por meio da análise de variância (ANOVA) e diferenças significativas entre as médias foram determinadas pelo teste de Tukey, com o nível de significância de 5% (COSTA NETO, 1977).

3 Resultados e discussão

Através da Tabela 1, observa-se que o extrato hidroetanólico de caqui cv. Rama Forte apresentou 1.007,88 mg GAE.100 mL⁻¹ de extrato na determinação

Oxidação lipídica, características sensoriais e cor da carne de frango adicionada de extratos de caqui (*Diospyros kaki*, L.) e submetida a tratamento térmico

MILANI, L. I. G. et al.

Tabela 1. Quantidade de compostos fenólicos totais nos extratos hidroetanólicos de caqui cv. Quioto, cv. Rama Forte e erva-mate.

Extrato	Compostos fenólicos totais (mg GAE.100 mL ⁻¹)
Extrato hidroetanólico de caqui cv. Quioto	211,51 ^c
Extrato hidroetanólico de caqui cv. Rama Forte	1.007,88 ^b
Extrato hidroetanólico de erva-mate	4.942,67 ^a

*Médias com letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); GAE: equivalente em ácido gálico.

de compostos fenólicos totais, sendo superior ao do extrato de caqui cv. Quioto, que apresentou valor de 211,51 mg GAE.100 mL⁻¹ de extrato, ocorrendo diferença significativa ($p < 0,05$) entre os valores. Entretanto, a quantidade de compostos fenólicos presente no extrato de caqui cv. Rama Forte foi menor do que a quantidade apresentada pelo extrato de erva-mate, que foi de 4.942,67 mg GAE.100 mL⁻¹ de extrato, sendo também significativa essa diferença ($p < 0,05$).

Os fitoquímicos que apresentam em sua estrutura um anel aromático com uma ou mais hidroxilas recebem a denominação de compostos fenólicos e, geralmente, apresentam propriedade antioxidante (MELO e GUERRA, 2002). Vários estudos têm reportado a relação entre o conteúdo de compostos fenólicos e a atividade antioxidante de produtos vegetais (VELIOGLU et al., 1998). Neste experimento, foi verificado que apesar de o extrato de caqui cv. Rama Forte apresentar teor de compostos fenólicos significativamente menor que o extrato de erva-mate (Tabela 1), ambos os extratos apresentaram elevada inibição da oxidação lipídica (alta atividade antioxidante) na carne de frango, submetida ao tratamento térmico, pois os valores foram superiores a 90% (Figura 1). Isto sugere que provavelmente a concentração de compostos fenólicos não determina a atividade antioxidante do extrato, mas sim a natureza dos compostos fenólicos presentes, conforme destacou Asolini et al. (2006).

Park et al. (2006) observaram boa correlação entre a percentagem de inibição da oxidação e o conteúdo de compostos polifenólicos encontrados em caquis, ao utilizarem os testes de captura de radicais livres DPPH e ABTS. No presente estudo, o extrato de caqui cv. Rama Forte apresentou conteúdo de compostos fenólicos totais significativamente superior ao do extrato de caqui cv. Quioto. Esse fato deve ter influenciado na percentagem de inibição da oxidação lipídica ocorrida nas amostras de carne de frango durante o período de armazenamento a 4 °C (± 1 °C), o que pode ser visualizado na Figura 1.

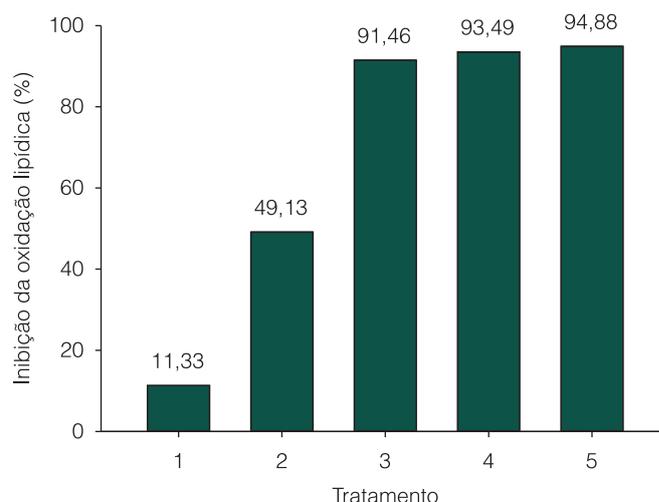


Figura 1. Inibição da oxidação lipídica nas amostras de carne de frango adicionadas dos extratos hidroetanólicos durante 14 dias de armazenamento a 4 °C (± 1 °C). Tratamento 1: 0,5% de extrato hidroetanólico de caqui cv. Quioto; Tratamento 2: 1,0% de extrato hidroetanólico de caqui cv. Quioto; Tratamento 3: 0,5% de extrato hidroetanólico de caqui cv. Rama Forte; Tratamento 4: 1,0% de extrato hidroetanólico de caqui cv. Rama Forte; Tratamento 5: 0,5% de extrato hidroetanólico de erva-mate.

O extrato de caqui cv. Rama Forte (0,5 e 1%) e o extrato de erva-mate 0,5% apresentaram inibição da oxidação lipídica de 91,46, 93,49 e 94,88%, respectivamente. O extrato de caqui cv. Quioto demonstrou menor percentagem de inibição da oxidação lipídica com valores de 11,33 e 49,13% quando adicionado na carne de frango nas concentrações de 0,5 e 1%, respectivamente. Os dados obtidos no presente experimento concordam com os obtidos por Katsube et al. (2004), os quais verificaram que o caqui adstringente mostrou alta atividade antioxidante, a qual foi constatada através da capacidade de sequestro de radicais DPPH e do teste de oxidação da LDL, enquanto o caqui não adstringente mostrou pequena atividade antioxidante.

Asolini et al. (2006) observaram que o extrato etanólico de erva-mate apresentou atividade antioxidante de 95% através do teste do β -caroteno e do ácido linoleico, sendo esse valor considerado de boa atividade antioxidante. Neste experimento, o extrato de erva-mate apresentou inibição da oxidação lipídica de 94,88%, enquanto o extrato de caqui cv. Rama Forte apresentou atividade antioxidante de 91,46% (0,5%) e 93,46% (1%) na carne de frango durante o período de armazenamento de 14 dias sob refrigeração (Figura 1). Estes dados demonstram que o extrato de caqui cv. Rama Forte apresentou boa atividade antioxidante.

Os valores de TBARS das amostras de carne de frango, logo após o tratamento térmico e durante o período

Oxidação lipídica, características sensoriais e cor da carne de frango adicionada de extratos de caqui (*Diospyros kaki*, L.) e submetida a tratamento térmico

MILANI, L. I. G. et al.

Tabela 2. Valores médios do índice de TBARS das amostras de carne de frango controle e das adicionadas dos extratos hidroetanólicos durante o período de armazenamento a 4 °C (± 1 °C).

TBARS (mg malonaldeído/Kg amostra)	Amostra					
	C	T1	T2	T3	T4	T5
Dia 0	1,83 ^a	1,50 ^b	1,02 ^c	0,21 ^d	0,23 ^d	0,20 ^d
Dia 3	2,51 ^a	2,52 ^a	1,38 ^b	0,31 ^c	0,30 ^c	0,19 ^c
Dia 7	4,66 ^a	4,12 ^b	2,83 ^c	0,42 ^d	0,32 ^{de}	0,25 ^e
Dia 10	5,83 ^a	5,08 ^b	2,31 ^c	0,51 ^d	0,23 ^e	0,15 ^e
Dia 14	5,91 ^a	5,17 ^b	3,01 ^c	0,32 ^d	0,27 ^d	0,27 ^d

* Médias na mesma linha não acompanhadas de mesma letra são significativamente diferentes pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância. C: carne de frango controle; T1: carne de frango adicionada de 0,5% de extrato hidroetanólico de caqui cv. Quioto; T2: carne de frango adicionada de 1,0% de extrato hidroetanólico de caqui cv. Quioto; T3: carne de frango adicionada de 0,5% de extrato hidroetanólico de caqui cv. Rama Forte; T4: carne de frango adicionada de 1,0% de extrato hidroetanólico de caqui cv. Rama Forte; T5: carne de frango adicionada de 0,5% de extrato hidroetanólico de erva-mate.

de armazenamento refrigerado, são mostrados na Tabela 2. Os valores iniciais (dia 0) das amostras submetidas aos tratamentos T1, T2, T3, T4 e T5 foram, respectivamente, 1,50; 1,02; 0,21; 0,23; 0,20 mg malonaldeído.kg⁻¹ amostra, os quais foram significativamente inferiores ao valor da amostra controle, que foi de 1,83 mg malonaldeído.kg⁻¹ amostra. Os valores de TBARS da amostra controle aumentaram com o aumento do tempo de estocagem, atingindo 5,91 mg malonaldeído.kg⁻¹ amostra no 14º dia, enquanto que os tratamentos T1, T2, T3, T4 e T5 obtiveram, respectivamente, 5,17, 3,01, 0,32, 0,27 e 0,27 mg malonaldeído.kg⁻¹ amostra no mesmo período, ocorrendo diferenças significativas entre eles.

Os tratamentos que continham, respectivamente, 0,5 e 1,0% de extrato de caqui cv. Rama Forte (T3 e T4) não apresentaram diferença significativa entre os valores de TBARS do tratamento com 0,5% de extrato de erva-mate (T5) em zero, 3º e 14º dias analisados. Nestes tratamentos, os valores de TBARS apresentaram pequeno aumento durante o período de armazenamento. O tratamento com 1% de extrato de caqui cv. Rama Forte (T4) apresentou valores sem diferença significativa ($p > 0,05$) do tratamento com 0,5% de extrato de erva-mate (T5) em todos os dias analisados e os valores de TBARS destas amostras variaram de 0,15 a 0,32 mg malonaldeído.kg⁻¹ amostra. Já nas amostras do controle, ocorreu maior aumento de TBARS e os valores obtidos variaram de 1,83 até 5,91 mg de malonaldeído por kg durante o armazenamento.

Com base nos valores de TBARS das amostras de carne de frango e nos valores de percentual de inibição da oxidação lipídica apresentados na Figura 1 e na Tabela 2, o extrato de caqui Rama Forte, que se caracteriza por ser adstringente, apresentou maior potencial antioxidante que o extrato de caqui cv. Quioto. Este extrato apresentou aumento no percentual de inibição da oxidação lipídica

quando ocorreu aumento na concentração para 1% nas amostras tratadas. Entretanto, a inibição da oxidação lipídica permaneceu abaixo de 50%. Apesar de os valores de TBARS terem sido significativamente inferiores aos obtidos pelas amostras controle, os mesmos foram superiores a 1,0 em todos os dias analisados e, segundo Trindade et al. (2008), odores de ranço podem ser detectados por provadores treinados e não treinados na faixa de 0,5-1,0 e 0,6-2,0 mg malonaldeído/kg amostra, respectivamente.

Hoffmann et al. (2003) verificaram que extratos brutos (aquoso e hidroetanólico) de caqui da cv. Taubaté, que se caracteriza por ser um caqui adstringente, apresentaram ação antioxidante a 0,5 e 1,0% em carne mecanicamente separada de frango (CMS) armazenada a 5 °C. Porém, quando armazenada a -18 °C, os valores de TBARS das amostras de CMS não apresentaram diferença significativa do controle. Já Hoffmann (2003) verificou que o extrato aquoso de caqui da cv. Taubaté a 1% na CMS de frango, que foi incorporada na relação de 30% à linguiça frescal, apresentou ligeira ação antioxidante, mas sem diferença significativa das amostras referência (CMS adicionada de 0,1% de extrato de alecrim sobre o teor de gordura) e do controle (CMS sem extrato).

Alguns experimentos têm demonstrado atividade antioxidante de extratos de erva-mate em produtos cárneos, o que vem de encontro aos dados obtidos neste experimento. Campos et al. (2007) trabalharam com salame e concluíram que a adição de 0,5% de extrato hidroetanólico de erva-mate controlou a oxidação lipídica, pois os valores de TBARS durante 60 dias de armazenamento foram baixos. Terra et al. (2008) verificaram que o extrato hidroetanólico de erva-mate a 0,5% apresentou atividade antioxidante em carne de peru moída submetida a tratamento térmico de 75 °C/20 min,

Oxidação lipídica, características sensoriais e cor da carne de frango adicionada de extratos de caqui (*Diospyros kaki*, L.) e submetida a tratamento térmico

MILANI, L. I. G. et al.

apresentando pequena redução de sua atividade antioxidante em presença de NaCl.

Terra et al. (2002) adicionaram o BHA e o extrato hidroetanólico de erva-mate na concentração de 0,5 e 1% em salame tipo italiano com objetivo de inibir a rancificação, e verificaram que ambas as concentrações empregadas apresentaram proteção frente à oxidação lipídica comparável à do BHA. Os tratamentos com extrato de erva-mate 0,5% e BHA obtiveram os melhores resultados sensoriais quando comparados aos tratamentos com o extrato de erva-mate 1% e controle. Verificaram que o extrato hidroetanólico de erva-mate 0,5%, além de inibir a oxidação lipídica, também melhorou a cor do salame. Neste experimento, como pode-se observar na Tabela 3, as amostras de carne de frango tratadas com 0,5% de extrato de erva-mate apresentaram notas significativamente inferiores ao controle e aos demais tratamentos nos quesitos cor e sabor, demonstrando assim que o extrato interferiu nestas características sensoriais.

Os tratamentos com os extratos de ambas as cultivares de caqui não provocaram alterações sensoriais significativas ($p > 0,05$) nas amostras tratadas, quando comparadas com as amostras controle (Tabela 3). Hoffmann (2003) verificou que a adição de extrato aquoso de caqui a 1% em CMS de frango, que foi incorporada na relação de 30% em linguiça, realçou o sabor, fato esse considerado relevante do ponto de vista sensorial. Segundo Velazco (2005), para que um antioxidante possa ser empregado em um alimento, deve ser seguro, fácil de incorporar e efetivo em baixas concentrações. Além disso, deve ser termoestável e livre de odor, sabor e cor. Desta forma, o extrato de caqui cv. Rama Forte poderia ser empregado como antioxidante em produtos cárneos, pois, além de proporcionar elevada inibição da oxidação lipídica na carne de frango moída adicionada de sal

e tratada termicamente, não alterou os seus atributos sensoriais.

Os valores de L^* , a^* e b^* para os diferentes tratamentos diferiram entre si ($p < 0,05$), sendo que nas amostras submetidas ao tratamento com 0,5% de extrato de erva-mate, os valores de L^* e a^* foram significativamente inferiores ao da amostra controle ($p < 0,05$), durante todo o período de armazenamento (Tabela 4).

Como pode ser constatado no diagrama de cromaticidade do sistema CIELAB, apresentado por Ramos e Gomide (2007), os valores menores de a^* significam maior tendência em direção à cor verde e menor em relação à cor vermelha, enquanto que os valores de L^* representam a percentagem de luminosidade, variando de preto (0%) a branco (100%). Desta forma, a redução do valor de L^* significa que a carne estava mais “escura” e a redução do valor de a^* significa que a carne estava mais “verde” e menos “vermelha” do que a amostra controle. Este fato possivelmente se deve ao extrato de erva-mate que apresentou coloração verde escura, o que provavelmente influenciou na coloração destas amostras, conferindo coloração marrom-esverdeada em detrimento à coloração avermelhada das amostras controle, o que foi percebido pelos avaliadores na análise sensorial.

Nos tratamentos com 0,5 e 1% de extrato de caqui cv. Rama Forte (T3 e T4), os valores de L^* e a^* apresentaram-se inferiores ao controle, porém com valores significativamente superiores ($p < 0,05$) aos obtidos pelas amostras tratadas com o extrato de erva-mate (T5) (Tabela 4). O extrato de caqui cv. Quioto apresentou menor interferência na coloração das amostras de carne de frango, embora, em alguns dias analisados, os valores de L^* e a^* tenham diferido significativamente das amostras controle.

Tabela 3. Médias das notas da análise sensorial (cor, aroma, sabor e textura) das amostras de carne de frango moída pertencentes ao grupo controle e aos grupos submetidos aos diferentes tratamentos, após 4 dias de armazenamento em congelamento a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Atributos sensoriais	Amostra					
	C	T1	T2	T3	T4	T5
Cor	6,82 ^{ab}	6,78 ^{ab}	7,17 ^a	6,65 ^{ab}	5,86 ^b	4,43 ^c
Aroma	7,04 ^a	6,91 ^a	6,78 ^a	6,60 ^a	6,52 ^a	6,13 ^a
Sabor	6,65 ^a	6,52 ^a	6,69 ^a	6,56 ^a	6,47 ^a	3,73 ^b
Textura	6,73 ^a	6,68 ^a	6,78 ^a	6,04 ^a	6,13 ^a	5,60 ^a

*Médias ($n = 35$) na mesma linha não acompanhadas de mesma letra são significativamente diferentes pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância. C: carne de frango controle; T1: carne de frango adicionada de 0,5% de extrato hidroetanólico de caqui cv. Quioto; T2: carne de frango adicionada de 1,0% de extrato hidroetanólico de caqui cv. Quioto; T3: carne de frango adicionada de 0,5% de extrato hidroetanólico de caqui cv. Rama Forte; T4: carne de frango adicionada de 1,0% de extrato hidroetanólico de caqui cv. Rama Forte; T5: carne de frango adicionada de 0,5% de extrato hidroetanólico de erva-mate.

Oxidação lipídica, características sensoriais e cor da carne de frango adicionada de extratos de caqui (*Diospyros kaki*, L.) e submetida a tratamento térmico

MILANI, L. I. G. et al.

Tabela 4. Médias dos parâmetros L*, a* e b*, entre as amostras de carne de frango controle e as adicionadas dos extratos hidroetanólicos durante o período de armazenamento a 4 °C (± 1 °C).

	C	T1	T2	T3	T4	T5
Dia 0						
Parâmetro L*	64,93 ^{b**}	66,25 ^a	64,32 ^b	60,65 ^c	59,98 ^c	57,33 ^d
Parâmetro a*	16,00 ^a	16,21 ^a	14,19 ^c	15,11 ^b	13,75 ^c	7,19 ^d
Parâmetro b*	17,30 ^c	18,81 ^a	17,76 ^b	16,57 ^d	16,62 ^d	18,08 ^b
Dia 3						
Parâmetro L*	60,05 ^{ab}	61,02 ^a	59,49 ^{bc}	59,39 ^{bc}	58,14 ^c	56,61 ^d
Parâmetro a*	12,09 ^a	11,28 ^b	11,59 ^{ab}	9,41 ^d	10,10 ^c	4,02 ^e
Parâmetro b*	12,63 ^b	12,76 ^{ab}	13,25 ^a	11,36 ^c	11,66 ^c	12,83 ^{ab}
Dia 7						
Parâmetro L*	59,20 ^b	61,70 ^a	59,09 ^{bc}	57,63 ^c	57,80 ^{bc}	55,14 ^d
Parâmetro a*	12,15 ^a	10,71 ^b	10,62 ^b	9,43 ^c	9,91 ^c	4,20 ^d
Parâmetro b*	12,85 ^a	12,54 ^{ab}	12,85 ^a	11,05 ^d	11,73 ^c	12,28 ^b
Dia 10						
Parâmetro L*	61,58 ^a	60,96 ^a	58,45 ^b	57,18 ^b	57,16 ^b	55,20 ^c
Parâmetro a*	11,54 ^a	10,46 ^b	10,26 ^b	9,48 ^c	9,56 ^c	4,10 ^d
Parâmetro b*	13,31 ^a	12,63 ^b	12,94 ^{ab}	10,56 ^d	11,97 ^c	12,02 ^c
Dia 14						
Parâmetro L*	60,27 ^a	60,23 ^a	58,97 ^a	57,08 ^b	56,72 ^b	55,60 ^b
Parâmetro a*	9,74 ^{ab}	9,03 ^c	9,95 ^a	9,47 ^{abc}	9,25 ^{bc}	3,77 ^d
Parâmetro b*	13,37 ^a	12,84 ^b	12,98 ^{ab}	10,83 ^d	11,25 ^d	12,22 ^c

**Médias de cada dia analisado, na mesma linha, não acompanhadas de mesma letra são significativamente diferentes pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância, C: carne de frango controle; T1: carne de frango adicionada de 0,5% de extrato hidroetanólico de caqui cv. Quioto; T2: carne de frango adicionada de 1% de extrato hidroetanólico de caqui cv. Quioto; T3: carne de frango adicionada de 0,5% de extrato hidroetanólico de caqui cv. Rama Forte; T4: carne de frango adicionada de 1% de extrato hidroetanólico de caqui cv. Rama Forte; T5: carne de frango adicionada de 0,5% de extrato hidroetanólico de erva-mate.

Os valores de b*, que variam de azul (-b*) a amarelo (+b*), apresentaram menor variação e os valores obtidos entre as amostras tratadas apresentaram-se mais próximos uns aos outros, embora com diferença significativa em alguns dias analisados (Tabela 4).

4 Conclusões

Com base nos resultados obtidos no presente experimento, parece adequado concluir que o extrato hidroetanólico de caqui cv. Rama Forte apresentou elevado potencial antioxidante, podendo ser aproveitado na conservação de carne de frango moída, adicionada de NaCl e tratada termicamente, uma vez que o mesmo não provocou alterações perceptíveis pelo painel de julgadores nas características de cor, aroma, sabor e textura das amostras. Os extratos hidroetanólicos de caqui das cultivares Rama Forte e Quioto não interferiram nos requisitos sensoriais da carne de frango tratada termicamente, enquanto que o extrato hidroetanólico de erva-mate, além de alterar a cor das amostras, provocou alterações sensoriais.

Referências

AHN, J.; GRÜN; MUSTAPHA, A. Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef. **Food Microbiology**, London, v. 24, n. 1, p. 7-14, 2007.

ARAUJO, M. A. J. **Química dos Alimentos: Teoria e Prática**. 4. ed. Viçosa: Editora UFV, 2008. 596 p.

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

CAMPOS, R. M. L.; HIERRO, E.; ORDÓÑEZ, J. A.; BERTOL, T. M.; TERRA, N. N.; HOZ, L. Fatty acid and volatile compounds from salami manufactured with yerba mate (*Ilex paraguariensis*) extracts and pork fat and meat from pigs fed on diets with partial replacement of maize with rice bran. **Food Chemistry**, Washington, v. 103, n. 4, p. 1159-1167, 2007.

COSTA NETO, P. L. O. **Estatística**. São Paulo: Edgard Bluches, 1977. 264 p.

FILIP, R.; LOPEZ, P.; GIBERTI, G.; COUSSIO, J.; FERRARO, G. Phenolic Compounds in seven South American *Ilex* species. **Fitoterapia**, Novara, v. 72, n. 7, p. 774- 778, 2001.

GU, H. F.; LI, C. M.; XU, Y. J.; HU, F. W.; CHEN, M. H.; WAN, Q. H. Structural features and antioxidant activity of tannin from persimmon pulp. **Food Research International**, Ontario, v. 41, n. 2, p. 208-217, 2008.

HOFFMANN, R. S. H. **Antioxidante Natural na Proteção da Carne Mecanicamente Separada (CMS) de Frango**. 2003. 135

Oxidação lipídica, características sensoriais e cor da carne de frango adicionada de extratos de caqui (*Diospyros kaki*, L.) e submetida a tratamento térmico

MILANI, L. I. G. et al.

- f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)– Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2003.
- HOFFMANN, R. S. H.; DELLA LIBERA, R.; MILANI, L. I. G.; QUADROS, C. P.; FURTADO, A. S.; TERRA, N. N. Antioxidante natural na proteção da carne mecanicamente separada de frango. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 5, 2003, Campinas. **Anais...**, Campinas: Microservice, 2003. 1 CD-ROM.
- KARPINSKA, M.; BOROWSKI, J.; DANOWSKA-OZIEWICZ, M. The use of natural antioxidants in ready-to-serve food. **Food Chemistry**, Washington, v. 72, n. 1, p. 5-9, 2001.
- KATSUBE, T.; TABATA, H.; OHTA, Y.; YAMASAKI, Y.; ANUURAD, E.; SHIWAKU, K.; YAMANE, Y. Screening for antioxidant activity in edible plant products: comparison of low-density lipoprotein oxidation assay, DPPH radical scavenging assay, and Folin-Ciocalteu assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 8, p. 2391-2396, 2004.
- MELO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 36, n. 1, p. 1-11, 2002.
- MINIM, V. P. R. **Análise Sensorial: Estudos com Consumidores**. Viçosa: Editora UFV, 2006. 225 p.
- PARK, Y. S.; JUNG, S. T.; KANG, S. G.; DELGADO-LICON, E.; AYALA, A. L. M.; TAPIA, M. S.; MARTIN-BELLOSO, O.; TRAKHTENBERG, S.; GORINSTEIN, S. Drying of persimmons (*Diospyros kaki* L.) and the following changes in the studied bioactive compounds and the total radical scavenging activities. **Food Science and Technology - LWT**, Zurich, v. 39, n. 7, p. 748-755, 2006.
- PEREIRA, M. G. **Aplicação de Antioxidantes Naturais em Carne Mecanicamente Separada (CMS) de Ave**. 2009. 125 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)– Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.
- RAHARJO, S.; SOFOS, J. N.; SCHMIDT, G. R. Improved speed, specificity, and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid – C₁₈ method for measuring lipid peroxidation in beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 40, n. 12, p. 2182-2185, 1992.
- RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da Qualidade de Carnes: Fundamentos e Metodologia**. Viçosa: Editora UFV, 2007. 599 p.
- SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, Pasadena, v. 299, p.152-178, 1999.
- 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**, Ontario, v. 34, n. 8, p. 651-657, 2001.
- TERRA, N. N.; DE CARLI, E. M.; TELLES, M. M.; DREHMER, A. M. F.; QUADROS, C. P.; MALHEIROS, P. S.; WAGNER, R.; FRIES, L. L. M. Antioxidante natural na melhoria da qualidade do salame tipo italiano. In: SIMPÓSIO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 2., 2002, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: UFSC, 2002. 1 CD-ROM.
- 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. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 22, n. 166, p. 189-193, 2008.
- TRINDADE, M. A.; NUNES, T. P.; CONTRERAS-CASTILLO; FELÍCIO, P. E. Estabilidade oxidativa e microbiológica em carne de galinha mecanicamente separada e adicionada de antioxidantes durante período de armazenamento a -18°C. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 1, p. 160-168, 2008.
- VELAZCO, J. Aplicación de antioxidantes naturales em productos cárnicos. **Carnetec**, Chicago, v. 12, n. 1, p. 35-37, 2005.
- VELIOGLU, Y. S.; NAZZA, G.; GAO, L.; OOMAH, B. D. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, n. 10, p. 4113-4117, 1998.
- WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R. L. Total antioxidant capacity of fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 44, n. 3, p. 701-705, 1996.
- ZHAO, B.; HALL, C. A. Composition and antioxidant activity of raisin extracts obtained from various solvents. **Food Chemistry**, Washington, v. 108, n. 2, p. 511-518, 2008.

4.2 Artigo 2

Artigo Científico publicado no **Brazilian Journal of Food Technology**,
Campinas, v.15, n.2, p.118-124, 2012, DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1981-67232012005000003>

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DE EXTRATOS DE CAQUI (*Diospyros kaki* L.) cv. RAMA FORTE

Atividade antioxidante e antimicrobiana *in vitro* de extratos de caqui (*Diospyros kaki* L.) cultivar Rama Forte

In vitro antioxidant and antimicrobial properties of persimmon (*Diospyros kaki* L. cv. Rama Forte) extracts

Autores | Authors

✉ Liana Inês Guidolin MILANI

Universidade Federal de Santa Maria
(UFSM)
Departamento de Tecnologia e Ciência dos
Alimentos (DTCA)
Av. Roraima, 1000, Prédio 42, Bairro
Camobi
CEP: 97105-900
Santa Maria/RS - Brasil
e-mail: lianamilani@yahoo.com.br

Nelcindo Nascimento TERRA Leadir Lucy Martins FRIES Alexandre José CICHOSKI Ana Paula de Souza REZER Ângela Maria BACKES Carline Gass PARODIA

Universidade Federal de Santa Maria
(UFSM)
Departamento de Tecnologia e Ciência dos
Alimentos (DTCA)
Santa Maria/RS - Brasil
e-mail: nelcindo@terra.com.br
lucymicro@yahoo.com.br
cijoale@gmail.com
anarezer@bol.com.br
angebackes@yahoo.com.br
caparodia@gmail.com

✉ Autor Correspondente | Corresponding Author

Recebido | Received: 27/04/2011
Aprovado | Approved: 29/11/2011
Publicado | Published: jun./2012

Resumo

Atualmente, as atividades antioxidante e antimicrobiana de vários compostos fenólicos e de extratos de plantas têm sido avaliadas em muitos experimentos. O objetivo deste estudo foi elaborar o extrato hidroetanólico bruto de caqui (*Diospyros kaki* L.) cultivar Rama Forte e fracioná-lo empregando solventes com diferentes polaridades, para posteriormente determinar os compostos fenólicos totais e verificar as atividades antioxidante e antimicrobiana *in vitro* tanto do extrato hidroetanólico bruto de caqui como das frações hexânica, clorofórmica, de acetato de etila e da fração residual, obtidas a partir do mesmo. Os compostos fenólicos totais foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu; a atividade antioxidante, por meio do método da captura do radical livre 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH), e a atividade antimicrobiana pelo método de difusão em disco. O teor de compostos fenólicos do extrato hidroetanólico bruto de caqui, da fração residual, da fração acetato de etila, da fração hexânica e da fração clorofórmica foram de 1.277,94, 1.231,23, 37,24, 17,60 e 11,48 mg GAE.100 mL⁻¹, respectivamente. O extrato hidroetanólico bruto de caqui e a fração residual apresentaram maior teor de compostos fenólicos e maior atividade antirradical frente ao DPPH do que as demais frações testadas, com valores de IC₅₀ de 0,2467 e 0,2567 mg.mL⁻¹, respectivamente. O extrato de caqui e as frações não apresentaram atividade antimicrobiana *in vitro* sobre os microrganismos testados. Os resultados demonstraram que o extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte e a fração residual contêm quantidade suficiente de compostos fenólicos capaz de contribuir positivamente na atividade antioxidante.

Palavras-chave: Caqui; *Diospyros kaki* L.; Atividade antioxidante; Atividade antimicrobiana; Compostos fenólicos.

Summary

The antioxidant and antimicrobial properties of various phenolic compounds and plant extracts have been evaluated in many experiments. The aim of this study was to obtain a crude hydroethanolic extract of persimmon (*Diospyros kaki* L.) cv. Rama Forte and fraction it using solvents with different polarities. Subsequently the total phenolic compounds and *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities were determined in the crude hydroethanolic extract of persimmon, as well as in the hexane, chloroform, ethyl acetate and residual fractions obtained from it. The total phenolic compounds were determined by the Folin-Ciocalteau method, the antioxidant activity by the free radical scavenging 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method, and the antimicrobial activity by the disc diffusion method. The phenolic compound contents of the crude hydroethanolic extract of persimmon cv. Rama Forte, the residual aqueous fraction, ethyl acetate fraction, hexane fraction and chloroform fraction were, respectively, 1277.94, 1231.23, 37.24, 17.60 and 11.48 mg GAE.100 mL⁻¹. The crude hydroethanolic extract of persimmon cv. Rama Forte and the residual fraction showed the highest contents of phenolic compounds and highest anti-radical activities against DPPH, as compared to the other fractions tested, with IC₅₀ values of 0.2467 and 0.2567 mg.mL⁻¹, respectively. The persimmon extract and fractions showed no *in vitro* antimicrobial activity against the microorganisms tested. The results showed that the crude hydroethanolic extract of persimmon cv. Rama Forte and the residual fraction contained sufficient amounts of phenolic compounds to contribute positively to the antioxidant activity.

Key words: Persimmon; *Diospyros kaki* L.; Antioxidant activity; Antimicrobial activity; Phenolic compounds.

Atividade antioxidante e antimicrobiana *in vitro* de extratos de caqui (*Diospyros kaki* L.) cv. Rama Forte

MILANI, L.I.G. et al.

1 Introdução

Vários estudos têm evidenciado os potenciais antioxidante e antimicrobiano de uma grande variedade de frutas e de vegetais (TAGURI et al., 2006; ASOLINI et al., 2006). O consumo frequente de frutas e vegetais tem sido associado à baixa incidência de doenças degenerativas, tais como câncer, doenças cardíacas, inflamatórias e do sistema imunológico, além de disfunções neurológicas e de cataratas. Esses fatos estão relacionados com a presença de vários compostos antioxidantes nas frutas e nos vegetais (WANG et al., 1997; FOGLIANO et al., 1999).

Os antioxidantes têm como função impedir que os radicais livres danifiquem as células e os tecidos (FOGLIANO et al., 1999). Na indústria alimentícia, o uso de antioxidantes não é recente; no entanto, nota-se uma tendência em substituir antioxidantes artificiais por naturais (AMAROWICZ et al., 2004).

As principais classes de antioxidantes que podem estar presentes naturalmente nos alimentos são os compostos fenólicos (ácidos fenólicos, flavonoides e taninos), carotenoides, tocoferóis, ácido ascórbico e seus derivados (VELIOGLU et al., 1998; AMAROWICZ et al., 2004). Os compostos fenólicos têm recebido muita atenção nos últimos anos, sobretudo por inibirem a peroxidação lipídica e a lipoxigenase *in vitro* (SOUSA et al., 2007). A ação desses antioxidantes pode ocorrer por meio de oxiredução, em que eles próprios seriam os reagentes, ou por interação com metais de transição (Fe^{+2} e Cu^{+2}). Os polifenóis são efetivos doadores de hidrogênio e seu potencial antioxidante está correlacionado com o número e a posição dos grupos hidroxílicos e conjugações, assim como com a presença de elétrons doadores no anel aromático B, por causa da capacidade que esse anel aromático tem de suportar o desapareamento de elétrons localizado no sistema de elétrons π (RAMIREZ-TORTOZA et al., 2001).

A atividade antibacteriana de vários polifenóis e extratos de plantas também foi avaliada em estudos farmacêuticos e em alimentos (TAGURI et al., 2006; AHN et al., 2007). Alguns compostos fenólicos tais como os de sálvia, alecrim, tomilho, lúpulo, coentro, chá, cravo e manjeriço são conhecidos por possuírem efeitos antimicrobianos contra patógenos alimentares (AHN et al., 2007).

O caqui é uma fruta que contém alto teor de polifenóis, incluindo flavonoides, ácido gálico, ácido p-cumárico, catequinas e taninos condensados; dessa forma, vários pesquisadores têm se dedicado ao estudo de suas propriedades antioxidantes (GORINSTEIN et al., 2001; PARK et al., 2006; GU et al., 2008; CHEN et al., 2008; MILANI et al., 2010) e antimicrobianas (MILANI et al., 2009).

Baseando-se nesses fatores, este experimento se propôs a elaborar o extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte, depois fracioná-lo utilizando-se solventes com diferentes polaridades, visando uma semipurificação das substâncias presentes no extrato por meio de suas polaridades. Posteriormente, determinar os compostos fenólicos totais, as atividades antioxidante e antimicrobiana *in vitro* do extrato hidroetanólico bruto de caqui, bem como das frações hexânica, clorofórmica, de acetato de etila e da fração residual, sendo estas obtidas a partir do referido extrato.

2 Material e métodos

2.1 Obtenção dos extratos

Caquis (*Diospyros kaki* L.) da cultivar Rama Forte, provenientes de um pomar comercial de Nova Pádua-RS, foram colhidos em março de 2010. Foi utilizada uma caixa de caqui contendo 12 quilos, que foram desidratados em estufa com circulação de ar forçada a 60 °C por 48 horas e, posteriormente, foram reduzidos a pó. O preparo do extrato hidroetanólico bruto de caqui e seu fracionamento com solventes de polaridade crescente foram realizados conforme descrição de Milani et al. (2009). Para o preparo do extrato hidroetanólico bruto de caqui, foi utilizada solução hidroetanólica (etanol 80%) e caqui, na proporção de 20%. Foram preparados 150 mL de extrato hidroetanólico bruto de caqui, que foram divididos em duas partes, sendo que uma das partes foi utilizada para os testes de determinação da atividade antimicrobiana, da atividade antioxidante e dos compostos fenólicos totais e a outra parte foi utilizada para o fracionamento. A partir da mesma amostra de caqui desidratado, foram elaborados três extratos hidroetanólicos brutos, que foram submetidos ao fracionamento separadamente. Na etapa do fracionamento, o extrato hidroetanólico bruto de caqui foi extraído inicialmente com n-hexano, depois com clorofórmio e com acetato de etila, seqüencialmente, originando as frações hexânica, clorofórmica, de acetato de etila e o resíduo, que foi considerado a fração residual. Após a obtenção das frações, o solvente foi totalmente eliminado em rotaevaporador (Fisatom® 802) com vácuo de -760 mmHg e temperatura da água do banho a 44 °C (± 1 °C) e a parte sólida remanescente foi resuspensa em água destilada esterilizada. O extrato hidroetanólico bruto e as frações assim que obtidas foram colocados em frascos de vidro âmbar ao abrigo da luz e mantidos a 4 °C (± 1 °C) até o momento de serem utilizados para a determinação de compostos fenólicos totais e atividades antioxidante e antimicrobiana *in vitro*.

2.2 Determinação de compostos fenólicos totais

Para determinar os compostos fenólicos totais do extrato hidroetanólico bruto e das quatro frações

Atividade antioxidante e antimicrobiana *in vitro* de extratos de caqui (*Diospyros kaki* L.) cv. Rama Forte

MILANI, L.I.G. et al.

(hexânica, clorofórmica, acetato de etila e residual), utilizou-se o método de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton et al. (1999). As amostras foram diluídas com água destilada e filtradas em papel filtro qualitativo com gramatura de 80 g.m⁻². Misturou-se 0,5 mL desse filtrado com 2,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu 0,2 N e, após 5 min, adicionaram-se 2 mL de solução de carbonato de sódio (75 g.L⁻¹). Após repouso de 2 h em temperatura ambiente, a absorbância foi medida a 760 nm contra o branco, que consistiu de metanol. A absorbância da amostra foi comparada com a curva padrão de ácido gálico (concentrações de 0 a 15 mg de ácido gálico.100 mL⁻¹) e aplicou-se a Equação 1:

$$Y = 0,1247X + 0,0334 \quad (1)$$

na qual Y = absorbância, X = concentração e R² = 0,9986. O conteúdo total de fenólicos foi expresso em mg equivalente de ácido gálico por 100 mL de extrato (mg GAE.100 mL⁻¹). Foram realizadas três repetições, para a determinação de compostos fenólicos totais dos três extratos hidroetanólicos brutos de caqui elaborados e das respectivas frações, sendo os dados submetidos à análise de variância (ANOVA), e comparados pelo teste de Tukey, a 5% de significância (COSTA NETO, 1977).

2.3 Determinação da atividade antioxidante *in vitro*

A atividade antioxidante foi avaliada por meio da capacidade de sequestro de radicais livres 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), pelo extrato hidroetanólico bruto e pelas quatro frações em diferentes concentrações, utilizando-se a metodologia descrita por Gaio (2008) com algumas modificações. Utilizou-se o espectrofotômetro SP-220 da marca Biospectro e as leituras foram realizadas a 517 nm. Incubaram-se durante 10 min 5 mL de soluções contendo concentrações crescentes dos extratos e das quatro frações em teste com 5 mL de uma solução etanólica de DPPH 0,1 mM. As diluições dos extratos e das frações foram realizadas em etanol 80%. Procedeu-se da mesma maneira para a preparação da solução denominada "controle", porém substituíram-se 5 mL da amostra diluída por 5 mL de solvente (etanol 80%). Para a solução denominada "branco", utilizou-se etanol 80% e a amostra em cada concentração a ser testada, visando-se minimizar a interferência de componentes dos extratos na leitura (CHOI et al., 2002).

O percentual de captação do radical DPPH foi calculado em termos de porcentagem e expresso como atividade antioxidante (AA%), conforme a Equação 2:

$$AA(\%) = 100 - \left\{ \frac{(\text{Abs}_{\text{amostra}} - \text{Abs}_{\text{branco}}) \times 100}{\text{Abs}_{\text{controle}}} \right\} \quad (2)$$

Os resultados foram plotados em gráfico de atividade antioxidante (AA%) versus concentração e os valores de IC₅₀ (concentração dos extratos ou das frações em teste necessária para capturar 50% do radical livre

DPPH); estimados de acordo com a equação da curva, baseada em modelo sigmoidal (PEREIRA, 2009). O extrato oleoso de alecrim (Tasteguard, código/GIN 699994, Chr. Hansen®), que é um antioxidante natural empregado em alimentos, foi utilizado neste experimento como controle positivo, nas mesmas concentrações das amostras em teste. As análises foram realizadas em triplicata nas três repetições do extrato hidroetanólico bruto de caqui elaborado e nas respectivas frações obtidas. Os valores do gráfico foram apresentados como média (±desvio padrão). Os valores de IC₅₀ foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparados pelo teste de Tukey, a 5% de significância (COSTA NETO, 1977).

2.4 Determinação da atividade antimicrobiana *in vitro*

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

3 Resultados e discussão

O extrato hidroetanólico bruto de caqui e a fração residual apresentaram valores de compostos fenólicos de 1.277,94 e 1.231,23 mg GAE.100 mL⁻¹, respectivamente; estes não diferiram significativamente entre si, mas foram significativamente superiores aos valores de compostos fenólicos das frações obtidas com o n-hexano, o clorofórmio e o acetato de etila (Tabela 1).

A fração hexânica, a fração clorofórmica e a de acetato de etila apresentaram valores de 17,60, 11,48 e

Atividade antioxidante e antimicrobiana *in vitro* de extratos de caqui (*Diospyros kaki* L.) cv. Rama Forte

MILANI, L.I.G. et al.

37,24 mg GAE.100 mL⁻¹, respectivamente, e não diferiram significativamente entre si (Tabela 1). A fração hexânica e a clorofórmica foram as que apresentaram os menores valores de compostos fenólicos, provavelmente em razão das características apolares desses solventes, que lhes conferem menor afinidade pelos compostos fenólicos (SIMÕES et al., 2001).

O teor de compostos fenólicos apresentou-se mais elevado na fração residual e no extrato hidroetanólico bruto, o que significa que a maioria dos compostos fenólicos presentes no extrato hidroetanólico bruto de caqui não apresenta solubilidade nos solventes n-hexano, clorofórmio e acetato de etila utilizados no fracionamento, permanecendo na fração residual. Segundo Caetano et al. (2009), a solubilidade dos compostos fenólicos em um determinado solvente é uma característica peculiar da composição química da planta ou da fruta, o que explica a inexistência de um procedimento universal padrão, apontando para a necessidade de seleção criteriosa do método de extração para cada fonte natural de antioxidante.

Os teores de compostos fenólicos do extrato hidroetanólico bruto de caqui cultivar Rama Forte e das quatro frações foram maiores do que os obtidos por Milani et al. (2009), que elaboraram extrato hidroalcoólico bruto de caqui cultivar Quioto, cujo teor de compostos fenólicos foi de 232,12 mg GAE.100 mL⁻¹. Após fracioná-lo, com o emprego dos mesmos solventes e procedimentos utilizados neste experimento, os autores verificaram que a fração residual apresentou valor de 187,35 mg GAE.100 mL⁻¹, seguida pela fração acetato de etila (28,88 mg.mL⁻¹), pela fração clorofórmica (4,75 mg.mL⁻¹) e pela fração hexânica (2,09 mg.mL⁻¹). Embora não tenham ocorrido diferenças nas metodologias utilizadas no processo de extração nos dois experimentos para elaboração dos extratos de caqui (cv. Rama Forte e cv. Quioto), os diferentes teores de compostos fenólicos encontrados estariam relacionados à cultivar, uma vez que, comparativamente, as cultivares não adstringentes de caquis parecem ter muito menos polifenóis, catequinas

e taninos do que os tipos adstringentes (KATSUBE et al., 2004; SUZUKI et al., 2005; VEBERIC et al., 2010).

Vários estudos têm reportado a relação entre o conteúdo de compostos fenólicos e a atividade antioxidante de produtos vegetais (VELIOGLU et al., 1998; KATSUBE et al., 2004; CHEN et al., 2008). Park et al. (2006) observaram elevada correlação entre o conteúdo de compostos polifenólicos encontrados em extratos de caqui (*Diospyros kaki* L. var. Triumph) e a porcentagem de inibição da oxidação por meio do teste de captura de radicais livres DPPH. Tais resultados concordam com os obtidos no presente experimento, uma vez que o extrato oleoso de alecrim, o extrato hidroetanólico bruto de caqui e a fração residual, que apresentaram os maiores teores de compostos fenólicos, também apresentaram a maior atividade antioxidante e, conseqüentemente, apresentaram os menores valores de IC₅₀ (Tabela 1; Figura 1).

Rosso (2006) verificou diminuição da atividade antirradical à medida que os extratos de acerola e açáí foram sendo purificados, apresentando também correlação direta com a diminuição dos teores de polifenóis,

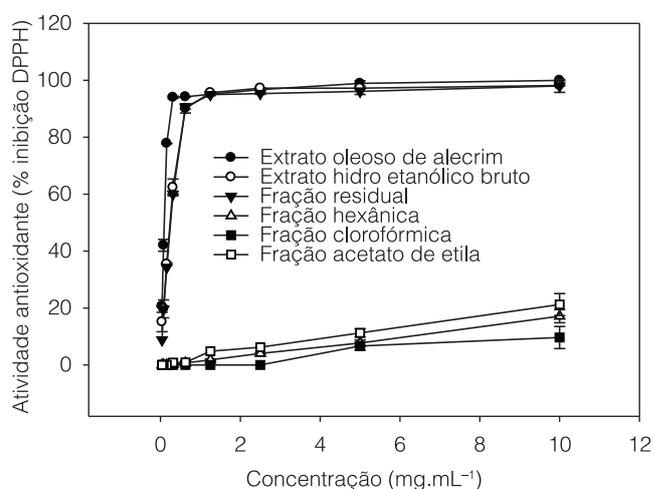


Figura 1. Atividade antioxidante do extrato hidroetanólico bruto de caqui, das frações e do extrato oleoso de alecrim pelo método de capacidade de sequestro do radical DPPH.

Tabela 1. Quantidade de compostos fenólicos totais e valores de IC₅₀ do extrato hidroetanólico bruto de caqui, das frações e do extrato oleoso de alecrim.

	Compostos fenólicos totais (mg GAE.100 mL ⁻¹)	DPPH IC ₅₀ (mg.mL ⁻¹)
Extrato oleoso de alecrim	4.311,94* ± 30,35 ^{a**}	0,09667 ± 0,00577 ^a
Extrato hidroetanólico bruto	1.277,94 ± 43,20 ^b	0,2467 ± 0,01528 ^b
Fração residual	1.231,23 ± 30,48 ^b	0,2567 ± 0,005774 ^b
Fração hexânica	17,60 ± 2,19 ^c	>10
Fração clorofórmica	11,48 ± 0,723 ^c	>10
Fração acetato de etila	37,24 ± 6,63 ^c	>10

*Valor de compostos fenólicos para extrato oleoso de alecrim expresso em mg GAE.100 g⁻¹. **Valores médios ± desvio padrão, com letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (p < 0,05). >10: valor de IC₅₀ não calculado para as frações que promoveram inibição dos radicais livres DPPH inferior a 50%, até a maior concentração testada, ou seja, de 10 mg.mL⁻¹.

Atividade antioxidante e antimicrobiana *in vitro* de extratos de caqui (*Diospyros kaki* L.) cv. Rama ForteMILANI, L.I.G. *et al.*

flavonoides e ácido ascórbico dos extratos. Chun et al. (2003) também verificaram que a capacidade antioxidante dos extratos de ameixa variou proporcionalmente aos teores de polifenóis e flavonoides. No entanto, a soma das atividades antioxidantes de cada constituinte do extrato foi menor que a capacidade antioxidante total, caracterizando o efeito sinérgico de diversos constituintes dos extratos que não foram quantificados.

Os resultados obtidos no teste de capacidade de sequestro de radicais livres DPPH são apresentados na Figura 1, na qual se observa que o percentual antioxidante aumentou com o aumento da concentração do extrato hidroetanólico bruto de caqui e da fração residual até atingir a atividade antioxidante próxima a 100%. Na concentração de 1,25 mg.mL⁻¹, ocorreu o consumo de mais que 94% do radical DPPH (Figura 1). O extrato oleoso de alecrim, usado neste trabalho como controle positivo, promoveu o mesmo efeito anteriormente citado, mas em concentração inferior (0,3125 mg.mL⁻¹). Em contrapartida, nas frações de acetato de etila, na fração clorofórmica e na fração hexânica, o consumo do radical DPPH se situou abaixo de 22% na maior concentração testada, ou seja, 10 mg.mL⁻¹ (Figura 1).

A planta *Ginkgo biloba* é uma planta considerada com alta atividade antioxidante e apresentou um IC₅₀ de 0,04072 mg.mL⁻¹, em experimento conduzido por Mensor et al. (2001). Tal valor demonstra que o extrato hidroetanólico bruto de caqui (IC₅₀ 0,2467 mg.mL⁻¹) e a fração residual (IC₅₀ 0,2567 mg.mL⁻¹) apresentam menor atividade antioxidante quando comparada ao extrato oleoso de alecrim (IC₅₀ 0,09667 mg.mL⁻¹) e ao extrato da *Ginkgo biloba*.

Os resultados obtidos por Pereira (2009) para o IC₅₀, utilizando-se o método do DPPH, para o BHA (Butil Hidroxianisol), a catequina, o ácido gálico, o extrato de chá verde (Danisco®), o extrato de erva mate, a mistura de extrato de erva-mate e marcela, e para o extrato de marcela foram de 0,0149, 0,0107, 0,0060, 0,34, 1,32, 1,90 e 5,26 mg.mL⁻¹, respectivamente. Apesar de os valores de IC₅₀ do extrato hidroetanólico bruto de caqui e da fração residual serem maiores ao valor de IC₅₀ do extrato oleoso de alecrim, os mesmos situaram-se abaixo do valor obtido pelo referido autor para o extrato de chá verde. Note-se que, assim como o extrato oleoso de alecrim, o extrato de chá verde está disponível comercialmente para uso como antioxidante natural. Demonstra-se, dessa forma, que o extrato hidroetanólico bruto de caqui e a fração residual apresentam possibilidade de serem aplicados em alimentos, merecendo estudos mais avançados nesse sentido.

Na Figura 2, pode-se observar o halo de inibição do crescimento microbiano frente ao disco impregnado com cloranfenicol 30 µg (C+), que foi utilizado como controle positivo no teste de difusão em disco. O extrato

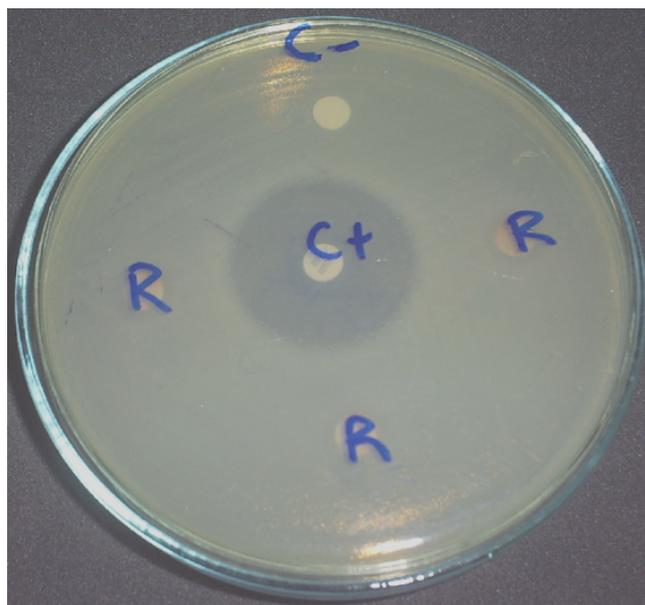


Figura 2. Placa de Petri com halo de inibição do crescimento microbiano frente ao disco impregnado com cloranfenicol 30 µg (C+), discos com o extrato em 3 repetições (R) e disco com água destilada (controle negativo, C-).

hidroetanólico bruto de caqui, as frações hexânica, clorofórmica, de acetato de etila e a fração residual não demonstraram atividade antimicrobiana sobre os microrganismos segundo o teste de difusão em disco (dados não apresentados). Em experimento conduzido por Taguri et al. (2006), no qual foi testada a atividade antibacteriana de 22 polifenóis puros ou parcialmente purificados, e de 26 extratos de plantas contra vários microrganismos (Gram-positivos, Gram-negativos, aeróbios, anaeróbios estritos e anaeróbios facultativos), o extrato de folhas de *Diospyros kaki* apresentou, em média, atividade antibacteriana fraca.

O resultado obtido no teste de difusão em disco sugere ausência de atividade antimicrobiana das substâncias presentes no extrato hidroetanólico bruto de caqui e nas frações, ou pequena concentração das mesmas, não atingindo a concentração inibitória mínima para os microrganismos em teste.

■ 4 Conclusões

Nas condições deste estudo, o extrato hidroetanólico bruto de caqui cultivar Rama Forte e sua fração residual apresentaram maior teor de compostos fenólicos que as demais frações testadas, além de a atividade de eliminação do radical DPPH ser também superior, sugerindo que os compostos fenólicos tiveram significativa contribuição na atividade antioxidante. Logo, sugere-se que o extrato hidroetanólico bruto de caqui cultivar Rama Forte e a fração residual apresentam possibilidade de serem aplicados em alimentos, merecendo estudos mais avançados nesse sentido.

Atividade antioxidante e antimicrobiana *in vitro* de extratos de caqui (*Diospyros kaki* L.) cv. Rama ForteMILANI, L. I. G. *et al.*

O extrato hidroetanólico bruto de caqui e as frações hexânica, clorofórmica, de acetato de etila e a fração residual não apresentaram atividade antimicrobiana contra as bactérias testadas.

Referências

- AHN, J.; GRÜN; I. U.; MUSTAPHA, A. Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef. **Food Microbiology**, London, v. 24, n. 1, p. 7-14, 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2006.04.006>
- AMAROWICZ, R.; PEGG, R. B.; RAHIMI-MOGHADDAM, P.; BARL, B.; WEIL, J. A. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. **Food Chemistry**, London, v. 84, p. 551-562, 2004. [http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00278-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00278-4)
- ASOLINI, F. C.; TEDESCO, A. M.; CARPES, S. T. Atividade antioxidante e antimicrobiana dos compostos fenólicos dos extratos de plantas usadas como chás. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 9, n. 3, p. 209-215, 2006.
- CAETANO, A. C. S.; MELO, E. A.; LIMA, V. L. A. G.; ARAUJO, C. R. Extração de antioxidantes de resíduos agroindustriais de acerola. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 155-160, 2009. <http://dx.doi.org/10.4260/BJFT2009800900006>
- CHEN, X. N.; FAN, J. F.; YUE, X.; WU, X. R.; LI, L. T. Radical scavenging activity and phenolic compounds in persimmon (*Diospyros kaki* L. cv. Mopan). **Journal of Food Science**, Chicago, v. 73, n. 1, p. 24-28, 2008. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00587.x>
- CHOI, C. W.; KIM, S. C.; HWANG, S. S.; CHOI, B. K.; AHN, H. J.; LEE, M. Y.; PARK, S. H.; KIM, S. K. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. **Plant science**, Davis, v. 163, p. 1161-1168, 2002. [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00332-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00332-1)
- CHUN, O. K.; KIM, O. D.; MOON, H. Y.; KANG, H. G.; LEE, C. Y. Contribution of individual polyphenolics to total antioxidant capacity of plums. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, p. 7240-7245, 2003. <http://dx.doi.org/10.1021/jf0343579>
- COSTA NETO, P. L. O. **Estatística**. São Paulo: Edgard Bluches, 1977. 264 p.
- FOGLIANO, V.; VERDE, V.; RANDAZZO, G.; RITIENI, A. Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 47, p. 1035-1040, 1999. <http://dx.doi.org/10.1021/jf980496s>
- GAIO, I. **Atividade Antimicrobiana e Antioxidante In vitro em Salame Tipo Italiano do Óleo Essencial de Manjeriço (*Ocimum basilicum* L.)**. 2008. 139 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)-Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2008.
- GORINSTEIN, S.; ZACHWIEJA, Z.; FOLTA, M.; BARTON, J. P.; PIOTROWICZ, M. Z.; ZEMSER, M.; WISZ, M.; TRAKHTENBERG, S.; BELLOSO, O. M. Comparative Contents of dietary fiber, total phenolics, and minerals in Persimmons and apples. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 49, p. 952-957, 2001. <http://dx.doi.org/10.1021/jf000947k>
- GU, H. F.; LI, C. M.; XU, Y. J.; HU, F. W.; CHEN, M. H.; WAN, Q. H. Structural features and antioxidant activity of tannin from persimmon pulp. **Food Research International**, Ontario, v. 41, n. 2, p. 208-217, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2007.11.011>
- KATSUBE, T.; TABATA, H.; OHTA, Y.; YAMASAKI, Y.; ANUURAD, E.; SHIWAKU, K.; YAMANE, Y. Screening for antioxidant activity in edible plant products: comparison of low-density lipoprotein oxidation assay, DPPH radical scavenging assay, and Folin-Ciocalteu assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 8, p. 2391-2396, 2004. <http://dx.doi.org/10.1021/jf035372g>
- MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; SANTOS, T. C.; CINTIA, S.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, Massachusetts, v. 15, n. 2, p. 127-130, 2001. [HTTP://dx.doi.org/10.1002/ptr.687](http://dx.doi.org/10.1002/ptr.687)
- MILANI, L. I. G.; TERRA, N. N.; FRIES, L. L. M.; REZER, A. A. S.; SILVA, L. S.; CAVALHEIRO, C. V. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de caqui (*Diospyros kaki*, L.) cv. Quioto. In: CONGRESO ARGENTINO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS - CYTAL®, 7., 2009, Concordia, Argentina. **Anais... Entre Ríos: Asociación Argentina de Tecnólogos Alimentarios**, Facultad de Ciencias de la Alimentación, 2009. 1 CD-ROM.
- MILANI, L. I. G.; TERRA, N. N.; FRIES, L. L. M.; REZER, A. P. S.; FERREIRA, S. F.; CICHOSKI, A. J.; VALENTE, C. R. F. Oxidação lipídica, características sensoriais e cor da carne de frango adicionada de extratos de caqui (*Diospyros kaki*, L.) e submetida a tratamento térmico. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 13, n. 4, p. 242-250, 2010. <http://dx.doi.org/10.4260/BJFT2010130400033>
- NACIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS - NCCLS. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**. 8. ed. Wayne: NCCLS, 2003. 58 p. NCCLS document M2-A8.
- PARK, Y. S.; Y. S.; JUNG, S. T.; KANG, S. G.; DELGADO-LICON, E.; AYALA, A. L. M.; TAPIA, M. S.; MARTIN-BELLOSO, O.; TRAKHTENBERG, S.; GORINSTEIN, S. Drying of persimmons (*Diospyros kaki* L.) and the following changes in the studied bioactive compounds and the total radical scavenging activities. **Food Science and Technology - LWT**, Zurich, v. 39, n. 7, p. 748-755, 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2005.05.014>

Atividade antioxidante e antimicrobiana *in vitro* de extratos de caqui (*Diospyros kaki* L.) cv. Rama Forte

MILANI, L.I.G. *et al.*

- PEREIRA, M. G. **Aplicação de Antioxidantes Naturais em Carne Mecanicamente Separada (CMS) de Ave**. 2009. 125 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.
- RAMIREZ-TORTOZA, C.; ANDERSEN, O. M.; GARDNER, P. T.; MORRICE, P. C.; WOOD, S. G.; DUTHIE, S. J.; COLLINS, A. R.; DUTHIE, G. G. Anthocyanin-rich extract decreases indices of lipid peroxidation and DNA damage in vitamin E depleted rats. **Free Radical Biology and Medicine**, San Diego, v. 46, p. 1033-1037, 2001. [http://dx.doi.org/10.1016/S0891-5849\(01\)00618-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0891-5849(01)00618-9)
- ROSSO, V. V. **Composição de Carotenoides e Antocianinas em Acerola: Estabilidade e Atividade Antioxidante em Sistemas-Modelo de Extratos Antociânicos de Acerola e de Açai**. 2006. 136 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos)-Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.
- SIMÕES, C. M. O. SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 3. ed. rev. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2001. 833 p.
- SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, Pasadena, v. 299, p. 152-178, 1999. [http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- SOUZA, C. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JUNIOR, G. M.; AYRES, M. C. A.; COSTA, C. L. C.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422007000200021>
- SUZUKI, T.; SOMEYA, S.; HU, F.; HU, F.; TANOKURA, M. Comparative study of catechin compositions in five Japanese persimmons (*Diospyros kaki*). **Food Chemistry**, London, v. 93, n. 1, p. 149-152, 2005. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.017>
- TAGURI, T.; TAKASHI, T.; KOUNO, I. Antibacterial spectrum of plant polyphenols and extracts depending upon hydroxyphenyl structure. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, Japão, v. 29, n. 11, p. 2226-2235, 2006.
- VEBERIC, R.; JURHAR, J.; MIKULIC-PETKOVSEK, M.; STAMPAR, F.; SCHMITZER, V. Comparative study of primary and secondary metabolites in 11 cultivars of persimmon fruit (*Diospiros kaki* L.). **Food Chemistry**, London, v. 119, n. 2, p. 477-483, 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.06.044>
- VELIOGLU, Y. S.; NAZZA, G.; GAO, L.; OOMAH, B. D. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, n. 10, p. 4113-4117. 1998. <http://dx.doi.org/10.1021/jf9801973>
- WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R. L. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 45, p. 304-309, 1997. <http://dx.doi.org/10.1021/jf960421t>

4.3 Artigo 3

Artigo em fase final de revisão pelos autores para ser submetido à revista

Ciência e Tecnologia de Alimentos

(configurado conforme as normas da revista)

EFEITO DOS EXTRATOS DE CAQUI (*DIOSPYROS KAKI* L.) CV. RAMA FORTE NA OXIDAÇÃO LIPÍDICA, CRESCIMENTO MICROBIANO E NA COR DA CARNE BOVINA TRATADA TERMICAMENTE

EFFECTS OF THE EXTRACT OF PERSIMMON (*DIOSPYROS KAKI* L.) CV. RAMA FORTE ON THE LIPID OXIDATION, MICROBIAL GROWTH AND THE COLOR OF THERMALLY TREATED BEEF

Liana Inês Guidolin MILANI^{1*}, Nelcindo Nascimento TERRA², Leadir Lucy Martins FRIES³, Alexandre José CICHOSKI⁴

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria.

² Departamento de Tecnologia e Ciência dos alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria. E-mail: nelcindo@terra.com.br

³ Departamento de Tecnologia e Ciência dos alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria. E-mail: lucymicro@yahoo.com.br

⁴ Departamento de Tecnologia e Ciência dos alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria. E-mail: ajcichoski@hotmail.com

* Autor para correspondência: Departamento de Tecnologia e Ciência dos alimentos, Centro de Ciências Rurais, Prédio 42, Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, Bairro Camobi, CEP: 97.105-900, Santa Maria, RS, Brasil. Telefone: 0 xx (55) 3220 – 8254, Fax: 0 xx (55) 3220 – 8353. E-mail: lianamilani@yahoo.com.br

RESUMO

Este estudo teve como objetivos obter extrato hidroetanólico bruto de caqui cultivar Rama Forte e fracioná-lo com os solventes n-hexano, clorofórmio e acetato de etila, a fim de observar a atividade antioxidante dos mesmos em carne bovina submetida à moagem, adicionada de NaCl e tratada termicamente. Também foi objetivo deste trabalho comparar a atividade antioxidante dos diferentes extratos, com a atividade do extrato oleoso de alecrim, assim como verificar o efeito na cor e na população de microrganismos aeróbios mesófilos das amostras durante período de armazenamento a 5°C. O extrato hidroetanólico bruto e as frações hexânica, clorofórmica, acetato de etila e a residual, em concentração de 0,5% promoveram inibição da oxidação lipídica nas amostras de carne bovina de 60,21%; 5,04%; 7,59%; 60,31% e 61,90%, respectivamente. Logo após a realização dos tratamentos, somente a amostra que continha a fração residual diferiu-se da amostra controle no parâmetro b^* , enquanto que os valores de a^* (cor vermelha) não foram influenciados pelos extratos no dia 0. Nenhum dos tratamentos modificou a contagem de microrganismos aeróbios mesófilos das amostras. O extrato hidroetanólico bruto, as frações de acetato de etila e residual, demonstraram potencial antioxidante, porém a 0,5% apresentaram atividade antioxidante inferior a do extrato oleoso de alecrim.

Palavras-chave: atividade antioxidante, atividade antimicrobiana, extrato natural, *Diospyros kaki* L.

ABSTRACT

This study aimed to develop a crude hydroethanolic extract of persimmon cv. 'Rama Forte' and to fraction it with n-hexane, chloroform and ethyl acetate solvents. The antioxidant activity in beef subjected to grinding, added with

NaCl, and thermally treated was checked. The antioxidant activities of the different extracts were compared with the activity of the oily extract of rosemary and the effect on the color and mesophilic aerobic count of samples during storage period at 5 °C was evaluated. The crude hydroethanolic extract as well as hexane, chloroform, ethyl acetate fractions and the residual fraction in the concentration of 0.5% promoted inhibition of lipid oxidation in the beef samples of 60.21%, 5.04%, 7.59%, 60.31%, and 61.90%, respectively. Soon after the completion of the treatment, only the sample containing the residual fraction differed from the control sample in the parameter b^* , whereas the values of a^* (red color) were not affected by the extracts on day 0. None of the treatments changed the count of mesophilic aerobic microorganisms of the samples. The crude hydroethanolic extract as well as the residual and ethyl acetate fractions showed antioxidant potential; however, at 0.5% they showed lower antioxidant activity than the oily extract of rosemary.

Keywords: antioxidant activity, antimicrobial activity, natural extracts, *Diospyros kaki* L.

1 INTRODUÇÃO

A oxidação lipídica é uma das principais causas da deterioração de alimentos cárneos, afetando a cor, o sabor, a textura e o valor nutricional. A deterioração oxidativa da carne envolve a oxidação dos ácidos graxos insaturados, que é catalisada pelas hemoproteínas, e também pelo ferro não-heme (ARAÚJO, 2008).

A carne moída e submetida a tratamento térmico é mais suscetível as reações de oxidação lipídica uma vez que os pigmentos da carne (que são potentes catalisadores), em contato com os lipídios, aceleram o processo oxidativo em velocidade maior que em músculo

intacto. Isso ocorre, porque o aquecimento libera o ferro da mioglobina e de outras metaloproteínas que aceleram a reação da oxidação dos fosfolipídios, e então ocorre a transformação da mioglobina em molécula pró-oxidante, induzindo assim à decomposição de peróxidos, e a desnaturação das enzimas protetoras que atuam no controle da oxidação (ARAUJO, 2008).

A adição de antioxidantes sintéticos, tais como butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT) e terc-butil hidroquinona (TBHQ) podem controlar a oxidação lipídica nos alimentos. Mas o uso destes antioxidantes tem sido questionado devido aos possíveis riscos que podem trazer a saúde e também devido sua toxicidade (MANSOUR; KHALIL, 2000). Neste contexto, ganha importância na área de carnes e em produtos cárneos, estudos sobre antioxidantes naturais, sem efeitos tóxicos.

Além da oxidação lipídica o crescimento microbiano e a cor são fatores importantes na vida de prateleira e, conseqüentemente, na aceitação dos produtos cárneos pelos consumidores (HAYES et al., 2010).

Frutas, legumes, cereais e especiarias têm despertado o interesse de pesquisadores já que apresentam, em sua constituição, compostos com ação antioxidante, dentre os quais se destacam os compostos fenólicos, carotenóides, tocoferóis e ácido ascórbico (DIMITRIUS, 2006). Alguns pesquisadores se dedicaram ao estudo das propriedades antioxidantes do caqui, principalmente através de testes *in vitro*, e atribuíram essa propriedade ao conteúdo relativamente alto de compostos fenólicos, incluindo ácido gálico, ácido cumárico, flavonóides, catequinas e taninos condensados (GORINSTEIN et al., 2001; AHN et al., 2002; PARK et al., 2006; GU et al., 2008). Estudo realizado com caquis cultivados no Japão verificou que os caquis taninosos possuem maior concentração de polifenóis do que os não taninosos. Essa diferença foi atribuída principalmente pela maior concentração de ácido gálico em caquis taninosos (SUZUKI et al., 2005).

Extratos vegetais têm se mostrado eficientes como antioxidantes em carnes e em produtos cárneos (AHN; GRÜN; FERNANDO, 2002; AHN; GRÜN; MUSTAPHA, 2007; NAVEENA et al., 2008; HAYES et al., 2010) e alguns têm demonstrado também atividade antimicrobiana (HSIEH; MAU; HUANG, 2001; AHN; GRÜN; MUSTAPHA, 2007; HAYES et al., 2010). Entretanto, o uso dos extratos vegetais naturais tem sido limitado devido os elevados custos, e a possível interferência que podem promover em nível de cor e sabor (MANSUR; KALIL, 2000). Segundo Mariutti e Bragagnolo (2007) o desenvolvimento de produtos para uso industrial que possam ser utilizados em baixas concentrações, e que não interfiram nas características sensoriais do produto final são de suma importância.

Considerando o exposto este experimento teve como objetivo elaborar extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte e fracioná-lo com diferentes solventes, visando obter a fração hexânica, depois a clorofórmica, a de acetato de etila e a residual, para posteriormente verificar a atividade antioxidante dos mesmos em carne bovina submetida à moagem, adicionada de NaCl e tratada termicamente a 75 °C (± 1 °C) durante 30 minutos. Outro objetivo foi comparar a atividade antioxidante dos diferentes extratos com a atividade do extrato oleoso de alecrim, e verificar o efeito dos mesmos na oxidação lipídica (TBARS), cor e no número de colônias de microrganismos aeróbios mesófilos presentes nas amostras.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparo do extrato hidroetanólico bruto e das frações

Caquis (*Diospyros kaki L.*) da cv. Rama Forte provenientes de um pomar comercial de Nova Pádua – RS foram colhidos em março de 2010. Para o preparo do extrato hidroetanólico bruto, os caquis foram desidratados em estufa com circulação de ar forçada a 60 °C durante 48 horas e posteriormente foram reduzidos a pó, em liquidificador. O preparo do extrato hidroetanólico bruto foi realizado de acordo com Milani et al. (2010) e o fracionamento do mesmo, com solventes de polaridade crescente (n-hexano, clorofórmio e

acetato de etila) foi conforme procedimentos descritos por Milani et al. (2009). Após a obtenção das frações, o solvente foi totalmente eliminado em rota evaporador, e o resíduo ressuspenso em água destilada esterilizada. Foram obtidas quatro frações; hexânica, clorofórmica, de acetato de etila e a fração residual. O extrato hidroetanólico bruto e as quatro frações assim que obtidas foram colocados em frascos de vidro âmbar e mantidos a 4 °C (± 1 °C) até o momento de serem utilizados.

2.2 Preparo, armazenamento e análises das amostras de carne bovina

Para a realização deste experimento foi utilizada carne de paleta bovina, adquirida em um supermercado de Santa Maria - RS. A carne foi moída inicialmente em disco de 10 mm e após em disco de 5 mm, adicionada de NaCl a 1,5% e homogeneizada em misturadeira (marca JAMAR[®], modelo MJ 35, Tupã, São Paulo). Posteriormente foi dividida em sete porções iguais de 1,0 kg, que determinaram os seguintes tratamentos: controle (C, sem adição de extrato), tratamento 1 (T1) adicionado de extrato hidroetanólico bruto de caqui, tratamento 2 (T2), adicionado da fração residual, tratamento 3 (T3) adicionado da fração hexânica, o tratamento 4 (T4), adicionado da fração clorofórmica, tratamento 5 (T5), adicionado da fração acetato de etila e tratamento 6 (T6), adicionado de 0,10%, sobre o teor de lipídios da carne, de extrato oleoso de alecrim, conforme instruções do fornecedor (Chr. Hansen[®]). Foram utilizados 0,5% de extrato hidroetanólico bruto de caqui e das frações, em relação à massa cárnea dos tratamentos. As porções de carne bovina do controle e as dos tratamentos foram divididas em partes de 100 gramas, as quais foram moldadas em forma de hambúrguer com 11 centímetros de diâmetro e tratadas termicamente a 75 °C (± 1 °C) por 30 minutos em estufa. Após o resfriamento (+25 °C) foram embaladas em filme transparente permeável ao oxigênio e armazenadas a 5 °C (± 1 °C), durante 20 dias. Foram determinadas as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), a cor (L^* , a^* e b^*) e a população de microrganismos aeróbios

mesófilos logo após o tratamento térmico e resfriamento das amostras (dia 0) e no 4°, 8°, 12°, 16° e 20° dia de armazenamento. Foram realizadas duas repetições por tratamento.

A carne apresentou teor de lipídios de 1,21 g% o qual foi determinado através do método do butirômetro (TERRA; BRUM, 1988). A adição da proporção de 0,5% do extrato hidroetanólico bruto e das frações em teste foi baseada em resultados preliminares, onde foi verificado que nesta concentração o extrato hidroetanólico bruto de caqui da cultivar Rama Forte apresentou boa atividade antioxidante e não provocou alterações sensoriais na amostra na qual foi adicionado (MILANI et al., 2010).

2.3 Oxidação lipídica

A estimativa da oxidação lipídica foi determinada pelo método de TBARS (substâncias resultantes da oxidação lipídica reativas ao ácido tiobarbitúrico), seguindo metodologia descrita por Raharjo, Sofos e Schmidt (1992), com modificações. Os tubos com as amostras e reativos foram colocados em banho Maria a 100 °C por 40 minutos (BRAGAGNOLO; DANIELSEN; SKIBSTED, 2005) e após resfriados procedeu-se a leitura em espectrofotômetro a 531 nm. A densidade ótica lida foi multiplicada por 7,8 (TANG et al., 2001). O resultado foi expresso em miligramas de malonaldeído por quilograma de amostra (mg MA/kg).

A porcentagem de inibição da oxidação lipídica proporcionada pelos extratos e frações empregados foi calculada conforme descrito por Tang et al. (2001), onde a soma dos valores de TBARS analisados para amostras controle e tratadas, foi usada para calcular a % de inibição da oxidação lipídica na carne bovina, através da fórmula: $(\text{Controle} - \text{Tratamento}) \div \text{Controle} \times 100$.

2.4 Determinação da cor

A determinação da cor foi realizada utilizando-se o sistema CIE em aparelho Chroma Meter CR- 300 (Minolta[®], Japão), através da leitura dos parâmetros L^* (que representa a

porcentagem de luminosidade, onde preto 0%, e branco 100%), a^* (onde $+a^*$ vermelho) e b^* (onde $+b^*$ amarelo). As leituras foram realizadas a temperatura ambiente na superfície das amostras de carne bovina, em quadruplicata para cada amostra avaliada.

2.5 Contagem de microrganismos aeróbios mesófilos em placas

Para determinar o número de colônias dos microrganismos aeróbios mesófilos em placas procederam-se as diluições adequadas, e as sementeiras foram realizadas em duplicata por plaqueamento em profundidade, empregando o Agar padrão para contagem (PCA) com incubação a $36\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ por 48 horas. Os resultados foram expressos em $\text{Log UFC}\cdot\text{g}^{-1}$ de amostra (BRASIL, 2003).

2.6 Análise estatística

O desenho experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com um controle e 6 tratamentos, totalizando 7 unidades experimentais. Os dados para a determinação de TBARS, cor e contagem de microrganismos aeróbios mesófilos foram coletados em quadruplicata. Todos dados foram avaliados através de análise de variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste de Tukey, considerando o nível de significância de 5% (COSTA NETO, 1977).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato hidro etanólico bruto de caquis e as frações deste extrato em teste influenciaram de forma distinta a oxidação lipídica das amostras de carne bovina tratadas termicamente e adicionadas de cloreto de sódio, durante o período de armazenamento refrigerado (Tabela 1). Logo após o cozimento e resfriamento (dia zero) as amostras não apresentaram valores de TBARS. Os valores de TBARS das amostras controle aumentaram no decorrer do período de armazenamento atingindo $1,308\text{ mg MA/kg}$ de amostra ($\text{mg de malonaldeído/ kg de amostra}$) no 20º dia de armazenamento. A amostra que

recebeu o tratamento com a fração hexânica (T3) apresentou valor de TBARS significativamente inferior (0,315 mg MA/kg de amostra) ao controle até o 8º dia de armazenamento, posteriormente elevou-se apresentando no final do período analisado 1,304 mg MA/kg de amostra, valor que não diferiu significativamente do controle. A amostra que recebeu a fração clorofórmica obteve 1,148 mg MA/kg de amostra no último dia de armazenamento, valor significativamente inferior ao obtido pelo controle. Já as amostras adicionadas do extrato hidroetanólico bruto (T1) e da fração residual (T2) apresentaram valores de TBARS significativamente inferiores aos valores apresentados pela amostra controle durante todo o período de armazenamento, mas os valores de T1 e T2 não diferiram entre si. No 20º dia de armazenamento ambas as amostras (T1 e T2) apresentaram valor de 0,450 mg MA/kg de amostra. Entretanto, esse valor foi significativamente superior ao obtido pelas amostras tratadas com o extrato oleoso de alecrim que obteve 0,243 mg MA/kg de amostra. Trindade et al. (2008) relataram que odores de ranço podem ser detectados por provadores treinados e não treinados com TBARS na faixa de 0,5 – 1,0 e 0,6 – 2,0 mg malonaldeído/kg amostra, respectivamente. Utilizando-se destes valores, apenas as amostras tratadas com o extrato hidroetanólico bruto (T1), com a fração residual (T2), com a fração obtida com acetato de etila (T5) e com o extrato oleoso de alecrim (T6) mantiveram-se em condições adequadas, ou seja, não apresentaram odores detectáveis de rancidez durante o período avaliado.

O extrato hidroetanólico bruto de caqui e a fração residual apresentaram atividade antioxidante, uma vez que as amostras que receberam estes antioxidantes naturais obtiveram menores valores de TBARS do que os encontrados na amostra controle durante o período de armazenamento. Entretanto, a atividade antioxidante na concentração utilizada (0,5%) foi inferior a apresentada pelo extrato oleoso de alecrim (0,1% sobre o teor de gordura, T6). Hoffmann et al. (2003) verificaram que extratos

brutos (aquoso e hidroetanólico) de caqui da cv.Taubaté, que se caracteriza por ser adstringente, apresentaram ação antioxidante nas proporções de 0,5% e 1,0% em relação a massa da amostra de carne mecanicamente separada de frango (CMS) armazenada a 5°C. Hoffmann (2003) verificou que o extrato aquoso de caqui cv. Taubaté, que foi adicionado na razão de 1% na CMS de frango, e que posteriormente foi incorporada na relação de 30% ao produto cárneo frescal lingüiça, apresentou ligeira ação antioxidante, mas não diferenciou significativamente das amostras referência, onde se adicionou na CMS 0,1% de extrato de alecrim sobre o teor de gordura, e do controle (CMS sem extrato).

Neste experimento, a amostra tratada com a fração obtida com acetato de etila (T5) apresentou valores de TBARS significativamente inferiores aos encontrados no controle, durante todo o período de armazenamento. No entanto, os valores das amostras com a fração acetato de etila foram significativamente maiores aos da amostra tratada com o extrato oleoso de alecrim (T6), com exceção no 20º dia de armazenamento, onde obteve 0,253 mg MA/Kg de amostra, e não apresentou diferença significativa (Tabela 1).

Na figura 1, observa-se a porcentagem de inibição da oxidação lipídica das amostras de carne bovina adicionadas dos extratos e das frações em teste. No cálculo da porcentagem de inibição da oxidação lipídica foi considerada a soma dos valores de TBARS de todos os períodos analisados para a amostra controle e as amostras tratadas com o extrato de caqui e as frações do extrato de caqui, desta forma pode-se observar que o extrato hidroetanólico bruto (T1), a fração residual (T2) e a fração acetato de etila (T5), promoveram maior inibição da oxidação lipídica, seguidas pela fração clorofórmica (T4) e hexânica (T3) com valores de 60,21; 61,90; 60,31; 7,59 e 5,04%; respectivamente. O extrato oleoso de alecrim (T6) apresentou a maior atividade antioxidante com inibição da oxidação lipídica de 78,21%.

Pode-se observar que as frações obtidas com solventes de diferentes polaridades apresentaram diferentes atividades antioxidantes. Segundo Koba et al. (2007) o solvente utilizado na extração e o método de extração podem influenciar significativamente no nível dos componentes recuperados, dessa maneira podendo determinar a habilidade antioxidante de cada tipo de extrato.

Existem várias metodologias para preparação de extratos vegetais, visando o isolamento de seus constituintes químicos. Segundo Cechinel e Yunes (1998) um método considerado adequado na obtenção de extrato bruto é a extração hidroalcoólica. Posteriormente, este extrato pode ser submetido a um processo de partição líquido-líquido, visando uma semi purificação das substâncias através de suas polaridades, com solventes de polaridades crescentes, buscando a extração de diferentes compostos (CECHINEL; YUNES, 1998). Segundo Simões et al. (2001) a primeira extração, com solvente apolar, retiraria óleos, gorduras, esteróis e pigmentos facilitando a extração posterior dos flavonóides. Neste experimento, observou-se que a fração hexânica (T3), que foi a primeira fração obtida promoveu o menor valor de inibição da oxidação lipídica na carne bovina, entre as frações em teste. As frações obtidas com solventes de maior polaridade promoveram maior inibição da oxidação lipídica, provavelmente este fato esteja relacionado com a capacidade antioxidante das substâncias extraídas por cada tipo de solvente.

Em experimento conduzido por Chen et al. (2006), que prepararam extrato metanólico de *Ruellia tuberosa* L. e quatro frações (água, acetato de etila, clorofórmio e n-hexano), e avaliaram a atividade antioxidante através do ensaio do 2,2-difenil-1-picrilhidrazil e da eliminação de peróxido de hidrogênio induzida por teste de quimiluminescência, verificaram que a maior atividade antioxidante foi da fração acetato de etila, seguida pela clorofórmica, e pelo extrato metanólico, enquanto que as

frações de hexano e residual apresentaram menor atividade antioxidante. A ordem de inibição da oxidação lipídica proporcionada pelas frações obtidas com diferentes solventes a partir de *Ruellia tuberosa* L. diferiu da obtida no presente experimento, onde se utilizou o caqui cultivar Rama Forte, uma vez que a fração clorofórmica (T4) foi uma das frações que apresentou menor atividade antioxidante na carne bovina, enquanto que a fração residual do extrato hidroetanólico (T2) apresentou a maior atividade antioxidante (Figura 1). Este fato é justificável, uma vez que se sabe que as diferentes concentrações das substâncias utilizadas como antioxidantes e suas estruturas químicas exercem forte influência no percentual de inibição da oxidação observado, assim como o meio onde são adicionados (PRADO et al., 2009).

Souza e Terra (2008) demonstraram que extratos de semente de gergelim são efetivos protetores contra a oxidação lipídica em coxas de frango, e verificaram que o método de extração seqüencial utilizando o hexano e o clorofórmio foi mais efetivo em isolar os compostos bioativos do que a extração hidroetanólica. Tais resultados diferem dos obtidos no presente experimento uma vez que as frações clorofórmica (T4) e hexânica (T3), obtiveram menor atividade antioxidante na carne bovina do que o extrato hidroetanólico bruto (T1).

Inúmeros experimentos têm sido conduzidos com diferentes extratos de plantas visando controlar a oxidação lipídica em carnes submetidas a diferentes tratamentos térmicos. Os dados obtidos no presente experimento, onde os extratos e as frações testadas apresentaram atividade antioxidante em carne bovina submetida a 75°C durante 30 minutos, vem ao encontro dos resultados obtidos por outros pesquisadores que empregaram extratos de diferentes plantas para evitar a oxidação lipídica. El-Alim et al. (1999) observaram que hambúrgueres de suíno, cru e após cocção, pré-tratados com cloreto de sódio e com adição de diferentes extratos etanólicos (de tomilho, de sálvia, de manjeriço e de gengibre),

apresentaram teores significativamente menores de peróxidos e de TBARS, em relação ao controle que não foi adicionado de extratos, durante a estocagem refrigerada, e congelada. Nissen et al. (2004) investigaram o efeito antioxidante de extratos de alecrim, chá verde, café e de casca de uva, em hambúrgueres suínos pré cozidos (80 °C) armazenados sob condições de varejo (10 dias, 4 °C, exposto ao ar), e verificaram que ocorreu retardo da oxidação lipídica das amostras. Terra et al. (2008) verificaram que o extrato hidroetanólico de erva mate adicionado na relação de 0,5% em carne de peru moída, apresentou atividade antioxidante quando a mesma foi submetida a tratamento térmico de 75 °C/20 minutos, mas a atividade antioxidante do extrato diminuiu quando na presença de 2% de cloreto de sódio.

Naveena et al. (2008) estudaram as propriedades antioxidantes do extrato de casca de romã em hambúrgueres de frango adicionado de 1% de cloreto de sódio e cozido até a temperatura interna de 80 °C, durante o armazenamento a 4 °C (± 1 °C) por 15 dias. Verificaram que os valores de TBARS das amostras tratadas com extrato de casca de romã foram significativamente reduzidos de 1,530 mg MA/Kg nas amostras de hambúrguer controle para 0,135 mg MA/Kg nas amostras tratadas com o extrato de casca de romã. O tratamento com o extrato de casca de romã inibiu a oxidação lipídica em hambúrgueres de frango cozido em uma extensão maior do que os tratamentos desse experimento (extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte e a fração residual) uma vez que obtiveram no 20º dia de armazenamento 0,450 mg MA/Kg de amostra, enquanto a amostra controle apresentou 1,308 mg MA/Kg de amostra.

Os extratos e as frações em teste não exerceram atividade antimicrobiana sobre os microrganismos aeróbios mesófilos na carne bovina submetida ao tratamento térmico, como pode ser observado na figura 2 onde são apresentados os resultados referentes à contagem de microrganismos aeróbios mesófilos no zero e no 20º dia de armazenamento das amostras. Tais resultados vêm ao encontro dos obtidos por Schirmer e Langsrud (2010) que ao

investigarem o efeito inibitório de antimicrobianos naturais (timol, cinamaldeído, isotiocianato de alila, ácido cítrico, ácido ascórbico, extrato de alecrim e do extrato de semente de uva) sobre o crescimento de bactérias deteriorantes típicas de carne suína marinada, verificaram que os mesmos não proporcionaram efeito antimicrobiano sobre o crescimento microbiano total nas amostras da carne suína embalada a vácuo e estocadas a 4 °C, apesar de terem apresentado efeito antimicrobiano *in vitro*. Holley e Patel (2005) relataram que em muitos experimentos altas concentrações de antimicrobianos naturais são necessárias para obter efeitos antimicrobianos em alimentos, mesmo quando atividade antimicrobiana é constatada *in vitro*. As possíveis causas para esse efeito podem incluir a imobilização do componente antimicrobiano em gorduras, proteínas ou carboidratos, as diferenças na atividade de água, as interações entre espécies bacterianas ou alterações nas bactérias tornando-as menos suscetíveis aos antimicrobianos em sistemas alimentares.

Os valores do parâmetro +a* obtidos pelas amostras tratadas com extratos de caqui Rama Forte não apresentaram diferença significativa em relação aos do controle logo após a aplicação (zero dia), sugerindo que nenhum dos tratamentos alterou a coloração vermelha das amostras de carne bovina. No entanto, no 20º dia de armazenamento, os valores do parâmetro +a* foram inferiores aqueles do zero dia em todas as amostras (Tabela 2), isto significa que os tratamentos não contribuíram para a manutenção da coloração vermelha das amostras de carne bovina durante os 20 dias de armazenamento sob refrigeração. Ahn, Grün e Mustapha (2007) avaliaram a cor da carne cozida tratada com extrato de semente de uva (1%) e verificaram que a mesma apresentou menor brilho (L*), maior intensidade de cor vermelha (+a*) e menor intensidade de cor amarela (+b*) do que aquelas tratadas com BHA / BHT (0,02%), extrato de casca de pinheiro (1%) e oleorresina de alecrim (1%). O extrato de semente

de uva e o extrato de casca de pinheiro mantiveram a cor vermelha da carne bovina durante a estocagem a 4 °C, diferindo do que foi observado no presente experimento.

No dia zero as amostras tratadas também apresentaram o valor de $+b^*$ sem diferença significativa do controle, com exceção da amostra adicionada da fração residual (T2), que apresentou valor significativamente maior que a amostra controle e sem diferença significativa da amostra adicionada do extrato oleoso de alecrim (Tabela 2). No 12º dia de armazenamento, todas as amostras apresentaram valores para o parâmetro $+b^*$ sem diferenças significativas entre si. No 20º dia de armazenamento a amostra tratada com o extrato de alecrim apresentou valor maior que o controle para o parâmetro $+b^*$, seguida em ordem decrescente pela amostra tratada com a fração acetato de etila (T5), fração residual (T2), fração clorofórmica (T4) e extrato hidroetanólico bruto (T1), que também apresentaram maiores valores de $+b^*$ que o controle, significando que estas amostras se encontravam com a coloração amarela mais intensa do que as amostras do controle.

Logo após a aplicação dos tratamentos as amostras de carne bovina adicionadas de 0,5% de extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte, de 0,5% da fração residual, de 0,5% da fração acetato de etila e do extrato oleoso de alecrim (0,10% sobre o teor de gordura) apresentaram os valores médios do parâmetro L^* sem diferença significativa em relação a do controle, demonstrando que estes tratamentos não alteraram a luminosidade das amostras (Tabela 2). Entretanto, durante o período de armazenamento ocorreu uma tendência da amostra de carne bovina tratada com a fração acetato de etila (T5) apresentar valores significativamente maiores ao da amostra controle para o parâmetro L^* , e no 20º dia de armazenamento apresentou valor maior que as demais amostras de carne bovina, sendo que estes valores não diferiram na maioria dos dias analisados da amostra tratada com o extrato oleoso de alecrim. As

amostras tratadas com o extrato hidroetanólico bruto (T1), e as demais frações em teste, apresentaram valores para L^* superiores aos da amostra controle no final do período de armazenamento, e estes valores não diferiram significativamente da amostra tratada com o extrato oleoso de alecrim (T6) no final do período de armazenamento. Diferente do que o observado no presente experimento, onde logo após a adição dos extratos e frações em teste não se verificou alteração dos valores L^* e $+a^*$ das amostras de carne bovina tratada termicamente, Naveena et al. (2008) verificaram que extrato de pó de casca de romã em hambúrgueres de frango cozido, reduziu de forma significativa os valores de L^* , quando comparados com o controle. Devatkal, Narsaiah e Borah (2010) constataram que a incorporação de extratos de pó de casca de romã em reestruturados de carne de cabra cozida, reduziu de forma significativa os valores de L^* e $+a^*$ quando comparados com o controle, enquanto que o extrato de semente de romã não mostrou diferença significativa em relação ao controle para o valor L^* e reduziu significativamente valor $+a^*$. Fatos esses não ocorridos nesse experimento, uma vez que nos valores de L^* e $+a^*$ não diferiram significativamente em relação aos valores encontrados no controle no dia zero. Ocorreu uma tendência dos valores de L^* de todas as amostras de carne bovina aumentar durante o período de armazenamento e no final do armazenamento todas as amostras de carne bovina, inclusive a do controle, apresentaram valores maiores para L^* se comparado com o início do experimento (Tabela 2).

4 CONCLUSÕES

Considerando-se os resultados obtidos pode-se concluir que o extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte, a fração residual e a fração de acetato de etila apresentam

potencial antioxidante, porém na concentração de 0,5% a atividade antioxidante foi inferior a do extrato oleoso de alecrim (0,10% sobre o teor de gordura).

A adição do extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte, da fração residual, da fração acetato de etila e do extrato oleoso de alecrim não exerceram influencia nos valores médios do parâmetro L*, logo depois de aplicados (zero dia).

Ocorreu uma tendência em aumentarem os valores de L* e diminuírem os valores de a* durante o período de armazenamento das amostras de carne bovina.

O extrato de caqui Rama Forte e suas frações não promoveram inibição significativa da população dos microrganismos aeróbios mesófilos nas amostras de carne bovina.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHN, J.; GRÜN; I. U.; FERNANDO, L. N. Antioxidant properties of natural plant extracts containing polyphenolic compounds in cooked ground beef. **Journal of Food science**, v.67, n.4, p.1364-1369, 2002.

AHN, J.; GRÜN, I. U.; MUSTAPHA, A. Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef. **Food Microbiology**, v.24, p.7-14, 2007.

AHN, H. S.; JEON, T. I.; LEE, J. Y.; HWANG, G. S.; LIM, Y.; PARK, D. K. Antioxidative activity of persimmon and grape seed extract: *in vitro* and *in vivo*. **Nutrition Research**, v.22, p.1265-1273, 2002.

ARAUJO, M. A. J. **Química dos Alimentos-Teoria e Prática**. 4ª edição. Viçosa: UFV, 2008. 596p.

BRAGAGNOLO, N.; DANIELSEN; SKIBSTED, L. H. Effect of rosemary on lipid oxidation in pressure-processed, minced chicken breast during refrigerated storage and subsequent heat treatment. **European Food Research and Technology**, v.221, p.610-615, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 set. 2003. Seção 1, p. 14.

CECHINEL, F. V.; YUNES, R. A. Estratégias para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. **Química nova**. v.21, n.1, p. 99-105, 1998.

CHEN, F.; WU, A. B.; SHIEH, P.; KUO, D. H.; HSIEH, C. Y. Evaluation of the antioxidant activity of *Ruellia tuberosa*. **Food Chemistry**, v.94, p.14-18, 2006.

COSTA NETO, P. L. O. **Estatística**. São Paulo: Edgard Bluches, 1977. 264p.

DIMITRIUS, B. Sources of natural phenolic antioxidants. **Trends in Food Science and Technology**, v.17, p. 505-512, 2006.

DEVATKAL, S. K.; NARSAIAH, K.; BORAH, A. Anti-oxidant effect of extracts of kinnow rind, pomegranate rind and seed powders in cooked goat meat patties. **Meat Science**, v.85, p. 155-159, 2010.

EL-ALIM, S. S. L. A.; LUGASI, A.; HÓVÁRI, J.; DWORSCHÁK, E. Culinary herbs inhibit lipid oxidation in raw and cooked minced meat patties during storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, n. 2, p. 277-285, 1999.

GORINSTEIN, S.; ZACHWIEJA, Z.; FOLTA, M.; BARTON, J. P.; PIOTROWICZ, M. Z., ZEMSER, M.; WISZ, M., TRAKHTENBERG, S.; BELLOSO, O. M. Comparative Contents of dietary fiber, total phenolics, and minerals in Persimmons and apples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.952-957, 2001.

GU, H.F.; LI, C. M.; XU, Y. J.; HU, F. W.; CHEN, M. H.; WAN, Q. H. Structural features and antioxidant activity of tannin from persimmon pulp. **Food Research International**, v.41, p.208-217, 2008.

HAYES, J. E.; STEPANYAN, V.; ALLEN, P.; O'GRADY, M. N.; KERRY, J. P. Effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on the quality and shelf-life stability of packaged raw minced beef patties. **Meat Science**, v.84, p.613-620, 2010.

HOFFMANN, R. S. H. **Antioxidante natural na proteção da carne mecanicamente separada (CMS) de frango**. Santa Maria, 2003. 135 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria.

HOFFMANN, R. S. H.; DELLA LIBERA, R.; MILANI, L. I. G.; QUADROS, C. P.; FURTADO, A. S.; TERRA, N. N. Antioxidante natural na proteção da carne mecanicamente separada de frango. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 5, 2003, Campinas. **Anais...**, Campinas: Microservice, 2003. 1 CD-ROM.

HOLLEY, R.A.; PATEL, D. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oil and smoke antimicrobial. **Food Microbiology**, v. 22, n.4, p.273-292, 2005.

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

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

MANSOUR, E. H.; KHALIL, A. H. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their application to ground beef patties. **Food Chemistry**, v. 69, p.135-141, 2000.

MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. Revisão: Antioxidantes Naturais da Família Lamiaceae. Aplicação em Produtos Alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 10, n. 2, p. 96-103, 2007.

MILANI, L. I. G.; TERRA, N.N.; FRIES, L. L. M.; REZER, A. P. S.; SILVA, S. L.; CAVALHEIRO, C. V. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de caqui (*Diospyros kaki* L.) cv. Quioto. In: Congreso Argentino de Ciencia y Tecnologia de Alimentos (CYTAL[®]), 7, 2009, Concordia, Entre Ríos, Argentina. **Anais...** Entre Ríos: Asociación argentina de Tecnólogos Alimentários, Facultad de Ciencias de la Alimentación (UNER), 2009. 1 CD-ROM.

MILANI, L. I. G.; TERRA, N. N. FRIES, L. L. M.; REZER, A. P. S.; FERREIRA, S. F.; CICHOSKI, A. J.; VALENTE, C. R. F. Oxidação lipídica, características sensoriais e cor da carne de frango adicionada de extratos de caqui (*Diospyros kaki*, L.) e submetida a tratamento térmico. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 13, n. 4, p. 242-250, 2010.

NAVEENA, B. M.; SEN, A. R.; KINGSLY, R. P.; SINGH, D. B.; KODIAIAH, N. Antioxidant activity of pomegranate rind powder extract in cooked chicken patties. **International Journal of Food Science and Technology**, v.43, p.1807–1812, 2008.

NISSEN, L. R.; BYRNE, D.V.; BERTELSEN, G.; SKIBSTED, L. H. The antioxidative activity of plant extracts in cooked pork patties as evaluated by descriptive sensory profiling and chemical analysis. **Meat Science**, v. 68, n.3, p.485-495, 2004.

PARK, Y. S.; JUNG, S. T.; KANG, S. G.; DELGADO-LICON, E.; AYALA, A. L. M.; TAPIA, M. S.; MARTIN-BELLOSO, O.; TRAKHTENBERG, S.; GORINSTEIN, S. Drying of persimmons (*Diospyros kaki* L.) and the following changes in the studied bioactive compounds and the total radical scavenging activities. **Food Science and Technology - LWT**, v.39, p. 748-755, 2006.

- PRADO, A. C. P.; ARAGÃO, A. M.; FETT, R.; BLOCK, J. M. Compostos fenólicos e atividade antioxidante de extratos da casca de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch] **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, n. 4, p. 323-332, 2009.
- RAHARJO, S.; SOFOS, J. N.; SCHMIDT, G. R. Improved speed, specificity and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C18 method for measuring lipid peroxidation in beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 2, p. 2182-2185, 1992.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 3.ed. rev. – Porto Alegre/Florianópolis: Ed. UFSC/ Ed. da UFRGS, 2001, 833p.
- SCHIRMER, B.C.; LANGSRUD, S. Evaluation of Natural Antimicrobials on Typical Meat Spoilage Bacteria *In Vitro* and in Vacuum-Packed Pork Meat. **Journal of Food Science**, v.75, n.2, p.98-102, 2010.
- SOUZA, M. A. A.; TERRA, N. N. Antioxidant activities of sesame seed extracts in chicken thighs. **Fleischwirtschaft international**, v.4, p.75-78, 2008.
- SUZUKI, T.; SOMEYA, S.; HU, F.; HU, F. TANOKURA, M. Comparative study of catechin compositions in five Japanese persimmons (*Diospyros kaki*). **Food Chemistry**, v.93, p.149-152, 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.; MILANI, L. I. G.; FRIES, L. L. M.; URNAU, D.; CIROLINI, A.; SANTOS, Extrato de erva mate (*Ilex paraguariensis*) como antioxidante em carne de peru submetida a tratamento térmico. **Higiene Alimentar**, v.22, n.166, p.189-193, 2008.

TERRA, N. N.; BRUM, M. A. R. **Carne e Seus Derivados - Técnicas de Controle de Qualidade**. São Paulo: Ed. Nobel, 1988. 119 p.

TRINDADE, M. A.; NUNES, T. P.; CONTRERAS-CASTILLO; FELÍCIO, P. E. Estabilidade oxidativa e microbiológica em carne de galinha mecanicamente separada e adicionada de antioxidantes durante período de armazenamento a -18 °C. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 1, p. 160-168, 2008.

TABELAS E FIGURAS

Tabela 1. Valores médios de TBARS de carne bovina tratada com os diferentes extratos do caqui cv. Rama Forte durante o período de armazenamento a 5 °C (± 1 °C).

Período (dias)	TBARS (mg malonaldeído/Kg amostra)					
C	T1	T2	T3	T4	T5	T6
0	0,000 \pm 0,000 ^a	0,000 \pm 0,000 ^a	0,000 \pm 0,000 ^a	0,000 \pm 0,000 ^a	0,000 \pm 0,000 ^a	0,000 \pm 0,000 ^a
4	0,169 \pm 0,039 ^a	0,037 \pm 0,029 ^{de}	0,103 \pm 0,011 ^b	0,101 \pm 0,018 ^{bc}	0,076 \pm 0,016 ^{bcd}	0,001 \pm 0,000 ^e
8	0,399 \pm 0,014 ^a	0,236 \pm 0,020 ^c	0,315 \pm 0,041 ^b	0,317 \pm 0,013 ^b	0,319 \pm 0,018 ^b	0,181 \pm 0,020 ^d
12	0,356 \pm 0,009 ^a	0,138 \pm 0,024 ^c	0,380 \pm 0,044 ^a	0,388 \pm 0,019 ^a	0,212 \pm 0,023 ^b	0,113 \pm 0,016 ^c
16	0,696 \pm 0,009 ^a	0,282 \pm 0,027 ^b	0,704 \pm 0,028 ^a	0,750 \pm 0,098 ^a	0,302 \pm 0,061 ^b	0,195 \pm 0,009 ^c
20	1,308 \pm 0,027 ^a	0,450 \pm 0,017 ^c	1,304 \pm 0,025 ^a	1,148 \pm 0,019 ^b	0,253 \pm 0,014 ^d	0,243 \pm 0,011 ^d

*Média \pm desvio padrão (n = 4), Médias na mesma linha não acompanhadas de mesma letra são significativamente diferentes pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância. C: amostra de carne bovina controle; T1: amostra de carne bovina adicionada de 0,5% de extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte; T2: amostra de carne bovina adicionada de 0,5% da fração residual; T3: amostra de carne bovina adicionada de 0,5% da fração hexânica; T4: amostra de carne bovina adicionada de 0,5% da fração clorofórmica; T5: amostra de carne bovina adicionada de 0,5% da fração acetato de etila; T6: 0,10% (sobre o teor de gordura) de extrato oleoso de alecrim.

Tabela 2. Médias dos parâmetros L*, a* e b*, das amostras de carne bovina controle e das adicionadas do extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte, de suas frações e do extrato oleoso de alecrim durante o período de armazenamento a 5 °C (± 1 °C).

	C	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Parâmetro L*							
Dia 0	BC _{36,21} \pm 0,883 ^{bc**}	D _{35,71} \pm 0,563 ^{cd}	CD _{37,27} \pm 0,492 ^{ab}	BC _{37,62} \pm 0,314 ^a	C _{34,43} \pm 0,877 ^d	C _{36,76} \pm 0,358 ^{abc}	C _{36,15} \pm 0,455 ^{bc}
Dia 4	AB _{37,01} \pm 0,705 ^c	C _{37,28} \pm 0,366 ^{bc}	AB _{39,17} \pm 0,451 ^a	AB _{38,95} \pm 0,614 ^a	A _{38,39} \pm 0,559 ^{abc}	B _{38,55} \pm 0,850 ^{ab}	AB _{38,36} \pm 0,757 ^{abc}
Dia 8	C _{35,23} \pm 0,856 ^c	CD _{37,97} \pm 0,211 ^a	BC _{38,25} \pm 0,401 ^a	C _{38,60} \pm 1,215 ^a	B _{36,29} \pm 0,550 ^{bc}	AB _{38,71} \pm 0,547 ^a	BC _{37,66} \pm 0,698 ^{ab}
Dia 12	ABC _{36,29} \pm 0,654 ^b	D _{36,18} \pm 0,233 ^b	D _{36,79} \pm 1,080 ^{ab}	C _{36,51} \pm 1,172 ^{ab}	A _{38,44} \pm 1,038 ^a	B _{38,60} \pm 0,294 ^a	ABC _{38,19} \pm 1,375 ^{ab}
Dia 16	AB _{36,79} \pm 0,200 ^f	B _{38,15} \pm 0,110 ^d	A _{39,62} \pm 0,304 ^b	A _{40,46} \pm 0,192 ^a	AB _{37,29} \pm 0,155 ^e	AB _{40,00} \pm 0,170 ^{ab}	AB _{38,95} \pm 0,269 ^c
Dia 20	A _{37,76} \pm 0,377 ^b	A _{39,11} \pm 0,204 ^{ab}	A _{39,69} \pm 0,323 ^a	AB _{39,02} \pm 0,300 ^{ab}	A _{38,69} \pm 0,101 ^{ab}	A _{40,42} \pm 1,575 ^a	A _{39,93} \pm 1,327 ^a
Parâmetro a*							
Dia 0	B _{10,95} \pm 0,254 ^a	BC _{10,09} \pm 0,450 ^a	A _{12,10} \pm 2,876 ^a	B _{10,81} \pm 0,359 ^a	B _{11,55} \pm 0,176 ^a	B _{11,06} \pm 0,408 ^a	B _{11,25} \pm 0,169 ^a
Dia 4	A _{12,07} \pm 0,210 ^{cd}	A _{10,88} \pm 0,086 ^d	A _{11,54} \pm 0,347 ^{cd}	A _{12,40} \pm 0,412 ^{bc}	A _{13,80} \pm 0,880 ^a	A _{13,35} \pm 0,283 ^{ab}	A _{13,82} \pm 0,876 ^a
Dia 8	B _{11,25} \pm 0,478 ^c	AB _{10,33} \pm 0,272 ^d	AB _{10,60} \pm 0,339 ^{cd}	B _{11,38} \pm 0,286 ^b	B _{11,53} \pm 0,496 ^{ab}	B _{11,66} \pm 0,071 ^{ab}	B _{12,29} \pm 0,230 ^a
Dia 12	C _{10,19} \pm 0,156 ^b	C _{9,56} \pm 0,178 ^b	AB _{10,20} \pm 0,130 ^b	C _{10,02} \pm 0,358 ^b	C _{9,94} \pm 0,323 ^b	B _{10,06} \pm 0,422 ^b	B _{11,89} \pm 0,861 ^a
Dia 16	D _{9,33} \pm 0,059 ^a	D _{8,72} \pm 0,072 ^b	B _{8,48} \pm 0,102 ^b	D _{9,33} \pm 0,049 ^a	C _{9,51} \pm 0,183 ^a	C _{9,42} \pm 0,110 ^a	C _{9,60} \pm 0,250 ^a
Dia 20	CD _{9,64} \pm 0,387 ^{abc}	D _{8,81} \pm 0,237 ^d	B _{8,81} \pm 0,128 ^d	D _{9,30} \pm 0,221 ^{bcd}	C _{10,13} \pm 0,430 ^{ab}	C _{9,71} \pm 0,450 ^{ab}	C _{8,98} \pm 0,235 ^{cd}
Parâmetro b*							
Dia 0	A _{6,08} \pm 0,024 ^{bc}	B _{5,83} \pm 0,221 ^c	BC _{6,75} \pm 0,315 ^a	C _{6,53} \pm 0,240 ^{ab}	B _{5,94} \pm 0,445 ^{bc}	C _{6,19} \pm 0,216 ^{abc}	C _{6,22} \pm 0,106 ^{abc}
Dia 4	A _{6,33} \pm 0,176 ^{bc}	AB _{6,23} \pm 0,425 ^c	D _{6,28} \pm 0,250 ^c	C _{6,11} \pm 0,137 ^c	A _{6,82} \pm 0,036 ^{ab}	B _{6,84} \pm 0,185 ^a	BC _{6,80} \pm 0,099 ^{ab}
Dia 8	A _{6,50} \pm 0,342 ^{ab}	B _{5,91} \pm 0,071 ^b	CD _{6,54} \pm 0,180 ^{ab}	B _{6,98} \pm 0,245 ^a	A _{6,73} \pm 0,232 ^a	B _{6,92} \pm 0,347 ^a	BC _{6,59} \pm 0,315 ^a
Dia 12	A _{6,64} \pm 0,315 ^a	AB _{6,32} \pm 0,260 ^a	BC _{6,42} \pm 0,101 ^a	C _{6,19} \pm 0,136 ^a	A _{6,92} \pm 0,629 ^a	BC _{6,61} \pm 0,292 ^a	BC _{6,94} \pm 0,738 ^a
Dia 16	A _{6,11} \pm 0,685 ^d	A _{6,68} \pm 0,199 ^c	A _{7,36} \pm 0,095 ^{ab}	A _{7,68} \pm 0,203 ^a	B _{5,89} \pm 0,076 ^d	B _{7,05} \pm 0,142 ^{bc}	B _{7,14} \pm 0,315 ^b
Dia 20	A _{6,35} \pm 0,155 ^c	A _{6,63} \pm 0,005 ^d	AB _{7,08} \pm 0,025 ^c	C _{6,37} \pm 0,140 ^{bc}	A _{7,00} \pm 0,174 ^c	A _{7,67} \pm 0,128 ^b	A _{8,33} \pm 0,066 ^a

** Médias \pm desvio padrão (n=4) de cada dia analisado, na mesma linha, não acompanhadas de mesma letra minúscula são significativamente diferentes pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância, p<0,05; médias de cada parâmetro na mesma coluna (n=6), não acompanhadas de mesma letra maiúscula são significativamente diferentes pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância, p<0,05. C: amostra de carne bovina controle; T1: amostra de carne bovina adicionada de 0,5% de extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. "Rama Forte"; T2: amostra de carne bovina adicionada de 0,5% da fração residual; T3: amostra de carne bovina adicionada de 0,5% da fração hexânica; T4: amostra de carne bovina adicionada de 0,5% da fração cloroformica; T5: amostra de carne bovina adicionada de 0,5% da fração acetato de etila; T6: 0,10% (sobre o teor de gordura) de extrato oleoso de alecrim.

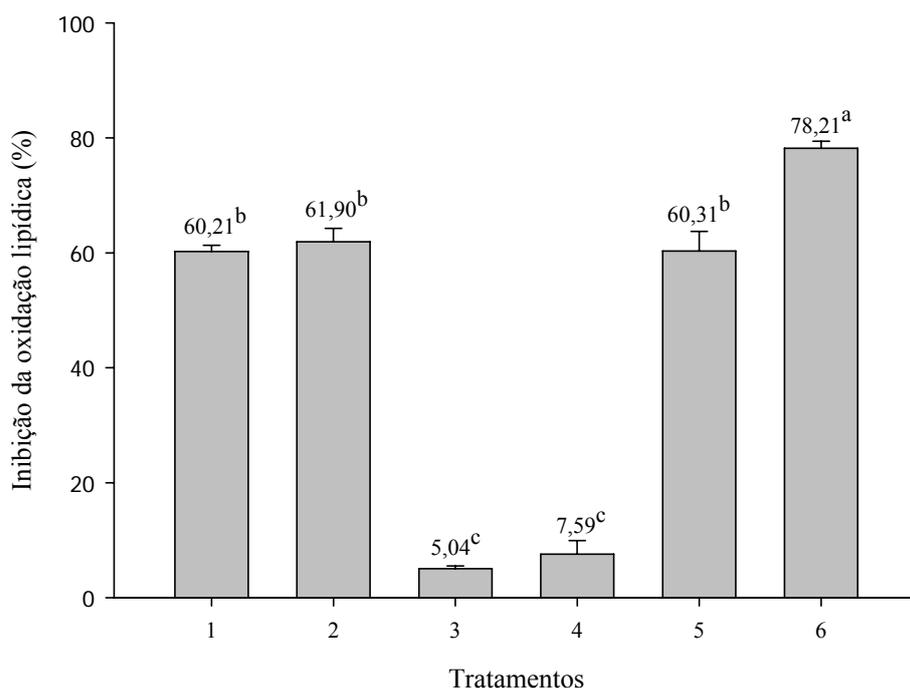


Figura 1. Inibição da oxidação lipídica em amostras de carne bovina tratadas termicamente e adicionadas do extrato hidroetanólico de caqui cv. Rama Forte, de suas frações e do extrato oleoso de alecrim durante o período de armazenamento a 5 °C (± 1 °C). Valores apresentados como média \pm desvio padrão (n=4) da inibição da oxidação lipídica, onde as barras representam o desvio padrão. Tratamento 1: 0,5% de extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte; Tratamento 2: 0,5% da fração residual; Tratamento 3: 0,5% da fração hexânica; Tratamento 4: 0,5% da fração clorofórmica; Tratamento 5: 0,5% da fração acetato de etila; Tratamento 6: 0,10% (sobre o teor de gordura) de extrato oleoso de alecrim.

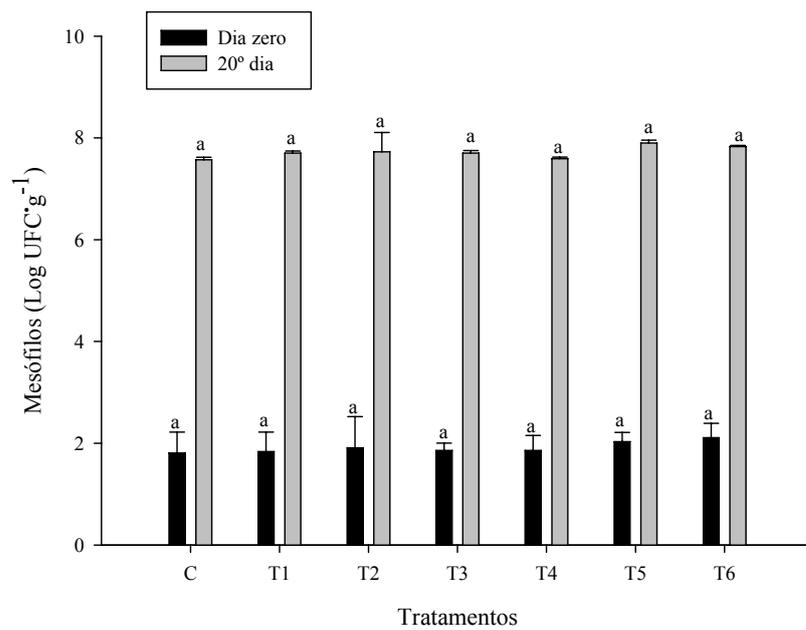


Figura 2. Valores médios da contagem de microrganismos aeróbios mesófilos das amostras de carne bovina controle e das submetidas aos diferentes tratamentos no zero e 20º dia de armazenamento a 5 °C. **C:** controle, **T1:** 0,5% de extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte; **T2:** 0,5% da fração residual; **T3:** 0,5% da fração hexânica; **T4:** 0,5% da fração clorofórmica; **T5:** 0,5% da fração acetato de etila; **T6:** 0,10% (sobre o teor de gordura) de extrato oleoso de alecrim. Médias de cada dia analisado acompanhadas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância.

4.4 Artigo 4

Artigo em fase final de revisão pelos autores para ser submetido à revista

Ciência e Tecnologia de Alimentos

(configurado conforme as normas da revista)

**APLICAÇÃO DE EXTRATO DE CAQUI (*DIOSPYROS KAKI L.*) CV. RAMA FORTE
EM SALAME TIPO ITALIANO**

APPLICATION OF THE EXTRACT OF PERSIMMON (*DIOSPYROS KAKI L.*)

CV. 'RAMA FORTE' IN ITALIAN SALAMI TYPE

Liana Inês Guidolin MILANI^{1*}, Nelcindo Nascimento TERRA², Leadir Lucy Martins

FRIES³, Ana Paula de Souza REZER⁴, Ângela Maria BACKES⁵

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Tecnologia e Ciência dos alimentos, Centro de Ciências Rurais, Prédio 42, Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, Bairro Camobi, CEP: 97.105-900, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: lianamilani@yahoo.com.br

² Departamento de Tecnologia e Ciência dos alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria. E-mail: nelcindo@terra.com.br

³ Departamento de Tecnologia e Ciência dos alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria. E-mail: lucymicro@yahoo.com.br

⁴ Departamento de Tecnologia e Ciência dos alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria. E-mail: ana.rezer@hotmail.com

⁵ Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria. E-mail: angebackes@yahoo.com.br

* Autor para correspondência

RESUMO

O objetivo deste estudo foi verificar o efeito do extrato hidroetanólico de caqui cultivar Rama Forte sobre a oxidação lipídica de salame tipo Italiano e comparar com a atividade antioxidante do extrato oleoso de alecrim, bem como avaliar o desenvolvimento microbiano e a cor do salame durante o período de processamento e as características sensoriais de cor, aroma, sabor e textura no salame pronto. Para tanto, foram elaborados salames com 0,5 e 0,7% de extrato hidroetanólico de caqui, salames adicionados de extrato oleoso de alecrim (0,10% sobre o teor de gordura) e salames controle. O extrato hidroetanólico de caqui cv. Rama Forte retardou a oxidação lipídica durante o período de processamento e de armazenamento do salame, sendo que quando na concentração de 0,7% apresentou valores de TBARS semelhantes aos das amostras tratadas com extrato de alecrim na maioria dos dias analisados. Nas concentrações utilizadas (0,5 e 0,7%) o extrato de caqui cv. Rama Forte não promoveu alteração nas contagens de microrganismos, nas características sensoriais e nos parâmetros de cor (L^* , a^* e b^*) das amostras de salame após a conclusão de sua elaboração.

Palavras-chave: extrato natural, antioxidante natural, *Diospyros kaki* L., salame.

ABSTRACT

The main objective of this experiment was to determine the effect of the hydroethanolic extract of persimmon cv. 'Rama Forte' on the lipid oxidation of the Italian salami type and compare with the antioxidant activity of the oily rosemary extract. Moreover, we aimed to assess the microbial growth and the color of the salami during its manufacturing as well as its sensory characteristics of color, aroma, flavor, and texture when ready to be consumed. We prepared salami with 0.5 and 0.7% of hydroethanolic extract of persimmon, control salami (with no antioxidant), and salami added with oily

rosemary extract (0.10% of the fat content). The hydroethanolic extract of persimmon cv. 'Rama Forte' retarded the lipid oxidation during the manufacturing and storage of the salami. At the concentration of 0.7%, it presented values similar to the TBARS of the samples treated with rosemary extract in most of the days analyzed. At both concentrations (0.5 and 0.7%), the extract of persimmon cv. 'Rama Forte' did not promote changes in the microorganism counts in the sensory characteristics or in the color parameters (L*, a* and b*) of the samples of salami after finishing their manufacturing.

Keywords: natural extract, natural antioxidant, *Diospyros kaki L.*, salami.

1 INTRODUÇÃO

A oxidação lipídica é uma das principais reações deteriorativas que ocorrem durante o processamento, distribuição, armazenamento e preparo final dos alimentos. Estas reações oxidativas têm como consequência a destruição das vitaminas lipossolúveis e dos ácidos graxos essenciais, além de alterações indesejáveis de cor, sabor, aroma e consistência do alimento, tornando-os impróprios para o consumo. Também afeta a integridade e segurança dos alimentos através da formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos (RAMALHO; JORGE, 2006; ARAUJO, 2008).

Na indústria de alimentos, a oxidação lipídica pode ser inibida por antioxidantes sintéticos tais como Butil hidroxianisol (BHA), Butil hidroxitolueno (BHT), Terc butil hidroxiquinona (TBHQ) e galato de propila (PG), cuja ação consiste na rápida doação de um átomo de hidrogênio para o radical livre (MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2007). O emprego destes compostos tem sido questionado em muitos estudos quanto a sua inocuidade, pelo fato de proporcionar riscos de carcinogênese e de outras doenças (TANG et al., 2001; MELLO; GUERRA, 2002).

Devido ao risco de efeitos tóxicos relatados para alguns antioxidantes sintéticos, há um crescente interesse tanto por parte dos consumidores como da indústria em pesquisas no

sentido de encontrar produtos naturais com atividade antioxidante, os quais permitirão substituir os sintéticos ou fazer associações entre eles, com o intuito de diminuir seu uso nos alimentos (NASSU et al., 2003; POKORNÝ, 2007; HAYES et al., 2010). Os principais estudos estão centralizados nos compostos fenólicos de origem vegetal, pois eles podem agir como sequestradores de radicais e algumas vezes como quelantes de metais, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (SHAHIDI, 2000; RAMALHO; JORGE, 2006; CHEN et al., 2008).

Alguns pesquisadores têm demonstrado que comparativamente com outras frutas o caqui apresenta maiores teores de compostos fenólicos. Chen et al. (2008) verificaram que o caqui da cultivar (cv.) Mopan apresentou teor 8 vezes maior de compostos fenólicos que o tomate, também foi superior que a uva e que a maçã; o que está em concordância com a maior atividade antioxidante de seus extratos etanólicos. Gorinstein et al. (2001) mostraram que o conteúdo de fenóis totais em caqui foi maior do que o de maçã. Tem sido relatado que o teor de compostos fenólicos totais pode variar em diferentes cultivares de caqui. Comparativamente as cultivares adstringentes parecem ter muito mais polifenóis, catequinas e taninos que os tipos não adstringentes (VEBERIC et al., 2010), o que tem sido relacionado a uma maior atividade antioxidante em extratos obtidos deste tipo de caqui (KATSUBE et al., 2004; MILANI et al., 2010).

A estabilidade da gordura muitas vezes limita a vida de prateleira de salames e presuntos curados (BOZKURT, 2006). Desta forma este experimento teve como objetivo principal verificar o efeito do extrato hidroetanólico de caqui cv. Rama Forte sobre a oxidação lipídica de salame tipo Italiano e comparar com a atividade antioxidante do extrato oleoso de alecrim, durante seu período de fabricação e armazenamento; bem como avaliar o desenvolvimento microbiano e a cor durante o período de fabricação do salame e analisar as características sensoriais após concluída sua elaboração.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparo do extrato hidroetanólico bruto de caqui

Foram utilizados os frutos de *Diospyros kaki L.* cv. Rama Forte (caqui adstringente) provenientes de um pomar comercial de Nova Pádua – RS. Para o preparo do extrato hidroetanólico bruto os caquis foram colhidos em março de 2010, desidratados em estufa com circulação de ar forçada a 60 °C por 48 horas e posteriormente foram reduzidos a pó. O produto vegetal desidratado foi homogeneizado com uma solução hidroetanólica (etanol 80%), na proporção de 20% utilizando-se liquidificador, durante 3 minutos na velocidade média. Após se ajustou o pH para 5,48 com solução de ácido acético 50% o qual permaneceu em banho de ultra-som (Thornton®, modelo T14) durante 25 minutos a temperatura ambiente (ZHAO; HALL, 2008). Transcorrido este período a parte sólida foi submetida a mais duas extrações sucessivas. O filtrado das três extrações foi concentrado até 6% do volume inicial em rotaevaporador (Fisatom® 802) com vácuo de -760 mmHg e temperatura da água do banho a 44 °C (± 1 °C). O extrato hidroetanólico bruto assim que obtido foi colocado em frasco de vidro âmbar ao abrigo da luz e mantido a 4 °C (± 1 °C) até o momento de ser utilizado.

2.2 Elaboração do salame tipo Italiano

As amostras de salame foram elaboradas de acordo com a seguinte formulação: carne suína (650 g/kg), carne bovina (200 g/kg), toucinho (150 g/Kg), cloreto de sódio (30 g/kg), glicose (3 g/kg), sacarose (2 g/kg), mistura comercial de cura, contendo nitrato e nitrito de sódio (3 g/kg), fixador A-80 da Kraki® (2,5 g/kg), pimenta branca (2 g/kg), alho (5 g/kg), noz moscada (0,2 g/kg) e cultura Starter T-SPX da Chr. Hansen® (0,25 g/kg). A carne suína foi moída em disco de 10 mm e a carne bovina em disco de 8 mm. Após a moagem as carnes foram adicionadas de cloreto de sódio e misturadas em misturadeira (marca JAMAR®),

modelo MJ 35) para a extração das proteínas miofibrilares. A seguir, foram acrescentados os demais ingredientes, com exceção do ascorbato de sódio que foi adicionado por último (TERRA, 2005).

A massa cárnea foi dividida igualmente em quatro porções, originando os seguintes tratamentos: Controle, sem adição de extrato; Tratamento 1 (T1), com adição de 0,5% extrato hidroetanólico de caqui cv. Rama Forte; Tratamento 2 (T2), adição de 0,7% extrato hidroetanólico de caqui cv. Rama Forte; Tratamento 3 (T3), adição de 0,10% (sobre o teor de gordura da massa cárnea) de extrato oleoso de alecrim. O extrato oleoso de alecrim (Tasteguard, código/GIN 699994, Chr. Hansen®) que é um antioxidante natural empregado em alimentos, foi utilizado como controle positivo. A massa cárnea do salame pronta para embutir apresentou teor de lipídios de 15,33%, o qual foi determinado através do método do butirômetro (TERRA; BRUM, 1988). A massa cárnea dos tratamentos foi embutida em tripas artificiais de colágeno, com 60 mm de diâmetro e aproximadamente 15 cm de comprimento. Após o embutimento, as amostras foram submetidas a aspersão em solução de sorbato de potássio (20%) e encaminhadas para a câmara climatizada, com temperatura e umidade relativa controlada. A programação de temperatura e umidade relativa (T °C/UR%) foram as seguintes: primeiro dia, temperatura 25 °C/UR 95%; segundo dia, 4 °C/92%, terceiro dia, 23 °C/89%, quarto dia, 22 °C/86%, quinto dia, 21 °C/83%, sexto dia, 20 °C/80%, sétimo dia, 19 °C/80% e do oitavo dia em diante, 18 °C/75%. Concluída a fabricação, retiraram-se as tripas e as peças dos embutidos fermentados foram embaladas à vácuo e armazenadas a temperatura ambiente (de 20 a 23 °C). Foram elaboradas duas repetições por tratamento.

2.3 Análises do salame

O salame foi submetido a determinação de pH, atividade de água, perda de peso, medida da cor, pesquisa de *Salmonella* sp., contagem de bactérias lácticas, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Staphylococcus* coagulase negativa e coliformes a 35 °C e 45 °C. As

análises do salame foram realizadas durante o período de fabricação nos dias 0, 5, 7, 14, 21 e 28. A pesquisa de *Salmonella* sp. foi realizada no dia 0 e após a conclusão da elaboração do salame, no 28 dia. A oxidação lipídica do salame foi estimada através da determinação de TBARS (substâncias resultantes da oxidação lipídica reativas ao ácido tiobarbitúrico) durante o período de fabricação nos dias 0, 7 e 28; e nos dias 30, 45, 60 e 90, durante o armazenamento. O valor de TBARS obtido após a conclusão da elaboração do salame, no 28º dia, foi considerado como o valor correspondente ao dia 0 do período de armazenamento do salame. Após a conclusão do período de elaboração do salame o mesmo foi submetido a análise sensorial.

2.4 Determinação do pH

Para esta determinação foram pesadas 10 g de amostra e homogeneizadas com 100 mL de água destilada, que após foi submetida a leitura do pH por meio de potenciômetro digital modelo DM20 (Digimed[®]) previamente calibrado com soluções tampões pH 4,0 e 7,0. Após 5 minutos de imersão foi realizado o registro do pH (TERRA; BRUM, 1988). Os dados foram coletados em triplicata.

2.5 Determinação da atividade de água (Aa)

A determinação da Aa foi realizada em triplicata utilizando o aparelho Testo 400 CE (TESTO GMBH & CO).

2.6 Perda de peso

A perda de peso foi determinada em triplicata por método gravimétrico baseado na diferença de peso existente entre as peças cárneas logo após o embutimento e a cada semana até o final do processo de fabricação.

2.7 Medida da cor

A leitura de cor foi realizada pelo sistema CIELAB em aparelho Chroma Meter CR-300 (Minolta[®], Osaka, Japão) utilizando o iluminante D₆₅, através da leitura dos parâmetros

L^* (que representa a porcentagem de luminosidade, onde preto 0%, e branco 100%), a^* (onde $-a^*$ representa direção ao verde e $+a^*$ direção ao vermelho) e b^* (onde $-b^*$ representa direção ao azul e $+b^*$ direção ao amarelo). O aparelho foi calibrado com a placa padrão de calibração fornecida pelo fabricante. As leituras foram realizadas a temperatura ambiente em quadruplicata para cada amostra avaliada.

2.8 Determinação da oxidação lipídica

Foi estimada pelo método de TBARS seguindo metodologia descrita por Raharjo et al. (1992), com modificações. Os tubos com as amostras e reativos foram colocados em banho Maria a 100 °C por 40 minutos (BRAGAGNOLO; DANIELSEN; SKIBSTED, 2005) e após resfriados procedeu-se a leitura em espectrofotômetro a 531nm. A densidade ótica lida foi multiplicada por 7,8 (TANG et al., 2001). O resultado foi expresso em miligramas de malonaldeído por quilograma de amostra (mg MA/ kg). A determinação do índice de TBARS foi realizada em duas repetições por tratamento e os dados coletados em duplicata.

2.9 Análises microbiológicas

Porções de 25 gramas de salame foram homogeneizadas com 225 mL de água peptonada 0,1% e diluições decimais foram utilizadas para as análises microbiológicas. Foram realizadas as contagens de bactérias ácido lácticas em ágar MRS (SILVA et al., 2007), *Staphylococcus coagulase negativa* em ágar Baird-Parker, *Staphylococcus coagulase positiva* utilizando a prova bioquímica da coagulase com plasma de coelho, coliformes a 35°C em ágar cristal violeta-vermelho neutro-bile e coliformes a 45 °C em caldo EC (BRASIL, 2003). A pesquisa de *Salmonella* sp. também foi realizada conforme método de Brasil (2003).

2.10 Análise sensorial

Foi realizado teste sensorial de aceitação, no produto pronto após a conclusão do período de processamento, utilizando-se escala hedônica estruturada de sete pontos, variando de desgostei extremamente (nota 1) a gostei extremamente (nota 7). Para avaliação das

amostras foram utilizados 37 provadores não treinados, mas consumidores de salame, sendo avaliados os atributos de cor, aroma, sabor e textura (MINIM, 2006). Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria, em seus aspectos éticos e metodológicos, sendo conduzido de acordo com as diretrizes estabelecidas na Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. Todos os participantes da análise sensorial leram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido com CAAE (certificado de apresentação para apreciação ética) número 0016.0.243.000-09.

2.11 Análise estatística

O desenho experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com um controle e 3 tratamentos, totalizando 4 unidades experimentais. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, considerando o nível de significância de 5%, $p < 0,05$ (COSTA NETO, 1977).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 pode-se observar a quantidade de compostos fenólicos presente no extrato oleoso de alecrim e no extrato hidroetanólico bruto de caqui, que foram empregados na elaboração do salame. O extrato oleoso de alecrim apresentou quantidade de compostos fenólicos significativamente superior ($p < 0,05$) ao extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte.

O desenvolvimento da população de bactérias lácticas durante o processamento dos salames está apresentado na tabela 2. Pode-se observar que as contagens de bactérias lácticas apresentaram-se sem diferenças significativas na maioria dos dias analisados entre os diferentes tratamentos e a amostra controle. A quantidade de bactérias lácticas aumentou rapidamente nos primeiros dias durante o processamento dos salames, alcançando valor máximo de aproximadamente $8,0 \text{ Log UFC} \cdot \text{g}^{-1}$ em todas as amostras no 5º dia de fermentação, com pequeno decréscimo no final do processamento.

A adaptação das bactérias lácticas ao ambiente cárneo e às condições de processamento utilizadas provavelmente foram as principais responsáveis pela rápida multiplicação destas bactérias na massa cárnea. Durante o desenvolvimento das bactérias lácticas, a metabolização de carboidratos leva à formação de ácidos orgânicos, principalmente o ácido láctico, com conseqüente queda do pH (TERRA, 2005). A diminuição do pH é de fundamental importância durante o processamento, pois contribui com a formação de diversas características dos salames, bem como com a estabilidade microbiológica (HAMMES; BANTLEON; MIN, 1990; HUGAS; MONFORT, 1997).

Durante todo o período de fabricação dos salames não foi detectado em nenhuma amostra a presença de coliformes a 45°C, de *Staphylococcus* coagulase positiva e de *Salmonella* sp. (Tabela 2). Segundo JAY (2005) a rápida redução do pH para valores inferiores a 5,3 é suficiente para inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* sp. se os produtos forem fermentados acima de 18 °C.

A contagem de *Staphylococcus* coagulase negativa não apresentou diferença significativa entre as amostras controle e os tratamentos durante todo o período de fabricação do salame, sendo que as contagens apresentaram valores maiores no início do período de fabricação do salame, e foram diminuindo no decorrer do processo de maturação (Tabela 2). Este é um comportamento normal destes microrganismos, visto que a diminuição do pH e da concentração de oxigênio são fatores limitantes de seu crescimento (ROIG-SAGUÉS et al., 1999). A contagem de coliformes totais também foi progressivamente reduzida em todos os tratamentos durante o período de fabricação. A queda de pH (Tabela 3) ocorrida nos salames pode parcialmente explicar a redução e a eliminação desses microrganismos do salame como outros autores observaram (GONZÁLES-FERNANDEZ et al., 2006; LIZASO; CHASCO; BERIAIN, 1999). Algumas diferenças foram observadas entre os salames controle e tratados, sendo que a amostra de salame controle apresentou a contagem coliformes totais com valores superiores durante maior período durante a fabricação do salame, apresentando valor significativamente superior aos tratamentos com extrato hidroetanólico de caqui cultivar

Rama Forte (0,5% e 0,7%) e com o extrato oleoso de alecrim, no 7º dia de fabricação do salame, com valores de 3,04; 1,95; 1,80 e 1,80; respectivamente.

O declínio no valor de pH durante os primeiros dias de fermentação é muito importante para a produção de salames de alta qualidade e segurança, devido à inibição de microrganismos indesejáveis, conversão e estabilização da cor e formação de compostos desejáveis de sabor e aroma (LÜCKE, 1994). Foi observado durante os primeiros cinco dias de fabricação, uma diminuição dos valores de pH de 5,73 e 5,93 para valores entre 4,97 e 5,03. O extrato de caqui afetou significativamente ($p < 0,05$) os valores de pH dos salames, sendo que estas amostras mantiveram-se com pH inferior ao pH das amostras controle na maioria dos dias durante o período de fabricação, inclusive após concluída a elaboração do salame no 28º dia. As amostras de salame elaboradas com o extrato oleoso de alecrim apresentaram pH sem diferença significativa ($p > 0,05$) do controle quando prontas.

Apesar das diferenças de pH entre as amostras de salame controle e as tratadas com o extrato de caqui serem pequenas, estes valores inferiores de pH nos primeiros dias de fermentação podem ter contribuído para uma diminuição mais rápida dos coliformes presentes nestas amostras.

Diferentemente do que o observado no presente experimento com o extrato de caqui, Bozkurt (2006) verificou que a adição de antioxidantes naturais (extrato de chá verde e óleo de *Thymbra spicata*) não afetou significativamente o pH de lingüiça fermentada durante seu período de maturação. Em experimento conduzido por Campagnol (2007) a adição de extrato de marcela em salames também não alterou significativamente ($p > 0,05$) os valores de pH durante o período de fabricação.

Além do pH outro parâmetro importante a ser controlado na fabricação do salame é a atividade de água (TERRA, 2005). Através da tabela 3 podem-se observar as mudanças nos valores de atividade de água durante o período de fabricação dos salames. Segundo Terra

(2005) quando o salame atinge a atividade de água de 0,87 sua fabricação é dada por concluída, já a atividade de água de embutido fermentado para exportar para os USA e Japão deve ser igual ou inferior a 0,86. A atividade de água das amostras de salame controle e das adicionadas do extrato hidroetanólico de caqui (0,5 e 0,7%) e do extrato oleoso de alecrim diminuiu ao longo do período de fabricação, atingindo valores de 0,858; 0,852; 0,860 e 0,857; respectivamente após concluída a fabricação (28° dia), os quais não diferiram significativamente entre si ($p < 0,05$). Esta redução pode ser atribuída ao decréscimo nos valores de pH, pois a capacidade de retenção de água das proteínas da carne é diminuída quando o pH se aproxima do seu ponto isoelétrico, acelerando a desidratação e conseqüentemente reduzindo a atividade de água (CHASCO; LIZASO; BERIAIN, 1996). Segundo Buckenhüskes (1993) o pH próximo ao ponto isoelétrico das proteínas (5,3) é importante, pois reduz a capacidade de retenção de água, favorecendo a secagem e a perda de peso pelo produto cárneo fermentado, conferindo textura firme e fatiabilidade ao produto final.

A perda de peso ao final de 28 dias de fabricação do salame foi de 43,70%, 43,76%, 42,50% e 43,33% no lote controle, nos salames adicionados de extrato de caqui (0,5 e 0,7%) e extrato oleoso de alecrim, respectivamente, não sendo observada diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos (Tabela 3). Esses valores estão próximos da faixa de 30 a 40%, considerada ideal para produtos fermentados secos (RUST, 1994). Campos (2002) verificou perda de peso ao final do processamento em salame tipo italiano entre 37,9% e 40,7%. Já Campagnol (2007) observou que a perda de peso em salames controle e adicionados de 0,5 e 1% de extrato de marcela foi de 46,92%, 46,78% e 45,86%, respectivamente. Dessa forma, os resultados encontrados neste experimento estão próximos dos valores encontrados nos trabalhos citados anteriormente.

A tabela 4 apresenta os valores da determinação da cor durante a fabricação dos salames. Os valores de L^* diminuíram em todos os tratamentos ao longo dos 28 dias de fabricação, não sendo observada diferença significativa entre os tratamentos nos salames prontos. Este decréscimo provavelmente se deva a formação da cor escura em decorrência de reações de escurecimento (BOZKURT; ERKMEN, 2002). Kayaardi e Gök (2003) também observaram que os valores de L^* de salames geralmente decrescem durante o período de maturação.

Os valores de b^* diminuíram em todos os tratamentos durante a fabricação, não sendo observada diferença significativa entre os mesmos (Tabela 4). Estes resultados concordam com os dados obtidos por Perez-Alvarez et al. (1999), que observaram a diminuição dos valores de b^* de salames durante a fermentação e maturação, atribuindo este decréscimo ao consumo de oxigênio pelos microrganismos, e a conseqüente diminuição da oximioglobina, a qual contribui para a coloração amarela. Os salames com os antioxidantes naturais em teste, quando prontos, não apresentaram diferença significativa do controle em relação aos valores do parâmetro b^* . Semelhantemente ao verificado no presente experimento com a adição do extrato hidroetanólico de caqui Rama forte e do extrato oleoso de alecrim em salame, Bozkurt (2006) observou que a adição do extrato de chá verde em lingüiça fermentada não influenciou significativamente os parâmetros de cor L e b .

A adição do extrato de caqui e do extrato oleoso de alecrim reduziu significativamente os valores de a^* , em comparação com as amostras controle no início (dia 0), mas quando prontos os salames tratados e controle não diferiram em relação ao parâmetro a^* (Tabela 4). Este resultado indica que a coloração vermelha do salame não foi significativamente afetada pelos extratos adicionados. Da mesma forma que o verificado no presente experimento com a adição do extrato de caqui e de alecrim, Bozkurt (2006) verificou que a adição de extrato de

chá verde não influenciou o valor do parâmetro a* da lingüiça fermentada no final do período de maturação.

Segundo Araujo (2008), o teste de TBARS é o método preferido para detectar a oxidação de lipídios em sistemas biológicos. As mudanças nos valores de TBARS foram acompanhadas durante a fabricação (Tabela 3) e o período de armazenamento do salame (Figura 1). A oxidação lipídica das amostras de salame foi significativamente reduzida ($p < 0,05$) pela adição de extrato de caqui (0,5% e 0,7%) e de alecrim (0,10%). No início do período de fabricação do salame (0 dia), os valores de TBARS dos tratamentos e controle apresentaram-se sem diferença significativa, mas no decorrer do período de fabricação (Tabela 3) e durante o armazenamento (Figura 1) as amostras de salame tratadas apresentaram valores de TBARS significativamente menores ($p < 0,05$), em relação ao controle. A amostra de salame controle e as adicionadas de extrato de caqui (0,5% e 0,7%) e de alecrim (0,10%) apresentaram valores de TBARS de 2,777; 1,168; 0,637 e de 0,598; respectivamente, aos 60 dias de armazenamento. Estes resultados sugerem que os extratos de caqui e de alecrim interferem na oxidação lipídica durante o período de fabricação e de armazenamento dos salames e mantiveram o produto em condições adequadas para o consumo quanto a oxidação lipídica por maior período que as amostras controle, pois segundo relatado por Terra, Cichoski e Freitas (2006) valores de TBARS acima de 1,59 mg de aldeído malônico/ Kg de amostra podem causar danos à saúde do consumidor.

Da mesma forma que o observado neste experimento onde o salame adicionado de maior nível de extrato de caqui (0,7%) apresentou menor valor TBARS, Nassu et al. (2003) observaram em embutido fermentado de carne de caprinos adicionados de diferentes níveis de extrato de alecrim. Verificaram os maiores valores de TBARS no tratamento controle (sem antioxidante), seguido das amostras adicionadas de 0,025 e 0,05% de extrato de alecrim, indicando que as reações oxidativas estão diretamente relacionadas com o efeito de proteção

do antioxidante adicionado, uma vez que o tratamento controle apresentou valores mais elevados de TBARS, seguido do tratamento com o menor nível de antioxidante natural e do com maior nível de antioxidante. Desta forma, o antioxidante natural utilizado em maior concentração proporcionou maior proteção contra a oxidação lipídica conforme o observado no presente experimento.

Campagnol (2007) verificou que a adição de extrato de marcela diminuiu significativamente os valores de TBARS durante o armazenamento de salames, comparado ao controle, observou também que o tratamento com a maior concentração de extrato de marcela (1%) mostrou uma maior estabilidade lipídica que o lote com 0,5%, porém provocou uma diminuição significativa ($p < 0,05$) na aceitação sensorial dos salames. Já no presente experimento o extrato de caqui em ambas as concentrações empregadas (0,5 e 0,7%) não interferiram na cor, aroma, sabor e textura das amostras de salame (Tabela 5). Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos contendo o extrato de caqui, o extrato de alecrim e o controle nos atributos sensoriais avaliados.

Já em experimento conduzido por Terra et al. (2002) onde adicionaram o BHA e o extrato hidroetanólico de erva mate a 0,5% e 1% em salame tipo italiano com objetivo de inibir a rancificação verificaram que os tratamentos com extrato de erva-mate 0,5% e BHA obtiveram os melhores resultados sensoriais quando comparados aos tratamentos com o extrato de erva-mate 1% e controle, e que o extrato hidroetanólico de erva mate 0,5% além de inibir a oxidação lipídica também melhorou a cor do salame.

Da mesma maneira que o observado no presente experimento onde os atributos sensoriais não sofreram influência dos extratos naturais adicionados (Tabela 5), Ciriano et al. (2009) ao fazerem uma avaliação da capacidade antioxidante de extrato bruto liofilizado de folhas de *Borago officinalis* em salames enriquecidos com ômega 3, verificaram que o

extrato liofilizado (340 ppm) mostrou capacidade antioxidante equivalente a 200 ppm da mistura de BHA e BHT e não afetou as propriedades sensoriais do salame.

Em estudo de Bozkurt (2006) onde adicionou o extrato natural de chá verde, óleo de *Thymbra spicata* e o antioxidante sintético (BHT) em lingüiça fermentada verificou que a adição dos antioxidantes naturais diminuiu significativamente os valores de TBARS em maior extensão que o BHT e que a qualidade sensorial global da lingüiça fermentada também não foi significativamente diferente com a adição dos extratos de chá verde e óleo de *Thymbra spicata* em relação ao controle.

4 CONCLUSÃO

Mediante os resultados obtidos no presente experimento pode-se concluir que o extrato hidroetanólico de caqui cv. Rama Forte retardou a oxidação lipídica durante o período de fabricação e de armazenamento do salame, sendo que quando na concentração de 0,7% apresentou valores de TBARS semelhantes aos das amostras tratadas com extrato de alecrim na maioria dos dias analisados. Em ambas as concentrações empregadas (0,5 e 0,7%) o extrato de caqui cv. Rama Forte não alterou as contagens de microrganismos, as características sensoriais e os parâmetros de cor L*, a* e b* das amostras de salame após a conclusão de sua elaboração.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, M. A. J. **Química dos Alimentos-Teoria e Prática**. 4.ed. Viçosa: UFV, 2008. 596p.

BRAGAGNOLO, N.; DANIELSEN; SKIBSTED, L. H. Effect of rosemary on lipid oxidation in pressure-processed, minced chicken breast during refrigerated storage and subsequent heat treatment. **European Food Research and Technology**, v.221, p.610-615, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 set. 2003. Seção 1, p. 14.

BOZKURT, H. Utilization of natural antioxidants: Green tea extract and *Thymbra spicata* oil in Turkish dry-fermented sausage. **Meat Science**, v. 73, n. 3, p. 442–450, 2006.

BOZKURT, H.; ERKMEN, O. Effects of starter culture and additives on the quality of Turkish style sausage (sucuk). **Meat Science**, v. 61, p. 149-156, 2002.

BUCKENHÜSKES, H. J. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as *starter* cultures for various food commodities. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 12, n. 1-3, p. 253-271, 1993.

CAMPAGNOL, P.C.B. **Cultura *starter* produzida em meio de cultura de plasma suíno e antioxidante natural na elaboração do salame**. Santa Maria, 2007. 74f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

CAMPOS, R. M. L. **Influência da alimentação na qualidade da carcaça suína e do pernil para a fabricação de salame tipo italiano**. Santa Maria, 2002. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos), Universidade Federal de Santa Maria.

CHASCO, J.; LIZASO, G.; BERIAIN, M. J. Cured colour development during sausage processing. **Meat Science**, v. 44, n. 3, p. 203-211, 1996.

CHEN, X.N.; FAN, J.F.; YUE, X.; WU, X.R.; LI, L.T. Radical scavenging activity and phenolic compounds in persimmon (*Diospyros kaki* L., cv. Mopan). **Journal of Food Science**, v. 73, n.1, p.24-28, 2008.

CIRIANO, M.S.; GARCÍA-HERREROS, C.; VALENCIA, E. L., I.; ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I. Use of natural antioxidants from lyophilized water extracts of *Borago officinalis* in dry fermented sausages enriched in ω -3 PUFA. **Meat Science**, v. 83, P. 271–277, 2009.

COSTA NETO, P. L. O. **Estatística**. São Paulo: Edgard Bluches, 1977. 264p.

GONZÁLES-FERNÁNDEZ, C.; SANTOS, E. M.; ROVIRA, J.; JAIME, I. The effect of sugar concentration and *starter* culture on instrumental and sensory textural properties of chorizo-Spanish dry-cured sausage. **Meat Science**, v. 74, n. 3, p. 467-475, 2006.

GORINSTEIN, S.; ZACHWIEJA, Z.; FOLTA, M.; BARTON, J. P.; PIOTROWICZ, M. Z., ZEMSER, M.; WISZ, M., TRAKHTENBERG, S.; BELLOSO, O. M. Comparative Contents of dietary fiber, total phenolics, and minerals in Persimmons and apples. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.49, p.952-957, 2001.

HAMMES, W.; BANTLEON, A.; MIN, S. Lactic acid bacteria in meat fermentation. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 87, p. 165-174, 1990.

HAYES, J.E.; STEPANYAN, V.; ALLEN, P.; O'GRADY, M.N.; KERRY, J.P. Effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on the quality and shelf-life stability of packaged raw minced beef patties. **Meat Science**, v. 84, p.613-620, 2010.

HUGAS, M.; MONFORT, J. M. Bacterial starter cultures for meat fermentation. **Food Chemistry**, v. 59, n. 4, p. 547-554, 1997.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711p.

KATSUBE, T.; TABATA, H.; OHTA, Y.; YAMASAKI, Y.; ANUURAD, E.; SHIWAKU, K.; YAMANE, Y. Screening for antioxidant activity in edible plant products: comparison of low-density lipoprotein oxidation assay, DPPH radical scavenging assay, and Folin-Ciocalteu assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.8, p.2391-2396, 2004.

KAYAARDI, S.; GÖK, V. Effect of replacing beef fat with olive oil on quality characteristics of Turkish soudjouk (sucuk). **Meat Science**, v. 66, n. 1, p. 249–257, 2003.

LIZASO, G.; CHASCO, J.; BERIAIN, M. J. Microbial and biochemical changes during ripening of salchichón, a Spanish dry cured sausage. **Food Microbiology**, v.16, n. 3, p. 219-228, 1999.

LÜCKE, F. K. Fermented meat products. **Food Research International**, v. 27, n. 3, p. 299-307, 1994.

MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. Revisão: Antioxidantes Naturais da Família Lamiaceae. Aplicação em Produtos Alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 10, n. 2, p. 96-103, 2007.

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

MILANI, L. I. G.; TERRA, N. N.; FRIES, L. L.; REZER, A. P. S.; FERREIRA, S. F.; CICHOSKI, A. J.; VALENTE, C. R. F. Oxidação lipídica, características sensoriais e cor da carne de frango adicionada de extratos de caqui (*Diospyros kaki* L.) e submetida a tratamento térmico. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.13, n.4, p.242-250, 2010.

MINIM, V. P. R. **Análise sensorial: estudos com consumidores**. Viçosa: Editora UFV, 2006. 225p.

NASSU, R. T.; GONÇALVES, L. A. G.; DA SILVA, M. A. A. P.; BESERRA, F. J. Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. **Meat Science**, v. 63, n. 1, p. 43–49, 2003.

PEREZ-ALVAREZ, J. A.; SAYES-BARBARE, M. E.; FERNANDEZ-LOPEZ, J.; ARANDA-CATALA, V. Physicochemical characteristics of Spanish-type dry-cured sausage. **Food Research International**, v. 32, n. 9, p. 599–607, 1999.

POKORNÝ, J. Are natural antioxidants better – and safer – than synthetic antioxidants? **European Journal of Lipid Science**, v.109, p. 629-642, 2007.

RAHARJO, S.; SOFOS, J. N.; SCHMIDT, G. R. Improved speed, specificity and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C18 method for measuring lipid peroxidation in beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 2, p. 2182-2185, 1992.

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

ROIG-SAGUÉS, A. X.; HERNÁNDEZ-HERRERO, M. M.; LÓPEZ-SABATER, E.I.; RODRÍGUEZ-JEREZ, J. J.; MORA-VENTURA, M. T. Microbiological events during the elaboration of “fuet”, a Spanish ripened sausage. **European Food Research and Technology**, v. 209, n. 2, p. 108–112, 1999.

RUST, R. E. Productos Embutidos. In: PRICE, J. F.; SCHWEIGERT, B. S. (Org.). **Ciencia de La Carne y de Productos Carnicos**. 2nd ed. Zaragoza: Acríbia,1994, p. 415-440.

SHAHIDI, F. Antioxidants in food and food antioxidants. **Nahrung**, v.44, n.3, p.158-163, 2000.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**, 3.ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007. 552p.

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.; DE CARLI, E.M.; TELLES, M.M.; DREHMER, A.M.F.; QUADROS, C.P.; MALHEIROS, P.S.; WAGNER, R.; FRIES, L.L.M. Antioxidante natural na melhoria da qualidade do salame tipo italiano. In: 2ºSIMPÓSIO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS - SIMPOCAL, 2002, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, UFSC, 2002.

TERRA, N. N. **Apontamentos de tecnologia de carnes**. São Leopoldo: Editora Unisinos, 2005.

TERRA, N.N.; CICHOSKI,A.J.; FREITAS, R.J.S. Valores de Nitrito e TBARS durante o processamento e armazenamento da paleta suína curada, maturada e fermentada. **Ciência Rural**, v.36, n.3, p. 965-970, 2006.

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

VEBERIC et al. Comparative study of primary and secondary metabolites in 11 cultivars of persimmon fruit (*Diospiros kaki L.*). **Food Chemistry**, v.119, p.477-483, 2010.

ZHAO, B.; HALL, C. A. Composition and antioxidant activity of raisin extracts obtained from various solvents. **Food Chemistry**, v.108, p.511-518, 2008.

TABELAS E FIGURA

Tabela 1. Quantidade de compostos fenólicos totais do extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte e do extrato oleoso de alecrim.

Compostos fenólicos totais (mg GAE·100 mL⁻¹)	
Extrato oleoso de alecrim	4.022,39 ± 108,57*
Extrato hidroetanólico bruto	1.353,00 ± 4,24

**Valores médios ± desvio padrão (n=3)

* valor de compostos fenólicos para extrato oleoso de alecrim expresso em mg GAE·100g⁻¹

Tabela 2. Valores médios da contagem de bactérias lácticas, *Staphylococcus coagulase negativa* e positiva, coliformes a 35 °C e 45 °C; e pesquisa de *Salmonella* sp. das amostras de salame controle e das adicionadas do extrato hidroetanólico de caqui cv. Rama Forte e do extrato oleoso de alecrim durante o período de fabricação.

	C	T1	T2	T3
Bactérias lácticas				
	Log UFC g⁻¹			
Dia 0	6,43±0,601**	6,32±0,214 ^a	5,97±0,067 ^a	5,88±0,158 ^a
Dia 5	8,16±0,038 ^a	8,22±0,060 ^a	8,16±0,103 ^a	8,19±0,024 ^a
Dia 7	8,14±0,086 ^{ab}	7,95±0,139 ^b	8,05±0,049 ^{ab}	8,19±0,077 ^a
Dia 14	8,05±0,044 ^a	8,02±0,028 ^a	8,04±0,095 ^a	8,04±0,075 ^a
Dia 21	7,79±0,039 ^{ab}	7,81±0,012 ^{ab}	7,77±0,035 ^b	7,92±0,120 ^a
Dia 28	7,79±0,165 ^a	7,73±0,128 ^a	7,71±0,064 ^a	7,78±0,051 ^a
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>				
	Log UFC g⁻¹			
Dia 0	6,85±0,506 ^a	6,59±0,188 ^a	6,48±0,168 ^a	6,43±0,125 ^a
Dia 5	5,55±0,213 ^a	5,53±0,199 ^a	5,42±0,334 ^a	5,69±0,284 ^a
Dia 7	5,47±0,210 ^a	5,38±0,401 ^a	5,39±0,058 ^a	5,40±0,273 ^a
Dia 14	5,35±0,861 ^a	5,15±0,113 ^a	5,18±0,250 ^a	5,14±0,184 ^a
Dia 21	5,22±0,513 ^a	4,58±0,392 ^a	4,89±0,074 ^a	4,88±0,093 ^a
Dia 28	4,73±0,0813 ^a	4,70±0,085 ^a	4,73±0,033 ^a	4,72±0,140 ^a
<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>				
	Log UFC g⁻¹			
Dia 0	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00
Dia 5	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00
Dia 7	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00
Dia 14	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00
Dia 21	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00
Dia 28	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00
Coliformes a 35 °C				
	Log UFC g⁻¹			
Dia 0	3,52±0,636 ^a	3,78±0,592 ^a	4,19±0,507 ^a	3,73±0,393 ^b
Dia 5	3,92±0,138 ^a	3,14±0,444 ^a	3,03±0,562 ^a	3,41±0,619 ^a
Dia 7	3,04±0,500 ^a	1,95±0,102 ^b	1,80±0,227 ^b	1,80±0,118 ^b
Dia 14	1,94±0,696 ^a	1,07±0,150 ^b	1,30±0,244 ^{ab}	1,19±0,232 ^{ab}
Dia 21	1,15±0,800 ^a	1,00±0,000 ^a	1,00±0,000 ^a	1,22±0,150 ^a
Dia 28	1,00±0,000 ^a	1,00±0,000 ^a	1,07±0,150 ^a	1,32±0,650 ^a
Coliformes a 45 °C				
	Log UFC g⁻¹			
Dia 0	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00
Dia 5	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00
Dia 7	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00
Dia 14	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00
Dia 21	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00
Dia 28	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00
<i>Salmonella</i> sp. /25g de amostra				
Dia 0	ausente	ausente	ausente	ausente
Dia 28	ausente	ausente	ausente	ausente

*Médias ± desvio de cada dia analisado, na mesma linha, não acompanhadas de mesma letra minúscula são significativamente diferentes pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância, p<0,05; **C**: controle; **T1**: amostra de salame adicionada de 0,5% de extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte; **T2**: amostra de salame adicionada de 0,7% de extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte; **T3**: amostra de salame adicionada de 0,10% (sobre o teor de gordura) de extrato oleoso de alecrim.

Tabela 3. Valores médios da atividade de água, pH, perda de peso e TBARS das amostras de salame controle, das adicionadas do extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte e do extrato oleoso de alecrim durante o período de fabricação.

	C	T1	T2	T3
Atividade de água				
Dia 0	0,960±0,010 ^{a*}	0,964±0,0007 ^a	0,960±0,0035 ^a	0,972±0,002 ^a
Dia 7	0,943±0,000 ^a	0,937±0,0056 ^a	0,937±0,0099 ^a	0,944±0,009 ^a
Dia 14	0,914±0,028 ^a	0,917±0,002 ^a	0,920±0,014 ^a	0,920±0,020 ^a
Dia 21	0,894±0,006 ^a	0,887±0,0014 ^{ab}	0,892±0,0042 ^{ab}	0,877±0,007 ^b
Dia 28	0,858±0,003 ^a	0,852±0,0014 ^a	0,860±0,0014 ^a	0,857±0,001 ^a
pH				
Dia 0	5,93±0,02 ^a	5,85±0,01 ^b	5,73±0,01 ^c	5,85±0,01 ^b
Dia 5	5,03±0,005 ^b	4,97±0,005 ^c	5,01±0,01 ^b	5,07±0,005 ^a
Dia 7	5,03±0,01 ^b	5,06±0,02 ^a	4,97±0,005 ^c	5,09±0,005 ^a
Dia 14	5,01±0,005 ^b	4,90±0,005 ^d	4,97±0,01 ^c	5,08±0,01 ^a
Dia 21	5,06±0,005 ^a	4,94±0,03 ^b	4,88±0,02 ^c	5,05±0,005 ^a
Dia 28	5,06±0,01 ^a	5,02±0,02 ^b	4,95±0,01 ^c	5,10±0,01 ^a
Perda de peso (%)				
Dia 7	19,60±0,517 ^a	18,57±0,726 ^a	17,23±3,228 ^a	17,90±1,495 ^a
Dia 14	31,70±0,568 ^a	32,34±1,285 ^a	32,30±2,296 ^a	31,74±3,166 ^a
Dia 21	37,11±3,966 ^a	39,90±1,055 ^a	40,06±1,209 ^a	39,92±1,552 ^a
Dia 28	43,70±1,170 ^a	43,76±0,351 ^a	42,50±1,617 ^a	43,33±1,326 ^a
TBARS (mg MA/Kg amostra)				
Dia 0	0,300±0,099 ^{a*}	0,266±0,0173 ^a	0,294±0,078 ^a	0,198±0,046 ^a
Dia 7	0,372±0,054 ^a	0,270±0,056 ^b	0,190±0,023 ^b	0,181±0,027 ^b
Dia 28	0,815±0,041 ^a	0,670±0,022 ^b	0,567±0,011 ^c	0,477±0,013 ^d

*Médias ± desvio padrão de cada dia analisado, na mesma linha, não acompanhadas de mesma letra minúscula são significativamente diferentes pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância, p<0,05; **C**: controle; **T1**: amostra de salame adicionada de 0,5% de extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte; **T2**: amostra de salame adicionada de 0,7% de extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte; **T3**: amostra de salame adicionada de 0,10% (sobre o teor de gordura) de extrato oleoso de alecrim.

Tabela 4. Médias dos parâmetros L*, a* e b*, das amostras de salame controle e das adicionadas do extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte e do extrato oleoso de alecrim durante o período de fabricação.

	C	T1	T2	T3
Parâmetro L*				
Dia 0	^A 54,04±4,88 ^{***}	^A 58,04±1,23 ^a	^A 57,36±4,65 ^a	^A 55,75±1,85 ^a
Dia 5	^{AB} 49,16±1,03 ^a	^B 52,50±1,98 ^a	^B 47,31±2,07 ^a	^B 51,92±2,24 ^a
Dia 7	^{BC} 45,99±2,18 ^a	^C 48,55±0,64 ^a	^{BC} 46,23±2,10 ^a	^C 47,03±1,52 ^a
Dia 14	^{CD} 40,83±1,50 ^b	^D 45,22±1,67 ^a	^{CD} 41,27±0,184 ^b	^D 44,05±0,228 ^a
Dia 21	^{CD} 43,05±0,96 ^a	^E 40,48±0,95 ^b	^{BCD} 43,04±1,53 ^a	^{DE} 42,87±1,14 ^{ab}
Dia 28	^D 40,35±1,73 ^a	^E 41,85±0,37 ^a	^D 40,28±0,48 ^a	^E 41,00±1,22 ^a
Parâmetro a*				
Dia 0	^A 25,74±3,34 ^a	^{ABC} 19,75±2,18 ^b	^{AB} 20,76±1,12 ^b	^A 17,74±0,27 ^b
Dia 5	^B 19,49±0,50 ^b	^{AB} 22,26±1,66 ^a	^A 21,73±0,34 ^{ab}	^A 23,78±1,94 ^a
Dia 7	^{AB} 22,78±1,45 ^a	^A 22,60±2,51 ^a	^{AB} 20,26±0,96 ^a	^A 21,66±0,51 ^a
Dia 14	^B 19,84±0,476 ^{ab}	^{BC} 18,87±0,85 ^b	^B 20,04±0,32 ^a	^A 19,53±0,18 ^{ab}
Dia 21	^B 19,89±1,33 ^a	^C 18,26±0,76 ^a	^{AB} 20,80±0,90 ^a	^A 18,10±2,05 ^a
Dia 28	^B 19,79±4,21 ^a	^C 18,32±0,67 ^a	^C 17,09±0,26 ^a	^A 18,63±1,09 ^a
Parâmetro b*				
Dia 0	^A 13,79±1,08 ^a	^A 11,82±0,36 ^b	^A 13,67±0,80 ^a	^A 13,64±0,88 ^a
Dia 5	^B 10,68±0,48 ^a	^A 11,78±0,99 ^a	^B 10,71±0,28 ^a	^B 11,86±0,79 ^a
Dia 7	^B 10,49±0,41 ^a	^B 10,07±0,58 ^a	^C 8,53±0,54 ^b	^C 8,66±0,16 ^b
Dia 14	^C 6,86±0,19 ^{ab}	^C 6,92±0,67 ^{ab}	^D 6,70±0,14 ^b	^{CD} 7,53±0,11 ^a
Dia 21	^C 6,72±0,44 ^a	^C 5,96±0,09 ^a	^D 6,54±0,41 ^a	^D 6,23±0,95 ^a
Dia 28	^C 5,72±0,64 ^{ab}	^C 5,81±0,12 ^{ab}	^E 5,27±0,07 ^a	^D 6,17±0,39 ^a

** Médias ± desvio padrão de cada dia analisado, na mesma linha, não acompanhadas de mesma letra minúscula são significativamente diferentes pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância, p<0,05; médias de cada dia analisado, para cada parâmetro na mesma coluna, não acompanhadas de mesma letra maiúscula são significativamente diferentes pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância, p<0,05. **C**: controle; **T1**: amostra de salame adicionada de 0,5% de extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte; **T2**: amostra de salame adicionada de 0,7% de extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte; **T3**: amostra de salame adicionada de 0,10% (sobre o teor de gordura) de extrato oleoso de alecrim.

Tabela 5. Valores médios das notas de aceitação sensorial para cor, aroma, sabor e textura dos salames controle e dos adicionados do extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte e do extrato oleoso de alecrim.

	C	T1	T2	T3
Cor	5,59 ^a ±1,04 ^a	5,78±0,97 ^a	5,64±1,16 ^a	5,37±1,13 ^a
Aroma	5,18±1,15 ^a	5,24±1,21 ^a	5,16±1,30 ^a	5,10±0,90 ^a
Sabor	5,24±1,09 ^a	5,45±0,99 ^a	5,18±1,24 ^a	5,16±1,30 ^a
Textura	5,43±1,01 ^a	5,54±0,99 ^a	5,40±1,03 ^a	5,56±1,16 ^a

*Médias ± desvio padrão (n=37) de cada atributo sensorial analisado, na mesma linha, seguidas da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância, p>0,05; **C**: controle; **T1**: amostra de salame adicionada de 0,5% de extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte; **T2**: amostra de salame adicionada de 0,7% de extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte; **T3**: amostra de salame adicionada de 0,10% (sobre o teor de gordura) de extrato oleoso de alecrim.

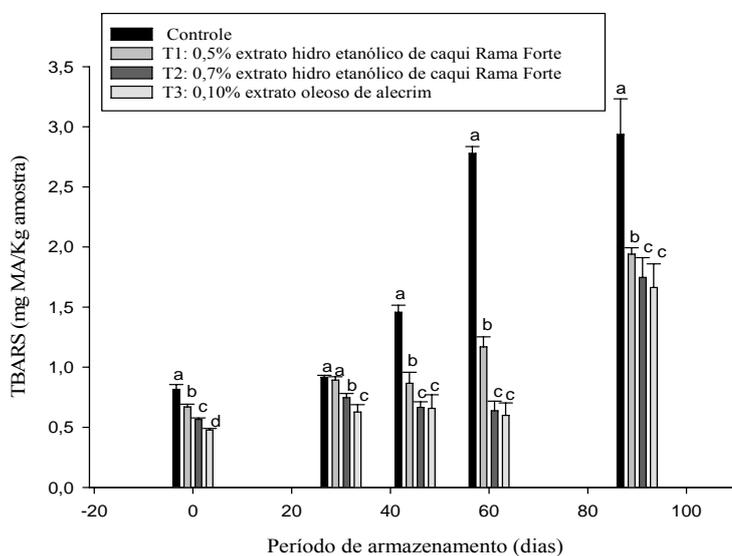


Figura 1. Valores médios de TBARS das amostras de salames controle e das adicionadas do extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte e do extrato oleoso de alecrim durante o período de armazenamento.

4.5 Artigo 5

Artigo Científico publicado na **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.33, n.3, p.1085-1094, 2012, DOI: 10.5433/1679-0359.2012v33n3p1085

EFEITO DE EXTRATOS DE CAQUI (*Diospyros kaki* L.) CULTIVAR RAMA FORTE E DO EXTRATO OLEOSO DE ALECRIM (*Rosmarinus officinalis* L.) NAS CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS E NA ESTABILIDADE DA COR DE HAMBÚRGUER DE CARNE BOVINA CONGELADO

Efeito de extratos de caqui (*Diospyros kaki* L.) cultivar Rama Forte e do extrato oleoso de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) nas características sensoriais e na estabilidade da cor de hambúrguer de carne bovina congelado

Effect of the extract of persimmon (*Diospyros kaki* L.) cv. 'Rama Forte' and rosemary oily extract (*Rosmarinus officinalis* L.) on the sensory characteristics and color stability of frozen beef burgers

Liana Inês Guidolin Milani^{1*}; Nelcindo Nascimento Terra²;
Leadir Lucy Martins Fries²; Ernesto Hashime Kubota²

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de extratos de caqui cv. Rama Forte e do extrato oleoso de alecrim sobre as características sensoriais e a estabilidade da cor de hambúrguer de carne bovina congelado. Para tanto foi elaborado o extrato hidroetanólico bruto que foi fracionado obtendo-se a fração hexânica, clorofórmica, de acetato de etila e a fração residual. Para o preparo das amostras de hambúrguer foi elaborada uma formulação básica que foi dividida em partes: controle, padrão (formulação adicionada de 0,1% de eritorbato de sódio), tratamento 1 (0,5% de extrato hidroetanólico bruto), tratamento 2 (0,7% de extrato hidroetanólico bruto), tratamento 3 (0,5% da fração residual), tratamento 4 (0,7% da fração residual), tratamento 5 (0,5% da fração acetato de etila), tratamento 6 (0,7% da fração acetato de etila) e tratamento 7 (0,10% de extrato oleoso de alecrim). As amostras de hambúrguer foram armazenadas a $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 14 meses e submetidas a análise sensorial (cor, aroma, sabor e textura) no início do experimento e a determinação da cor (L^* , a^* , b^* e h^*) a cada 2 meses. A adição dos extratos não promoveu alteração dos atributos sensoriais do hambúrguer bovino no tempo zero de armazenamento. Ocorreu tendência de diminuição dos valores de a^* e aumento dos valores de h^* das amostras de hambúrguer congeladas ao longo do período de armazenamento. As amostras adicionadas da fração acetato de etila (0,5 e 0,7%) e do extrato oleoso de alecrim apresentaram maiores valores de a^* que as demais amostras ao longo do período de armazenamento e menores valores de h^* que a amostra padrão, no final do período avaliado, indicando que a adição da fração acetato de etila e do extrato de alecrim contribuíram na retenção e estabilidade da cor vermelha das amostras de hambúrguer de carne bovina durante o período de armazenamento do produto congelado.

Palavras-chave: Extratos naturais, *Diospyros kaki* L., qualidade sensorial, cor, hambúrguer de carne bovina

¹ Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Santa Maria, RS. E-mail: lianamilani@yahoo.com.br

² Profs. do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. UFSM, Santa Maria, RS. E-mail: nelcindoterra@gmail.com; lucymicro@yahoo.com.br; ernehk2008@yahoo.com.br

* Autor para correspondência

Abstract

This study aimed to evaluate the effect of the extract of persimmon cv. 'Rama Forte' and rosemary oily extract on the sensory characteristics and color stability of frozen beef burgers. The crude hydroethanolic extract was prepared and subjected to fractionation resulting in the hexane, chloroform and ethyl acetate fractions as well as residual fraction. For the preparation of the burger samples a basic formulation was prepared and divided into parts: control, standard formulation (0.1% of sodium erythorbate), treatment 1 (0.5% of hydroethanolic crude extract), treatment 2 (0.7% of hydroethanolic crude extract), treatment 3 (0.5% of the residual fraction), treatment 4 (0.7% of the residual fraction), treatment 5 (0.5% of ethyl acetate fraction), Treatment 6 (0.7% of ethyl acetate fraction) and treatment 7 (0.10% of oily extract of rosemary). The beef burger samples were stored at -25° C for 14 months and subjected to sensory analysis (color, aroma, flavor, and texture) at the beginning of the experiment and the measurement of color (parameters L^* , b^* and h^*) every two months. The addition of the extracts did not promote changes in the sensory attributes of the beef burgers at time zero of storage. A tendency to decrease a^* values and increase of the h^* values of the samples of frozen beef burgers occurred over the period of storage. Samples added with ethyl acetate fraction (0.5 and 0.7%) and the oily extract of rosemary showed higher a^* values than the other samples throughout the storage period and lower h^* values than the standard sample at the end of the period evaluated. This indicates that the addition of ethyl acetate fraction and rosemary extract contributed to the retention and stability of the red color of the samples of beef burgers during the storage of the frozen product.

Key words: Natural extracts, *Diospyros kaki* L, sensory quality, color, beef burger

A oxidação lipídica, é uma das principais razões da deterioração da qualidade de produtos cárneos, principalmente devido ao seu conteúdo de gordura, a natureza altamente cominuída das matérias-primas e o armazenamento congelado por longo prazo antes do consumo. Processos oxidativos estão associados com a descoloração de produtos cárneos, uma vez que a oxidação lipídica resulta na formação de pró-oxidantes capazes de reagir com a oximioglobina, conduzindo a formação de metamioglobina. Esta mudança irreversível contribui para o desenvolvimento de características sensoriais inaceitáveis é de grande importância, sobretudo ao se considerar produtos cárneos congelados, tais como hambúrgueres, os quais possuem sua vida útil determinada pelo grau destas reações (GEORGANTELIS et al., 2007).

Existe um crescente interesse por antioxidantes encontrados em plantas, devido à tendência mundial pelo uso de aditivos naturais em alimentos (YANISHLIEVA; MARINOVA; POKORNY, 2006). Alguns alimentos vegetais, incluindo as frutas, têm sido estudados especialmente como fontes de antioxidantes para carnes e produtos cárneos (MILANI et al., 2010). Segundo Velazco

(2005) para que um antioxidante possa ser empregado em um alimento deve ser seguro, fácil de incorporar e efetivo em baixas concentrações. Além disso, deve ser livre de odor, sabor e cor, termoestável e economicamente viável.

No caqui (*Diospyros kaki* L.) ocorre a presença de inúmeros compostos com reconhecida atividade antioxidante, sendo que tem sido salientada a presença dos polifenóis, incluindo flavonóides e não flavonóides com diversas variações estruturais, entre estes o ácido gálico, ácido benzóico, ácido cinâmico, ácido p-cumárico, catequinas e as proantocianidinas ou taninos condensados (GIORDANI et al., 2011). Em experimento conduzido por Milani et al. (2010) foi verificado que o extrato hidroetanólico de *Diospyros kaki* L. da cultivar (cv.) Rama Forte promoveu elevada inibição da oxidação lipídica em carne de frango demonstrando melhor desempenho como antioxidante que o extrato hidroetanólico de *Diospyros kaki* L. cv. Quioto. Verificaram também que ambos os extratos não alteraram significativamente as características sensoriais das amostras de carne de frango e interferiram menos na coloração das amostras que o extrato de erva mate utilizado como referência.

O alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) é uma especiaria que tem sido muito estudada devido ao seu elevado potencial antioxidante. Extratos de alecrim estão disponíveis comercialmente como antioxidantes (VELAZCO, 2005), sendo que diversas substâncias com atividade antioxidante foram identificadas nos extratos da folha de alecrim, dentre elas estão o ácido rosmarínico, carnosol e ácido carnósico (ARAUJO, 2008).

Desta forma, baseando-se nos fatos expostos, a avaliação do efeito de extratos naturais sobre as características sensoriais e sua influência sobre a estabilidade da cor em sistemas alimentares específicos como o hambúrguer, é necessária para verificar a possibilidade de aplicação destes extratos em produtos cárneos. Portanto, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito de extratos de caqui cv. Rama Forte e do extrato oleoso de alecrim sobre as características sensoriais (cor, aroma, sabor e textura) de hambúrguer de carne bovina através de análise sensorial, bem como avaliar a influência destes extratos sobre a estabilidade da cor durante o período de armazenamento do produto congelado.

Preparo do extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte e fracionamento – Caquis (*Diospyros kaki* L.) da cv. Rama Forte provenientes de um pomar comercial de Nova Pádua – RS foram colhidos em março de 2010 (estágio semimaduro). Para o preparo do extrato hidroetanólico bruto, os caquis foram desidratados em estufa com circulação de ar forçada a 60 °C por 48 horas e posteriormente, reduzidos a pó. Com auxílio de um liquidificador doméstico, o produto vegetal desidratado foi homogeneizado com uma solução hidroetanólica (etanol 80%) na proporção de 20%, durante 3 minutos na velocidade média. Após se ajustou o pH para 5,48 com solução de ácido acético 50%, permanecendo imerso em banho de ultra-som (Thornton®, modelo T14) durante 25 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, submeteu-se a parte sólida a mais duas extrações sucessivas. O filtrado das três extrações foi concentrado até 6% do volume inicial em rotaevaporador (Fisatom® 802)

com vácuo e temperatura da água do banho a 44 °C (± 1 °C). Na etapa do fracionamento, o extrato hidroetanólico bruto foi extraído inicialmente com o n-hexano, depois com clorofórmio e com acetato de etila, sequencialmente, originando as frações hexânica, clorofórmica, de acetato de etila e o resíduo, que foi considerado a fração residual. Após a obtenção das frações, o solvente foi totalmente eliminado em rotaevaporador (Fisatom® 802) com vácuo e temperatura da água do banho a 44 °C (± 1 °C) e a parte sólida remanescente foi ressuspensa em água destilada esterilizada. O extrato hidroetanólico bruto e as frações assim que obtidos foram colocados em frascos de vidro âmbar ao abrigo da luz e mantidos a 4 °C (± 1 °C) até o momento de serem utilizados.

Preparo, armazenamento e análises das amostras de hambúrguer – A elaboração do hambúrguer foi conduzida segundo formulação e procedimentos recomendados por Terra (2005). Na formulação do hambúrguer foi utilizada carne de paleta bovina magra (73%), proteína texturizada de soja, hidratada 1:3 com água (20%), toucinho suíno (7%), sal (1,5%), glutamato monossódico (0,2%), pimenta branca moída (0,1%), alho em pó (0,1%) e cebola em pó (0,1%) que foram adquiridos em um supermercado de Santa Maria, RS. Para o preparo dos hambúrgueres a carne bovina foi moída em disco de 10 mm, o toucinho em disco de 5 mm e a proteína texturizada de soja foi hidratada conforme procedimento sugerido pelo fabricante do produto. A carne bovina foi homogeneizada com os demais ingredientes em misturadeira (marca JAMAR®, modelo MJ 35, Tupã, São Paulo) e posteriormente, dividida em porções iguais de 2,6 kg. Cada porção foi utilizada na elaboração de uma formulação: formulação Padrão (P, adicionada de 0,1% do antioxidante comercial eritorbato de sódio), formulação controle (C, sem adição de eritorbato de sódio e de extrato natural), tratamento 1 (T1, hambúrguer adicionado de 0,5% de extrato hidroetanólico bruto), tratamento 2 (T2, adicionado de 0,7% de extrato hidroetanólico bruto), tratamento

3 (T3, adicionado de 0,5% da fração residual), tratamento 4 (T4, adicionado de 0,7% da fração residual), tratamento 5 (T5, adicionado de 0,5% da fração acetato de etila), tratamento 6 (T6, adicionado de 0,7% da fração acetato de etila) e o tratamento 7 (T7, hambúrguer adicionado de 0,10% de extrato oleoso de alecrim). Para cada formulação, foram moldados em fôrma própria, hambúrgueres de 80 gramas. Em seguida, foram embalados em filme permeável ao oxigênio e armazenados a $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$).

A concentração adicionada de eritorbato de sódio, de extrato hidroetanólico bruto e das frações foi baseada no peso total da massa cárnea utilizada para elaboração das amostras de hambúrgueres. Já a adição do extrato oleoso de alecrim (Tasteguard, código/GIN 699994, Chr. Hansen®) foi conforme recomendação do fabricante (Chr. Hansen®), isto é, com base na proporção de gordura apresentada pela massa cárnea do hambúrguer. A massa cárnea pronta para a elaboração dos hambúrgueres dos diferentes tratamentos apresentou teor de lipídios de 7,48 g%, o qual foi determinado através do método do butirômetro (TERRA; BRUM, 1988), que consiste em homogeneizar e aquecer ($\pm 60\text{ }^{\circ}\text{C}$) a amostra (2,75 g) com ácido sulfúrico (18 mL) e posteriormente adicionar álcool isoamílico (1 mL) e separar a gordura por centrifugação em butirômetro de leite.

A seleção do extrato hidroetanólico bruto, das frações acetato de etila e aquosa residual, assim como das concentrações a serem testadas (0,5% e 0,7%) foi baseada em resultados obtidos em experimento realizado previamente, onde foi observado que o extrato hidroetanólico bruto e as frações acetato de etila e aquosa residual apresentaram boa atividade antioxidante na concentração de 0,5%, entretanto inferior a atividade do extrato oleoso de alecrim (controle positivo), então usou-se também a concentração de 0,7% na tentativa de obter uma maior atividade antioxidante.

A determinação da cor (L^* , a^* , b^* e h^*) foi realizada logo após a embalagem das amostras

de hambúrguer (dia 0) e no 2°, 4°, 6°, 8°, 10°, 12° e 14° meses de armazenamento a $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$). O experimento foi conduzido por um período de 14 meses, para possibilitar a avaliação da ação dos tratamentos sobre a oxidação lipídica, que foi conduzida em paralelo nas mesmas amostras (dados não mostrados).

A análise sensorial foi realizada após 6 dias de armazenamento a $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$). Antes da realização da análise sensorial as amostras foram congeladas por um período de 6 dias para evitar a deterioração, uma vez que foram realizadas primeiramente análises microbiológicas para verificar se as amostras estavam adequadas para o consumo.

Medida da Cor – A cor da superfície das amostras de hambúrguer foi avaliada pelo sistema CIELAB, após o descongelamento das amostras (20 horas a $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$), usando aparelho Chroma Meter CR-300 (Minolta®, Osaka, Japão). O aparelho foi calibrado com a placa padrão de calibração fornecida pelo fabricante e a fonte de iluminação utilizada foi o D_{65} . A leitura foi realizada em quadruplicata a temperatura ambiente, e os resultados expressos pelos parâmetros L^* (que representa a porcentagem de luminosidade, onde preto 0%, e branco 100%), a^* (+ a^* vermelho) e b^* (+ b^* amarelo). A tonalidade cromática (h^*) foi obtida através da fórmula: $h^* = \tan^{-1}(b^*/a^*)$, segundo Ramos e Gomide (2007), sendo que os resultados foram expressos em graus.

Análise sensorial – Após 6 dias de armazenamento a $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) as amostras de hambúrguer foram submetidas a análise sensorial de cor, aroma, sabor e textura, para tanto foram descongeladas a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$)/20 horas, colocadas em formas de alumínio e assadas em forno de fogão a gás doméstico, com temperatura de $180\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $210\text{ }^{\circ}\text{C}$ /1 hora. Foi utilizado o teste de comparação múltipla, conforme descrito por Dutcosky (1996). A amostra padrão serviu como fonte de comparação e a escala empregada para a realização do teste constou de 7 pontos onde o valor 1 correspondia a amostra extremamente pior que o padrão, 2 muito pior que o padrão, 3 regularmente

pior que o padrão, 4 quando não apresenta nenhuma diferença do padrão, 5 para amostra regularmente melhor que o padrão, 6 quando for considerada muito melhor que padrão e o valor 7 para amostra extremamente melhor que o padrão. As amostras foram analisadas por uma equipe de 35 provadores não treinados, compostos por alunos de graduação e pós graduação, docentes e funcionários da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Este experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa da UFSM, em seus aspectos éticos e metodológicos, sendo conduzido de acordo com as diretrizes estabelecidas na Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. Todos os participantes da análise sensorial leram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido com CAAE (certificado de apresentação para apreciação ética) número 0016.0.243.000-09.

Análise estatística – O desenho experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com duas repetições de cada tratamento, do controle e do padrão. As medidas da cor foram feitas em quadruplicata. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA), sendo a formulação a causa de variação. As diferenças significativas entre as médias foram determinadas pelo teste de Tukey, com o nível de significância de 5% com a utilização do *software* estatístico SPSS 13.0 (NORUSIS, 2005).

Os dados relativos à análise sensorial foram coletados e analisados conforme método sugerido por Dutcosky (1996), sendo submetidos ao Teste de Dunnet através do *software* estatístico SPSS 13.0 (NORUSIS, 2005).

Segundo Ciriano et al. (2009) os extratos vegetais tem a possibilidade de conter substâncias que podem conferir odor e/ou sabor especial ao produto final. Como pode-se observar através dos resultados obtidos na análise sensorial, os provadores não observaram diferença significativa quando compararam as amostras de hambúrguer controle e as submetidas aos diferentes tratamentos em relação

a amostra padrão nos atributos de cor, aroma, sabor e textura (Tabela 1). Tais resultados indicam que não houve diferença sensorial perceptível pela adição dos diferentes extratos de caqui em ambas concentrações testadas (0,5% e 0,7%) nas amostras de hambúrguer, quando comparado ao eritorbato de sódio, aditivo usualmente empregado neste produto.

Alguns experimentos também verificaram que a adição de extratos vegetais em produtos cárneos não interferiu nos atributos sensoriais o que vem ao encontro dos dados obtidos no presente experimento. Bañón et al. (2007) observaram que a adição de extratos de chá verde e de semente de uva não produziu alterações significativas de sabor, odor ou textura em hambúrguer bovino cozido com baixo teor de sulfito. Ciriano et al. (2009) verificaram que a modificação da formulação de salame pela adição de antioxidante natural de *Melissa officinalis* L. não afetou as características sensoriais do produto que apresentou aparência geral, odor e sabor similar ao produto controle.

Já, Nassu et al. (2003) ao adicionarem dois níveis diferentes de antioxidante natural de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), em lingüiças de carne de cabra fermentadas, observaram que as formulações contendo maior nível de antioxidante natural (0,05%) além de apresentarem melhor característica em relação a estabilidade oxidativa, também apresentaram a maior soma para a aceitação sensorial geral, maiores valores de cor vermelha e menor pontuação para o aroma e sabor oxidado, quando comparado com a amostra contendo 0,025% de extrato de alecrim.

Estudos sobre a cor da carne medida instrumentalmente, na maioria das vezes estão concentrados sobre o valor a^* (vermelho), porque a coloração vermelha da carne é um importante componente do apelo visual para consumidores (SHAN et al., 2009). Segundo Ramos e Gomide (2007) o índice de a^* é o parâmetro de cor mais sensível na caracterização da cor vermelha e na sua estabilidade.

Tabela 1. Valores médios da pontuação dos provadores para os atributos de cor, aroma, sabor e textura dos hambúrgueres padrão, controle e adicionados dos extratos em teste.

Amostras	Médias das pontuações*			
	Cor	Aroma	Sabor	Textura
P	4,45 ± 0,92 ^{**}	4,40 ± 0,88 ^a	4,25 ± 1,14 ^a	3,94 ± 0,87 ^a
C	4,15 ± 0,78 ^a	4,18 ± 0,89 ^a	4,24 ± 1,11 ^a	4,05 ± 1,07 ^a
T1	4,20 ± 0,87 ^a	4,22 ± 1,06 ^a	4,20 ± 1,18 ^a	3,85 ± 1,16 ^a
T2	4,02 ± 0,86 ^a	4,11 ± 0,83 ^a	4,11 ± 1,07 ^a	4,05 ± 1,16 ^a
T3	4,20 ± 0,87 ^a	4,31 ± 0,79 ^a	4,45 ± 0,95 ^a	4,20 ± 0,96 ^a
T4	4,08 ± 1,01 ^a	4,17 ± 0,86 ^a	4,14 ± 1,16 ^a	3,88 ± 1,15 ^a
T5	3,97 ± 1,01 ^a	3,97 ± 1,01 ^a	3,94 ± 1,10 ^a	4,11 ± 1,10 ^a
T6	4,20 ± 0,93 ^a	4,05 ± 0,76 ^a	4,42 ± 1,09 ^a	4,11 ± 1,07 ^a
T7	4,14 ± 0,77 ^a	4,28 ± 0,92 ^a	4,48 ± 1,14 ^a	4,31 ± 1,10 ^a

Escala de 7 pontos, onde: 1 extremamente pior que o padrão, 2 muito pior que o padrão, 3 regularmente pior que o padrão, 4 quando não apresenta diferença do padrão, 5 regularmente melhor que o padrão, 6 muito melhor que padrão e o valor 7 para amostra extremamente melhor que o padrão. *Valores apresentados como média ± desvio padrão (n=35); ** médias em cada coluna seguidas da mesma letra minúscula do controle não difere significativamente do mesmo pelo teste de Dunnett em nível de 5% de significância. O teste de Dunnett compara cada tratamento em relação ao controle e não realiza comparações das amostras tratadas entre si. **P**: hambúrguer padrão produzido com antioxidante comercial eritorbato de sódio; **C**: hambúrguer controle formulado sem adição de antioxidante natural e do eritorbato de sódio; **T1**: hambúrguer adicionado de 0,5% de extrato hidroetanólico bruto; **T2**: hambúrguer adicionado de 0,7% de extrato hidroetanólico bruto; **T3**: hambúrguer adicionado de 0,5% da fração residual; **T4**: hambúrguer adicionado de 0,7% da fração residual; **T5**: hambúrguer adicionado de 0,5% da fração acetato de etila; **T6**: hambúrguer adicionado de 0,7% da fração acetato de etila; **T7**: hambúrguer adicionado de 0,10% (sobre o teor de gordura) de extrato oleoso de alecrim.

Fonte: Elaboração dos autores.

Quanto a cor dos hambúrgueres, medida com a utilização do colorímetro Minolta®, verificou-se que ocorreu tendência de diminuição dos valores do parâmetro a^* durante o período de armazenamento, ou seja a intensidade de coloração vermelha foi diminuindo ao logo do período de armazenamento nas amostras de hambúrguer congeladas (Tabela 2). Vários autores têm estudado a cor de carne e produtos cárneos e tem relatado que a oxidação da carne causa uma diminuição no valor a^* (SHAN et al., 2009).

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

Georgantelis et al. (2007) avaliaram o efeito da adição de extrato de alecrim, quitosana e α -tocoferol

individualmente ou em combinação, na oxidação lipídica e estabilidade da cor de hambúrguer bovino congelados (-18 °C) durante o período de 180 dias e como o verificado no presente experimento também observaram uma tendência de queda no que diz respeito a valores de a^* (indicativo de cor vermelha), no decorrer do período de armazenamento. Observaram também diminuição nos valores de croma (intensidade da cor) e b^* (cor amarela), juntamente com uma tendência crescente nos valores de tonalidade, que são atribuídas à oxidação gradual da mioglobina e acumulação de metamioglobina com o tempo (GEORGANTELIS et al., 2007). Shan et al. (2009) também observaram diminuição significativa nos valores de a^* ao longo do período de armazenamento (20 °C por 9 dias) de amostras de carne suína tratadas com extratos de especiarias e ervas (canela, orégano, cravo, semente de uva, casca de romã), mas segundo os autores, os parâmetros de cor das amostras de carne suína tratadas mudaram levemente, em comparação com mudanças significativas nas amostras controle.

Tabela 2. Valores médios para a luminosidade (L^*), cor vermelha (a^*), cor amarela (b^*) e tonalidade cromática (h^*) na superfície dos hambúrgueres padrão, controle e adicionados dos extratos em teste durante o período de armazenamento de 14 meses a $-25\text{ }^\circ\text{C}$ ($\pm 1\text{ }^\circ\text{C}$).

	Período de armazenamento (meses)													
	0	2	4	6	8	10	12	14						
L^* (luminosidade)														
P	52,40 \pm 1,91 ^{ab} B***	49,92 \pm 0,42 ^{ab} BC	51,47 \pm 1,26 ^{ab} BC	50,50 \pm 0,78 ^{ab} BC	49,53 \pm 0,46 ^{ab} BC	51,18 \pm 1,13 ^{ab} BC	49,15 \pm 1,91 ^{ab} BC	52,81 \pm 1,16 ^A						
C	53,14 \pm 1,41 ^{ab} A	48,42 \pm 1,41 ^{ab} B	48,83 \pm 0,85 ^{ab} B	49,40 \pm 0,89 ^{ab} B	49,97 \pm 1,16 ^{ab} BC	49,61 \pm 0,51 ^{ab} B	50,64 \pm 0,75 ^{ab} B	50,61 \pm 0,96 ^{ab} BC						
T1	50,06 \pm 1,86 ^{ab} A	49,07 \pm 1,81 ^{ab} A	48,40 \pm 0,58 ^{ab} B	48,40 \pm 0,50 ^{ab} B	48,40 \pm 0,49 ^{ab} BC	50,16 \pm 0,68 ^{ab} BC	49,21 \pm 0,69 ^{ab} BC	49,35 \pm 1,18 ^{ab} A						
T2	49,80 \pm 0,70 ^{ab} B	49,01 \pm 0,80 ^{ab} B	49,74 \pm 0,83 ^{ab} B	49,76 \pm 1,02 ^{ab} BC	49,77 \pm 1,92 ^{ab} BC	52,77 \pm 1,78 ^{ab} A	47,82 \pm 0,64 ^{ab} B	49,77 \pm 1,58 ^{ab} BC						
T3	51,14 \pm 0,89 ^{ab} A	49,94 \pm 1,26 ^{ab} A	50,72 \pm 1,11 ^{ab} A	49,23 \pm 0,51 ^{ab} AB	47,76 \pm 0,71 ^{ab} B	50,32 \pm 0,71 ^{ab} BC	50,06 \pm 0,39 ^{ab} BC	50,83 \pm 1,08 ^{ab} BC						
T4	50,44 \pm 0,48 ^{ab} A	48,55 \pm 0,46 ^{ab} B	50,74 \pm 0,80 ^{ab} A	50,77 \pm 0,46 ^{ab} A	50,79 \pm 0,29 ^{ab} A	48,02 \pm 0,70 ^{ab} B	49,50 \pm 0,67 ^{ab} BC	50,48 \pm 1,21 ^{ab} BC						
T5	52,25 \pm 0,92 ^{ab} A	51,47 \pm 0,67 ^{ab} A	52,27 \pm 3,06 ^{ab} A	51,06 \pm 1,57 ^{ab} A	49,84 \pm 0,99 ^{ab} BC	51,55 \pm 0,87 ^{ab} A	51,45 \pm 1,20 ^{ab} A	52,38 \pm 0,99 ^{ab} A						
T6	50,19 \pm 0,85 ^{ab} A	49,71 \pm 1,52 ^{ab} A	51,43 \pm 1,79 ^{ab} A	51,13 \pm 1,40 ^{ab} A	50,85 \pm 1,36 ^{ab} A	49,98 \pm 0,77 ^{ab} BC	49,13 \pm 1,22 ^{ab} BC	51,71 \pm 1,33 ^{ab} BC						
T7	52,03 \pm 0,43 ^{ab} A	49,46 \pm 0,43 ^{ab} AB	51,91 \pm 1,15 ^{ab} A	50,82 \pm 0,61 ^{ab} AB	49,74 \pm 0,67 ^{ab} BC	50,45 \pm 2,41 ^{ab} BC	48,43 \pm 1,03 ^{ab} B	50,08 \pm 1,27 ^{ab} BC						
a^* (vermelho)														
P	21,25 \pm 0,75 ^{ab} A	17,36 \pm 1,87 ^{bc} D	15,40 \pm 0,34 ^{cd} DE	15,90 \pm 0,18 ^{abcd} D	16,41 \pm 0,70 ^{abcd} BC	14,37 \pm 0,17 ^{cd} DE	14,40 \pm 0,73 ^{cd} DE	13,54 \pm 0,44 ^{cd} E						
C	23,29 \pm 0,79 ^{ab} A	20,49 \pm 0,92 ^{ab} B	18,86 \pm 0,14 ^c E	17,66 \pm 0,13 ^{cd} CD	16,46 \pm 0,30 ^{abcd} DE	16,35 \pm 0,47 ^{bc} E	14,41 \pm 0,36 ^{def} F	15,58 \pm 0,48 ^{bc} E						
T1	19,79 \pm 0,46 ^{cd} A	17,47 \pm 0,58 ^{cd} B	16,91 \pm 0,68 ^{bc} BC	16,03 \pm 0,60 ^{abcd} D	15,16 \pm 0,67 ^{cd} D	15,16 \pm 0,45 ^{cd} D	15,75 \pm 1,42 ^{cd} CD	14,63 \pm 0,43 ^{bcd} CD						
T2	18,67 \pm 0,43 ^{cd} A	16,16 \pm 0,50 ^{cd} B	16,11 \pm 0,28 ^{cd} B	15,91 \pm 0,25 ^{cd} B	15,70 \pm 0,69 ^{cd} B	13,35 \pm 0,36 ^{cd} D	13,77 \pm 0,20 ^{cd} D	12,97 \pm 0,89 ^{cd} C						
T3	18,98 \pm 0,47 ^{cd} A	16,36 \pm 0,89 ^{cd} BC	17,10 \pm 0,72 ^{ab} B	16,50 \pm 0,55 ^{cd} B	16,31 \pm 0,36 ^{cd} BC	14,94 \pm 0,33 ^{cd} D	14,63 \pm 0,14 ^{cd} D	13,47 \pm 0,51 ^{cd} E						
T4	18,86 \pm 0,67 ^{cd} A	16,42 \pm 0,13 ^c E	15,83 \pm 0,68 ^{bc} C	16,79 \pm 0,53 ^{cd} BC	17,91 \pm 0,62 ^{ab} B	14,16 \pm 0,29 ^{cd} D	14,06 \pm 0,33 ^{cd} D	13,06 \pm 0,54 ^{cd} D						
T5	21,00 \pm 0,29 ^{ab} A	19,27 \pm 0,46 ^{ab} BC	19,88 \pm 0,63 ^{ab} B	19,88 \pm 0,63 ^{ab} B	18,77 \pm 0,52 ^{cd} BC	17,67 \pm 0,83 ^{abcd} CD	16,23 \pm 0,59 ^{bc} E	16,28 \pm 0,29 ^{ef} F						
T6	21,62 \pm 0,31 ^{ab} A	19,88 \pm 1,23 ^{ab} B	19,33 \pm 0,50 ^{abcd} C	18,59 \pm 0,55 ^{abcd} CD	17,86 \pm 0,89 ^{cd} DE	17,55 \pm 0,65 ^{cd} DE	17,41 \pm 0,88 ^{cd} E	16,09 \pm 0,30 ^{ef} F						
T7	21,41 \pm 0,66 ^{ab} A	19,85 \pm 0,64 ^{ab} B	19,28 \pm 0,49 ^{abcd} C	18,18 \pm 0,46 ^{abcd} CD	17,08 \pm 0,50 ^{abcd} D	17,42 \pm 0,65 ^{cd} D	17,94 \pm 0,23 ^{cd} D	16,16 \pm 0,69 ^{ef} F						
b^* (amarelo)														
P	14,80 \pm 1,61 ^{ab} CA	14,12 \pm 0,57 ^{ab} AB	13,07 \pm 0,31 ^{abcd} BB	13,43 \pm 0,31 ^{abcd} AB	13,79 \pm 0,36 ^{abcd} AB	14,59 \pm 0,63 ^{ab} AB	14,14 \pm 0,46 ^{ab} AB	14,37 \pm 0,45 ^{ab} AB						
C	16,50 \pm 0,27 ^{ab} A	14,12 \pm 0,59 ^{ab} B	12,62 \pm 0,68 ^{abcd} BB	12,77 \pm 0,27 ^{cd} BB	12,92 \pm 0,26 ^{abcd} BB	12,51 \pm 1,23 ^{abcd} BB	12,84 \pm 0,71 ^{cd} BB	13,93 \pm 0,94 ^{abcd} BB						
T1	13,11 \pm 0,82 ^{cd} AB	12,77 \pm 0,43 ^{cd} AB	11,92 \pm 0,23 ^{cd} BB	11,96 \pm 0,20 ^{cd} BB	12,01 \pm 0,46 ^{cd} B	12,01 \pm 0,46 ^{cd} B	12,48 \pm 0,33 ^{bcd} AB	13,13 \pm 0,71 ^{bcd} AB						
T2	12,27 \pm 0,23 ^{cd} AB	12,43 \pm 0,35 ^{cd} AB	11,65 \pm 0,37 ^{cd} BB	12,21 \pm 0,19 ^{cd} AB	12,77 \pm 0,47 ^{abcd} A	12,13 \pm 0,38 ^{cd} AB	12,39 \pm 0,43 ^{cd} AB	12,76 \pm 0,54 ^{cd} A						
T3	13,60 \pm 0,65 ^{cd} AB	13,02 \pm 0,84 ^{cd} AB	13,14 \pm 0,76 ^{cd} CA	12,73 \pm 0,53 ^{cd} CA	12,33 \pm 0,65 ^{cd} CA	12,47 \pm 1,00 ^{bcd} A	13,02 \pm 0,45 ^{abcd} AB	12,45 \pm 0,69 ^{ab} A						
T4	12,95 \pm 0,91 ^{cd} AB	12,20 \pm 0,39 ^{cd} AB	12,12 \pm 0,26 ^{cd} AB	12,90 \pm 0,70 ^{cd} CA	13,68 \pm 1,25 ^{ab} A	11,74 \pm 0,56 ^{cd} BB	12,27 \pm 0,63 ^{cd} AB	12,13 \pm 0,17 ^{cd} AB						
T5	14,64 \pm 0,53 ^{bcd} AB	14,63 \pm 0,54 ^{ab} AB	14,30 \pm 0,96 ^{ab} AB	14,03 \pm 0,96 ^{ab} AB	13,77 \pm 0,50 ^{abcd} AB	14,78 \pm 0,54 ^{ab} A	13,41 \pm 0,36 ^{abcd} B	14,65 \pm 0,36 ^{ab} AB						
T6	14,08 \pm 0,24 ^{bcd} A	14,27 \pm 0,49 ^{ab} A	14,01 \pm 0,56 ^{ab} AB	13,95 \pm 0,42 ^{ab} A	13,89 \pm 0,49 ^{ab} A	13,70 \pm 0,80 ^{abcd} A	13,76 \pm 0,30 ^{cd} AB	14,22 \pm 0,59 ^{ab} AB						
T7	15,13 \pm 0,32 ^{ab} A	14,14 \pm 0,26 ^{ab} AB	14,12 \pm 0,73 ^{ab} AB	13,81 \pm 0,72 ^{ab} AB	13,50 \pm 0,83 ^{abcd} BB	14,11 \pm 0,92 ^{abcd} AB	13,11 \pm 0,62 ^{abcd} BB	14,05 \pm 0,67 ^{abcd} AB						
h^* (tonalidade cromática)														
P	34,77 \pm 2,32 ^{ab} D	39,26 \pm 3,78 ^{cd} CD	39,15 \pm 2,83 ^{cd} CD	40,16 \pm 0,76 ^{abcd} BC	40,16 \pm 1,10 ^{abcd} BC	45,40 \pm 1,28 ^{ab} AA	44,48 \pm 2,11 ^{ab} AB	46,68 \pm 1,13 ^{ab} AA						
C	35,33 \pm 1,31 ^{abcd} C	34,60 \pm 2,21 ^{abcd} C	33,76 \pm 1,48 ^{cd} C	35,86 \pm 0,58 ^{abcd} BC	38,12 \pm 0,34 ^{abcd} AB	37,35 \pm 3,18 ^{abcd} C	41,68 \pm 0,96 ^{ab} AA	41,75 \pm 2,15 ^{ab} AA						
T1	33,50 \pm 1,18 ^{de} E	36,18 \pm 1,85 ^{abcd} DE	35,20 \pm 1,54 ^{de} DE	36,74 \pm 1,02 ^{abcd} BCD	38,38 \pm 0,94 ^{abcd} ABC	39,45 \pm 0,36 ^{abcd} AB	40,44 \pm 1,47 ^{ab} AA	41,46 \pm 1,63 ^{ab} AA						
T2	33,30 \pm 0,68 ^{de} E	37,55 \pm 0,75 ^{abcd} CD	35,86 \pm 0,76 ^{abcd} DE	37,50 \pm 0,73 ^{cd} CD	39,12 \pm 1,51 ^{abcd} ABC	42,26 \pm 0,89 ^{ab} AA	41,96 \pm 1,23 ^{ab} AB	44,56 \pm 2,67 ^{ab} AA						
T3	35,61 \pm 0,73 ^{cd} C	38,49 \pm 0,53 ^{abcd} BC	37,54 \pm 2,09 ^{abcd} BC	37,65 \pm 1,02 ^{abcd} BC	37,06 \pm 0,86 ^{abcd} BC	39,80 \pm 2,40 ^{abcd} AB	41,66 \pm 0,74 ^{abcd} AB	42,71 \pm 0,54 ^{cd} AB						
T4	34,44 \pm 2,01 ^{cd} C	36,60 \pm 1,03 ^{abcd} BC	37,47 \pm 1,55 ^{abcd} BC	37,51 \pm 0,91 ^{abcd} BC	37,31 \pm 1,90 ^{abcd} BC	39,64 \pm 1,12 ^{cd} AB	41,08 \pm 1,93 ^{abcd} AB	42,90 \pm 1,08 ^{cd} AB						
T5	34,87 \pm 0,69 ^{ab} D	36,87 \pm 0,66 ^{abcd} CD	35,68 \pm 1,14 ^{cd} CD	36,89 \pm 0,97 ^{cd} CD	37,94 \pm 1,05 ^{abcd} BC	40,77 \pm 2,08 ^{abcd} AA	39,57 \pm 0,95 ^{abcd} AB	41,97 \pm 0,54 ^{cd} AB						
T6	33,43 \pm 0,86 ^{cd} C	35,57 \pm 2,37 ^{abcd} BC	36,22 \pm 1,37 ^{abcd} BC	37,27 \pm 1,24 ^{ab} BB	37,89 \pm 1,68 ^{abcd} AB	37,77 \pm 1,39 ^{cd} BB	38,35 \pm 2,02 ^{abcd} BB	41,46 \pm 0,97 ^{cd} AA						
T7	35,02 \pm 0,62 ^{ab} D	35,47 \pm 1,05 ^{abcd} D	36,20 \pm 0,86 ^{cd} CD	37,20 \pm 0,74 ^{abcd} CD	38,29 \pm 1,17 ^{abcd} BC	38,96 \pm 0,96 ^{abcd} AB	36,11 \pm 1,62 ^{cd} CD	41,00 \pm 0,64 ^{cd} AA						

** Médiãs \pm desvio padrão ($n=4$) seguidas de letras minúsculas distintas na mesma coluna (efeito dos tratamentos) e por letras maiúsculas distintas, na mesma linha (efeito dos dias de estocagem), diferem significativamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância ($p<0,05$). P: hambúrguer padrão produzido com antioxidante comercial eritorbato de sódio; C: hambúrguer controle formulado sem adição de antioxidante natural e do eritorbato de sódio; T1: hambúrguer adicionado de 0,5% de extrato hidroetanolico bruto; T2: hambúrguer adicionado de 0,7% de extrato hidroetanolico bruto; T3: hambúrguer adicionado de 0,5% da fração residual; T4: hambúrguer adicionado de 0,7% da fração residual; T5: hambúrguer adicionado de 0,5% da fração acetato de etila; T6: hambúrguer adicionado de 0,7% da fração acetato de etila; T7: hambúrguer adicionado de 0,10% (sobre o teor de gordura) de extrato oleoso de alecrim.

Fonte: Elaboração dos autores.

No presente experimento, as amostras de hambúrguer adicionadas da fração acetato de etila, em ambas as concentrações (0,5% e 0,7%), apresentaram menor diminuição dos valores do parâmetro a^* ao longo do período de armazenamento e na maioria dos meses avaliados apresentaram valores próximos aos obtidos pelas amostras que foram adicionadas do extrato oleoso de alecrim (Tabela 2). As amostras de hambúrguer padrão adicionadas do antioxidante comercial eritorbato de sódio apresentaram os valores do parâmetro a^* inferiores aos obtidos pela amostra adicionada do extrato oleoso de alecrim e do que as amostras adicionadas da fração acetato de etila em ambas as concentrações testadas, na maioria dos dias avaliados, significando que o extrato oleoso de alecrim e a fração acetato de etila foram mais eficientes que o eritorbato de sódio na manutenção da coloração vermelha dos hambúrgueres congelados. As amostras de hambúrguer padrão também apresentaram valores de h^* superiores, que as demais amostras, no final do período avaliado, confirmando que ocorreu maior descoloração desta amostra ao longo do tempo.

Pode-se observar (Tabela 2), que no mês zero, os hambúrgueres adicionados do extrato hidroetanólico bruto e da fração residual, em ambas as concentrações testadas, apresentaram os valores do parâmetro a^* significativamente inferiores que o hambúrguer padrão e as amostras adicionadas do extrato oleoso de alecrim, porém no decorrer do período de armazenamento, na maioria dos meses avaliados, os valores do parâmetro a^* destas amostras não diferiram dos valores de a^* apresentados pelo hambúrguer padrão e foram inferiores aos valores da amostra de hambúrguer adicionada do extrato oleoso de alecrim, que apresentou maior estabilidade da coloração vermelha com maiores valores de a^* .

A adição do extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte e da fração residual, na concentração de 0,7%, também interferiu significativamente na cor amarela das amostras de hambúrguer, pois logo após a aplicação (mês

zero) apresentaram os valores do parâmetro b^* significativamente inferiores ao hambúrguer padrão produzido com antioxidante comercial eritorbato de sódio. No 14º mês de armazenamento também obtiveram valores significativamente inferiores que o hambúrguer padrão para o parâmetro b^* . Shan et al. (2009) verificaram que a adição dos extratos de cravo, canela, orégano, semente de uva e de casca de romã também causaram mudanças iniciais na cor da superfície da carne suína crua, em comparação com o controle.

Comparando-se os valores de L^* apresentados pelas amostras de hambúrguer padrão, amostras adicionadas do extrato oleoso de alecrim e pelas amostras submetidas aos demais tratamentos nos diferentes meses avaliados foram observadas pequenas diferenças. Na maioria dos meses avaliados as médias se apresentaram sem diferença significativa entre os diferentes tratamentos (Tabela 2). Bañón et al. (2007) relataram que a adição de extratos vegetais não afetou os valores de L^* de hambúrgueres de carne bovina e que os valores foram bastante estáveis durante o armazenamento a 4 °C.

Quanto aos valores do parâmetro L^* e b^* obtidos ao longo do período de armazenamento, nas amostras de hambúrguer submetidas aos diferentes tratamentos, observou-se que ocorreu pequena variação entre as leituras iniciais (0 mês) e finais (14º mês). Os valores iniciais de L^* e b^* do mês zero foram próximos aos obtidos no 14º mês de armazenamento na maioria dos tratamentos e apenas a amostra de hambúrguer controle (sem adição de eritorbato de sódio e de extrato natural) obteve valores significativamente inferiores para os parâmetros L^* e b^* no final do período avaliado (14º mês) do que na fase inicial (mês zero). A amostra de hambúrguer controle estava menos amarela e mais escura no final do período de armazenamento do que na fase inicial do experimento (mês 0), indicando que ocorreu alteração na coloração (parâmetros L^* e b^*) das amostras controle durante o período de armazenamento.

Os resultados do presente estudo demonstraram que a adição do extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte, da fração acetato de etila, da fração aquosa residual em ambas as concentrações testadas (0,5 e 0,7%) e do extrato oleoso de alecrim não promoveram alteração sensorial nos atributos de cor, aroma, sabor e textura das amostras de hambúrguer de carne bovina, no tempo zero de armazenamento, quando comparadas com o eritorbato de sódio. A utilização da fração acetato de etila (0,5% e 0,7%) e do extrato oleoso de alecrim mantiveram as amostras de hambúrguer com os maiores valores de a^* ao longo do período de armazenamento e com menores valores de h^* que a amostra padrão no final do período avaliado, indicando que a adição da fração acetato de etila e do extrato oleoso de alecrim promoveram a estabilidade da cor vermelha das amostras de hambúrguer de carne bovina durante o período de armazenamento do produto congelado.

Referências

- ARAUJO, M. A. J. *Química dos alimentos-teoria e prática*. 4. ed. Viçosa: UFV, 2008. 596 p.
- BAÑÓN, S.; DÍAZ, P.; RODRIGUEZ, M.; GARRIDO, M. D.; PRICE, A. Ascorbate, green tea and grape seed extracts increase the shelf life of low sulphite beef patties. *Meat Science*, Barking, v. 77, n. 4, p. 626-633, 2007.
- CIRIANO, M. S.; GARCÍA-HERREROS, C.; VALENCIA, E. L. I.; ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I. Use of natural antioxidants from lyophilized water extracts of *Borago officinalis* in dry fermented sausages enriched in ω -3 PUFA. *Meat Science*, Barking, v. 83, n. 2, p. 271-277, 2009.
- DUTCOSKY, S. D. *Análise sensorial de alimentos*. Curitiba: Universitária Champagnat, 1996. 123 p.
- GEORGANTELIS, D.; BLEKAS, G.; KATIKOU, P.; AMBROSIADIS, I.; FLETOURIS, D. J. Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on lipid oxidation and colour stability during frozen storage of beef burgers. *Meat Science*, Barking, v. 75, n. 2, p. 256-264, 2007.
- GIORDANI, E.; DOUMETT, S.; NIN, S.; DEL BUBBA, M. Selected primary and secondary metabolites in fresh persimmon (*Diospyros kaki*, Thunb.): a review of analytical methods and current knowledge of fruit composition and health benefits. *Food Research International*, Ontario, v. 44, n. 7, p. 1752-1767, 2011.
- LEE, S.; DECKER, E.A.; FAUSTMAN, C.; MANCINI, R. A. The effects of antioxidant combinations on color and lipid oxidation in n -3 oil fortified ground beef patties. *Meat Science*, Barking, v. 70, n. 4, p. 683-689, 2005.
- MILANI, L. I. G.; TERRA, N. N. FRIES, L. L. M.; REZER, A. P. S.; FERREIRA, S. F.; CICHOSKI, A. J.; VALENTE, C. R. F. Oxidação lipídica, características sensoriais e cor da carne de frango adicionada de extratos de caqui (*Diospyros kaki*, L.) e submetida a tratamento térmico. *Brazilian Journal of Food Technology*, Campinas, v. 13, n. 4, p. 242-250, 2010.
- NASSU, R. T.; GONÇALVES, L. A. G.; DA SILVA, M. A. A. P.; BESERRA, F. J. Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. *Meat Science*, Barking, v. 63, n. 1, p. 43-49, 2003.
- NORUSIS, M. *SPSS 13.0: guide to data analysis*. Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 2005.
- RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. *Avaliação da qualidade de carnes: fundamentos e metodologia*. Viçosa: UFV, 2007. 599 p.
- SHAN, B.; CAI, Y. Z.; BROOKS, J. D.; CORKE, H. Antibacterial and antioxidant effects of five spice and herb extracts as natural preservatives of raw pork. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, London, v. 89, n. 11, p. 1879-1885, 2009.
- TERRA, N. N. *Apontamentos de tecnologia de carnes*. São Leopoldo: Unisinos, 2005. 216 p.
- TERRA, N. N.; BRUM, M. A. R. *Carne e seus derivados – técnicas de controle de qualidade*. São Paulo: Nobel, 1988. 119 p.
- VELAZCO, J. Aplicación de antioxidants naturales em produtos cárnicos. *Carnetec*, Chicago, v. 12, n. 1, p. 35-37, 2005.
- YANISHLIEVA, N. V.; MARINOVA, E.; POKORNY, J. Natural antioxidants from herbs and spices. *European Journal of Lipid Science and Technology*, Weinheim, v. 108, n. 9, p. 776-793, 2006.

4.6 Artigo 6

Artigo em fase final de revisão pelos autores para ser submetido à revista

Semina: Ciências Agrárias

(configurado conforme as normas da revista)

Antioxidante natural de caqui (*Diospyros kaki L.*) para a conservação de hambúrguer de carne bovina

Natural antioxidant of persimmon (*Diospyros kaki L.*) for the conservation of beef burgers

Liana Inês Guidolin Milani^{1*}, Nelcindo Nascimento Terra², Leadir Lucy Martins Fries³, Ana Paula de Souza Rezer⁴, Ernesto Hashime Kubota⁵

Resumo

Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito de extratos de caqui (*Diospyros kaki L.*) cultivar (cv.) Rama Forte sobre a oxidação lipídica e a estabilidade microbiológica de hambúrguer bovino congelado (-25 °C) por 16 meses. Para tanto foi elaborado o extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte que foi submetido ao fracionamento dando origem as frações hexânica, clorofórmica, de acetato de etila e a fração residual. Foram elaborados hambúrgueres de carne bovina com adição do extrato hidroetanólico bruto, da fração acetato de etila e da fração residual, nas respectivas concentrações de 0,5% e 0,7%. Também foram preparados hambúrgueres padrão com eritorbato de sódio (0,1%), hambúrgueres controle sem adição de antioxidante e o hambúrguer adicionado de extrato de alecrim (0,10% sobre o teor de gordura da massa cárnea). A adição do extrato hidroetanólico bruto de caqui, da fração acetato de etila e da fração residual, em ambas concentrações, não interferiu na contagem de coliformes totais realizada logo após a elaboração das amostras de hambúrgueres e não alterou a estabilidade microbiológica das mesmas que mantiveram-se sem diferenças significativas quanto a contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos, durante todo período de armazenamento. Nas condições utilizadas neste estudo o extrato hidroetanólico bruto, a

¹ Farmacêutica Bioquímica, Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Centro de Ciências Rurais (CCR), 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: lianamilani@yahoo.com.br

² Farmacêutico Bioquímico, Prof. Dr., Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, UFSM, CCR, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: nelcindo@terra.com.br

³ Engenheira Agrônoma, Profª. PhD., Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, UFSM, CCR, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: lucymicro@yahoo.com.br

⁴ Farmacêutica Bioquímica, M.S., Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, UFSM, CCR, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: ana.rezer@hotmail.com

⁵ Engenheiro Agrônomo, Prof. Dr., Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, UFSM, CCR, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: ernehk2008@yahoo.com.br

* Autor para correspondência

fração acetato de etila e a fração residual não promoveram inibição da oxidação lipídica dos hambúrgueres, o que foi constatado pelos elevados valores de TBARS das amostras que receberam tais tratamentos em comparação com as amostras adicionadas do extrato de alecrim e do eritorbato de sódio, que foram mais eficientes em controlar a oxidação lipídica durante o período de armazenamento de 16 meses a -25 °C.

Palavras-chave: extratos naturais, antioxidante natural, caqui, *Diospyros kaki L.*, hambúrguer de carne bovina.

Abstract

This experiment aimed to evaluate the effect of the extract of persimmon (*Diospyros kaki L.*) cv. 'Rama Forte' on the lipid oxidation and microbial stability of beef burgers frozen (-25 °C) for 16 months. The crude hydroethanolic extract of persimmon cv. 'Rama Forte' was prepared and subjected to fractionation resulting in hexane, chloroform and ethyl acetate fractions as well as in residual fractions. Beef burgers were prepared with the addition of crude hydroethanolic extract, ethyl acetate fraction, and residual fraction at concentrations of 0.5% and 0.7%. Standard beef burgers with sodium erythorbate (0.1%), control beef burgers without the addition of antioxidant, and beef burgers added with rosemary extract (0.10% of the total fat content) were also prepared. The addition of crude hydroethanolic extract of persimmon, ethyl acetate fraction, and residual fraction in both concentrations had no effect on the total coliform count performed immediately after the preparation of the samples of beef burgers nor altered their microbiological stability, which remained without significant differences in the count of mesophilic and psychrotrophic aerobic microorganisms throughout storage period. Under the conditions of this study, the crude hydroethanolic extract, the ethyl acetate fraction, and the residual fraction did not promote inhibition of lipid oxidation of the beef burgers. This was corroborated by the high TBARS values of the samples that received such treatment compared with the samples added with the rosemary extract and sodium erythorbate, which were more efficient in controlling lipid oxidation during the storage period of 16 months at -25 °C.

Keywords: natural extracts, natural antioxidant, persimmon, *Diospyros kaki L.*, beef burger.

Introdução

O crescimento microbiano, mudanças de cor e ranço oxidativo são os principais problemas que causam o encurtamento do prazo de validade em carnes e produtos cárneos (SHAN; CAI; BROOKS, 2009). Segundo Georgantelis et al. (2007a) a oxidação lipídica, que provoca a rancidez, é uma das principais causas da deterioração de produtos cárneos, principalmente por causa de seu conteúdo de gordura, pela natureza altamente cominuída das matérias-primas, bem como devido a possibilidade de armazenamento sob congelamento por longo período antes do consumo. Esta alteração irreversível contribui para o desenvolvimento de características organolépticas inaceitáveis e é mais importante em produtos cárneos preservados por congelamento, tais como os hambúrgueres.

Nas últimas décadas os fabricantes de produtos cárneos têm usado vários aditivos alimentares com propriedades antioxidantes a fim de proteger os lipídios e evitar a deterioração da aparência dos alimentos (ZHANG et al., 2010). No entanto, antioxidantes sintéticos não são completamente aceitos pelos consumidores, devido a preocupações com a saúde, o que exige o uso de aditivos naturais ou métodos alternativos para estender a vida de prateleira e/ou melhorar a segurança. Uma solução poderia ser a utilização dos recursos naturais antioxidantes (GEORGANTELIS et al., 2007a; ZHANG et al., 2010).

Alguns alimentos vegetais, incluindo as frutas, foram estudadas especialmente como fontes de antioxidantes para carnes e produtos cárneos (HOFFMANN, 2003; HOFFMANN et al., 2003; AHN; GRÜN; MUSTAPHA, 2007; NAVEENA et al., 2008; DEVATKAL; NARSAIAH; BORAH, 2010; MILANI et al., 2010; PERUMALA; HETTIARACHCHY, 2011). O caqui (*Diospyros kaki L.*) apresenta inúmeros compostos com reconhecida atividade antioxidante e/ou antimicrobiana, tais como os polifenóis, entre estes o ácido p-cumárico, ácido gálico, ácido clorogênico, catequina, epicatequina, epigallocatequina e proantocianidinas condensadas (SCALBERT, 1991; GIORDANI et al., 2011; CHEN et al., 2008).

Os resultados obtidos por vários pesquisadores demonstraram que extratos de caqui apresentam potencial antioxidante (GARCIA et al., 2004; KATSUBE et al., 2004; SUZUKI et al., 2005; CHEN et al., 2008; GU et al., 2008; FU et al., 2011). Em experimento conduzido por Milani et al. (2010) foi verificado que o extrato hidroetanólico de *Diospyros kaki L.* da cultivar (cv.) Rama Forte promoveu inibição da oxidação lipídica em carne de frango demonstrando melhor desempenho como antioxidante que o extrato hidroetanólico de *Diospyros kaki L.* cv. Quioto e não alterou significativamente as características sensoriais das amostras.

Desta forma sabendo-se sobre os compostos fenólicos presentes nos extratos de caqui, sobre suas propriedades benéficas e devido a possível interação destes compostos com o seu ambiente (GEORGANTELIS et al., 2007a), a investigação de sua atividade em sistemas alimentares específicos como no hambúrguer é necessária para verificar a possibilidade de aplicação neste tipo de produto cárneo. Portanto o objetivo do presente trabalho foi determinar o efeito de extratos de caqui cv. Rama Forte sobre a oxidação lipídica e estabilidade microbiológica em hambúrguer bovino congelado.

Material e métodos

Preparo do extrato hidroetanólico bruto e fracionamento

Caquis (*Diospyros kaki L.*) da cv. Rama Forte provenientes de um pomar comercial de Nova Pádua – RS foram colhidos em março de 2010 (estágio semimaduro). Para o preparo do extrato hidroetanólico bruto os caquis foram desidratados em estufa com circulação de ar forçada a 60 °C por 48 horas e posteriormente foram reduzidos a pó. O produto vegetal desidratado foi homogeneizado com uma solução hidroetanólica (etanol 80%), na proporção de 20% utilizando-se liquidificador, durante 3 minutos na velocidade média. Após se ajustou o pH para 5,48 com solução de ácido acético 50%, permanecendo imerso em banho de ultra-som (Thornton®, modelo T14) durante 25 minutos a temperatura ambiente (ZHAO; HALL, 2008). Transcorrido este período submeteu-se a parte sólida a mais duas extrações sucessivas. O filtrado das três extrações foi concentrado até 6% do volume inicial em rotaevaporador (Fisatom® 802) com

vácuo de -760 mmHg e temperatura da água do banho a 44 °C (± 1 °C). Foram preparados 200 mL de extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama forte, que foram divididos em duas partes, sendo que uma das partes foi utilizada para adição no hambúrguer e a outra parte para o fracionamento com solventes de polaridade crescente. O extrato hidroetanólico bruto de caqui foi extraído inicialmente com o n-hexano, depois com clorofórmio e com o acetato de etila, seqüencialmente, originando as frações hexânica, clorofórmica, de acetato de etila e o resíduo, que foi considerado a fração residual. Após a obtenção das frações, o solvente foi totalmente eliminado em rota evaporador (Fisatom® 802) com vácuo de -760 mmHg, temperatura da água do banho a 44 °C (± 1 °C) e a parte sólida remanescente foi resuspensa em água destilada esterilizada. O extrato hidroetanólico bruto e as frações assim que obtidas foram colocados em frascos de vidro âmbar ao abrigo da luz e mantidos a 4 °C (± 1 °C) até o momento de serem utilizados.

Preparo, armazenamento e análises das amostras de hambúrguer

A elaboração do hambúrguer foi conduzida segundo formulação e procedimentos recomendados por Terra (2005). Na formulação do hambúrguer foi utilizada carne bovina magra (paleta), proteína texturizada de soja (hidratada 1:3 com água), toucinho suíno, sal pimenta branca moída, alho e cebola em pó, adquiridos em um supermercado de Santa Maria - RS. Para o preparo dos hambúrgueres a carne bovina foi moída em disco de 10 mm, o toucinho em disco de 5 mm e a proteína texturizada de soja foi hidratada conforme procedimento sugerido pelo fabricante do produto. A carne bovina foi homogeneizada com os demais ingredientes em misturadeira (marca JAMAR®, modelo MJ 35, Tupã, São Paulo), e posteriormente dividida em porções iguais de 2,6 kg. Uma das porções foi considerada a formulação Padrão (P, adicionada de 0,1% de eritorbato de sódio), a segunda porção o controle (C, não adicionada de eritorbato de sódio e de extrato natural), a terceira porção o tratamento 1 (T1, adicionado de 0,5% de extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte), a quarta porção o tratamento 2 (T2, adicionado de 0,7% de extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte), a quinta porção o tratamento 3 (T3, hambúrguer adicionado de 0,5% da fração residual), a sexta porção o tratamento 4 (T4, adicionado de 0,7% da fração residual), a sétima porção o tratamento 5 (T5, adicionado de 0,5% da fração acetato de etila), a oitava porção o tratamento 6 (T6, adicionado de 0,7% da fração acetato de etila) e a nona porção o tratamento 7 (T7, hambúrguer adicionado de 0,10% de extrato oleoso de alecrim, sobre o teor de gordura da massa cárnea). Dividiu-se a porção da massa cárnea do hambúrguer padrão, controle e dos tratamentos em partes de 80 gramas, as quais foram moldadas, manualmente, em forma de hambúrguer e embaladas em filme permeável ao oxigênio e armazenadas a -25 °C (± 1 °C).

A seleção do extrato hidroetanólico bruto, das frações acetato de etila e aquosa residual assim como das concentrações testadas (0,5% e 0,7%) foi baseada em resultados obtidos em experimento realizado previamente, onde foi observado que o extrato hidroetanólico bruto e as frações acetato de etila e aquosa residual apresentaram boa atividade antioxidante na concentração de 0,5%, entretanto inferior a atividade do extrato oleoso de alecrim (controle positivo), então usou-se também a concentração de 0,7% na tentativa de obter uma maior atividade antioxidante.

A contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos em placas e a determinação do índice de TBARS foram realizadas logo após a embalagem das amostras de hambúrguer (mês 0) e nos 2º, 4º, 6º, 8º, 10º, 12º, 14º e 16º meses de armazenamento a -25 °C (± 1 °C). A contagem de coliformes a 35 °C e termotolerantes, contagem de *Clostridios* sulfito redutores a 46 °C, *Staphylococcus* coagulase positiva e a pesquisa de *Salmonella* sp. foram realizadas somente no mês zero.

Composição centesimal

As análises químicas de teor de umidade, proteína e cinzas foram realizadas conforme AOAC (1995). O teor de lipídios foi determinado através do método do butirômetro (TERRA; BRUM, 1988).

Determinação da oxidação lipídica

A oxidação lipídica foi estimada através da determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) segundo o método de Raharjo, Sofos e Schmidt (1992), com modificações. Os tubos com as amostras e reativos foram colocados em banho Maria a 100 °C por 40 minutos e após resfriados a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 531 nm (BRAGAGNOLO; DANIELSEN; SKIBSTED, 2005). A densidade ótica lida foi multiplicada por 7,8 (TANG et al., 2001). Os resultados foram expressos em miligramas de malonaldeído por quilograma de amostra (mg MA/Kg amostra).

Análises microbiológicas do hambúrguer

A contagem de microrganismos aeróbios mesófilos totais, coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Staphylococcus coagulase* positiva, *Clostridium* sulfito redutores a 46 °C e a pesquisa de *Salmonella* sp. foram realizadas conforme descrito em Brasil (2003). A contagem de microrganismos aeróbios psicrotróficos em placas foi realizada através do método descrito por SILVA et al. (2007).

Análise estatística

O desenho experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com duas repetições de cada tratamento e do controle. Os dados da pesquisa de *Salmonella* sp. foram obtidos em duplicata, os da determinação de TBARS e das demais análises microbiológicas foram em quadruplicata. A análise estatística dos dados obtidos em todas as análises, foi realizada por meio da análise de variância (ANOVA) e as diferenças significativas entre as médias foram determinadas pelo teste de Tukey, com o nível de significância de 5% com a utilização do *software* estatístico SPSS 13.0 (NORUSIS, 2005).

Resultados e discussão

Na tabela 1 são mostrados os valores médios da contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, *Clostridium* sulfito redutores a 46 °C, coliformes totais, coliformes termotolerantes e pesquisa de *Salmonella* sp. das amostras de hambúrguer submetidas aos diferentes tratamentos. Pode-se observar que logo após a elaboração dos hambúrgueres os mesmos apresentaram a contagem de coliformes termotolerantes, *Staphylococcus coagulase* positiva, *Clostridium* sulfito redutores a 46°C e a pesquisa de *Salmonella* sp. abaixo do limite de detecção do método utilizado (BRASIL, 2003) e que se enquadraram dentro dos padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação (BRASIL, 2001). Na contagem de coliformes totais não observou-se diferença significativa entre os diferentes tratamentos.

Apesar de não ser esperado aumento nas contagens microbianas em produtos congelados, onde a deterioração microbiológica não é comum (GEORGANTELIS et al., 2007a), observou-se que a adição do extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte, da fração acetato de etila e da fração residual em ambas concentrações testadas (0,5% e 0,7%) não influenciaram na contagem de microrganismos aeróbios mesófilos totais e de psicrotróficos durante o período de armazenamento do hambúrguer como pode ser observado na tabela 2, ou seja não ocorreu nenhuma atividade antimicrobiana ou diminuição da resistência microbiana ao frio pela presença destes extratos durante o período de congelamento avaliado. Segundo Perumalla e Hettiarachchy (2011) os componentes antimicrobianos presentes em extratos naturais de plantas podem estar inativos em sistemas alimentares devido a suas interações com os lipídios e proteínas, o que poderia vir a reduzir a atividade antimicrobiana destes compostos. Para Holley e Patel (2005) as possíveis causas para a ausência de atividade antimicrobiana em sistemas alimentares pode ser devido a imobilização do componente antimicrobiano em gorduras, proteínas ou carboidratos e também pode ser atribuída as diferenças na atividade de água, as interações entre espécies bacterianas ou alterações nas bactérias tornando-as menos suscetíveis aos antimicrobianos em sistemas alimentares que em sistemas *in vitro*.

Quanto as características físico-químicas avaliadas na massa básica para elaboração dos hambúrgueres controle, padrão e tratamentos (Tabela 3), observou-se que as mesmas se enquadraram dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira (BRASIL, 2000). Os hambúrgueres apresentaram quantidade de gordura de 7,48% ficando abaixo de 23% que é o valor máximo estabelecido (BRASIL, 2000) e o teor de proteína foi de 17,36% e se enquadrou no limite mínimo de 15% estabelecido. O teor de umidade e cinzas foi respectivamente, de 66,75% e 2,75%.

Segundo relatado por Shan, Cai e Brooks (2009) carnes e produtos cárneos são suscetíveis à oxidação lipídica, porque o processo envolve a oxidação dos ácidos graxos poliinsaturados abundantes na membrana celular e também porque na carne estão presentes catalizadores como metais de transição (ferro, cobre) e moléculas com grupos heme que são fatores importantes nesta reação.

A suscetibilidade à oxidação lipídica da carne depende de vários fatores e de acordo com Ordóñez et al. (2005) a temperatura ótima de armazenamento da carne congelada situa-se entre -20 °C e -30 °C, sendo que a temperatura de -30 °C permite em comparação com a de -18 °C, quase duplicar o tempo de armazenamento, diminuindo a velocidade das reações bioquímicas. Quanto maior é a porcentagem de gordura da carne e mais elevada a proporção de ácidos graxos insaturados, mais rapidamente será provocada a alteração da gordura (ORDÓÑEZ et al., 2005). Provavelmente, o teor de gordura da massa básica para a elaboração dos hambúrgueres (7,48%) que está bem abaixo do valor máximo de 23% estabelecido pela legislação para hambúrgueres (BRASIL, 2000), juntamente com a temperatura de armazenamento das amostras (-25 °C) tenham contribuído para a manutenção dos valores de TBARS com pequenas variações entre 0,22 a 0,30 mg MA/Kg de amostra por 8 meses de armazenamento, apresentando-se sem diferenças significativas entre os diferentes tratamentos (Tabela 4).

As amostras hambúrgueres tratadas com eritorbato de sódio e extrato oleoso de alecrim apresentaram valores máximos de 0,30 mg MA/Kg amostra por 12 meses de armazenamento e aos 16 meses apresentaram

0,96 e 0,89 mg MA/Kg amostra, respectivamente, enquanto que neste mesmo período as demais amostras já apresentavam valores de TBARS superiores. Segundo Torres e Okani (2000, *apud* TERRA; CICHOSKI; FREITAS, 2006), valores de TBARS acima de 1,59 mg de aldeído malônico/kg de amostra podem causar danos à saúde do consumidor. Utilizando-se esse valor como referência, pode-se afirmar que apenas os hambúrgueres tratados com o eritorbato de sódio e o extrato oleoso de alecrim mantiveram-se adequados em relação à oxidação lipídica durante os 16 meses avaliados. Já os hambúrgueres tratados com extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte (0,5% e 0,7%), com a fração acetato de etila (0,5% e 0,7%) e a fração residual (0,5% e 0,7%) mantiveram-se com valores de TBARS abaixo do limite de 1,59 mg MA/Kg amostra até o 14º mês avaliado e no 16º mês de armazenamento apresentaram, respectivamente 1,85; 1,64; 2,02; 2,21; 1,84 e 2,33 mg MA/Kg amostra, indicando que não foram eficientes em controlar a oxidação lipídica como o eritorbato de sódio, aditivo usualmente utilizado neste tipo de produto cárneo e que o extrato oleoso de alecrim, antioxidante natural disponível comercialmente.

Segundo relatado por Trindade et al. (2008) o eritorbato de sódio apresenta um forte efeito antioxidante, quando aplicado em concentrações acima de 100 ppm, sendo que em concentrações mais baixas pode acelerar o desenvolvimento da rancidez oxidativa. No presente experimento a concentração eritorbato de sódio utilizada (0,1%) foi eficiente conseguindo manter as amostras de hambúrguer com baixos valores de TBARS por 16 meses. Já Trindade et al. (2008) verificaram que a adição de eritorbato (500 ppm) juntamente com nitrito foi efetivo na redução dos problemas de oxidação lipídica na CMS de galinhas matrizes, mas em menor grau, na CMS de poedeiras quando estocadas por 99 dias a -18 °C. Segundo estes autores na concentração adicionada (500 ppm), o eritorbato pode não ter sido suficiente para contrabalançar os fatores envolvidos no processo de oxidação da CMS de galinhas poedeiras.

Os extratos de alecrim tem demonstrado potencial antioxidante em vários experimentos com diversas matrizes cárneas, tais como carne suína (HERNÁNDEZ et al., 2009), produto cárneo reestruturado feito com carne suína previamente congelada (McCARTHY et al., 2001), almôndegas de carne bovina (FERNÁNDEZ-LOPEZ et al., 2005), salsicha suína (SEBRANEK et al., 2005), hambúrgueres de carne bovina congelados (GEORGANTELIS et al., 2007a), carne bovina cozida (AHN; GRÜN; MUSTAPHA, 2007), reestruturados de carne bovina moída fortificados com ácidos graxos *n*-3 (LEE et al., 2005) e lingüiça suína frescal (GEORGANTELIS et al., 2007b), entre outros. Tais resultados vem ao encontro dos resultados obtidos no presente estudo. Segundo exposto por Georgantelis et al., (2007a) a atividade antioxidante de extratos de alecrim tem sido associada a presença de vários diterpenos fenólicos tais como ácido carnósico, carnosol, rosmanol, rosmariquinona e rosmaridifenol, que bloqueiam reações em cadeia por doação de átomos de hidrogênio.

Conforme descrito por Shan, Cai e Brooks (2009) os compostos fenólicos de extratos podem estar envolvidos na inibição da oxidação lipídica, devido a possibilidade de inibir a formação de radicais livres e a propagação de reações com radicais livres, bem como, através da quelação de íons metálicos de transição como o ferro e cobre, ambos catalizadores de reações oxidativas. Em estudo sobre a atividade antioxidante do caqui cv. Mopan, que é um tipo de caqui adstringente cultivado na China, foi demonstrado que seu

extrato apresenta elevada ação contra radicais livres (CHEN et al., 2008). Dalvi (2008) observou que o extrato de polpa de caqui da cultivar Rama Forte inibe a degradação oxidativa da 2-desoxirribose induzida por 50µM de Fe (III) e 500 µM de ascorbato. Outros pesquisadores também tem demonstrado que extratos de caqui possuem atividade antioxidante considerável (KATSUBE et al., 2004; GARCIA et al., 2004; SUZUKI et al., 2005; GU et al., 2008; FU et al., 2008). Em experimento realizado por Milani et al. (2010) foi verificado que o extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte apresentou elevada inibição da oxidação lipídica em carne de frango tratada termicamente armazenada a 4 °C (±1 °C) durante 14 dias.

Já em estudo conduzido por Hoffmann et al. (2003) observaram que extratos brutos (aquoso e hidroetanólico) de caqui da cv. Taubaté apresentaram ação antioxidante nas concentrações de 0,5% e 1,0% em carne mecanicamente separada de frango (CMS) durante armazenamento a 5 °C, entretanto quando armazenadas a -18 °C as médias dos valores de TBARS, das amostras de CMS, incorporadas dos extratos, não apresentaram diferença significativa do controle. Este resultado vem ao encontro dos dados obtidos no presente experimento, uma vez que durante o período de armazenamento de 16 meses sob congelamento as amostras de hambúrguer tratadas com o extrato hidroetanólico bruto (0,5 e 0,7%), com a fração acetato de etila (0,5 e 0,7%) e com a fração residual (0,5 e 0,7%), não apresentaram valores de TBARS inferiores aos obtidos pelas amostras controle, sem antioxidante, demonstrando que os mesmos não foram eficientes como antioxidantes nas amostras de hambúrguer armazenadas congeladas.

Uma hipótese para este fato poderia ser que a ação antioxidante dos compostos fenólicos supostamente presentes no extrato hidroetanólico bruto, nas frações acetato de etila e residual pode ter sido retraída em função da baixa temperatura empregada no armazenamento das amostras, ou que a concentração dos mesmos estariam inadequadas para atingir a atividade antioxidante necessária para inibir ou, no mínimo controlar os fatores envolvidos na oxidação lipídica das amostras de hambúrguer congeladas. Desta forma sugere-se testar outras concentrações do extrato hidroetanólico bruto, da fração acetato de etila e da fração residual em amostras de hambúrguer bovino congelado em futuros experimentos.

Conclusão

Nas condições utilizadas neste estudo a aplicação do extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte, da fração acetato de etila e da fração residual em ambas concentrações (0,5% e 0,7%) nas amostras de hambúrguer bovino não interferiram na contagem de coliformes totais e não alteraram a estabilidade microbiológica, mantendo todas as amostras sem diferenças quanto a contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e psicotróficos durante o período de armazenamento de 16 meses sob congelamento (-25 °C). Também não promoveram inibição da oxidação lipídica do hambúrguer bovino congelado, fato que foi confirmado pelos maiores valores de TBARS apresentados pelas amostras que receberam tais tratamentos em comparação com as amostras de hambúrgueres adicionadas do extrato de alecrim e do eritorbato de sódio.

Referências

AHN, J.; GRÜN; MUSTAPHA, A. Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef. **Food Microbiology**, v.24, p.7-14, 2007.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**, 16^a ed., Arlington, 1995. 1137p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária–ANVISA. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 10 jan. 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 set. 2003. Seção 1, p. 14.

BRASIL. Ministério Da Agricultura e do Abastecimento Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa Nº 20, de 31 de Julho de 2000, Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Hambúrguer. Disponível on line: http://www.engetecno.com.br/port/legislacao/carnes_hamburger.htm> acesso em: 15 jul.2011.

BRAGAGNOLO, N.; DANIELSEN; SKIBSTED, L. H. Effect of rosemary on lipid oxidation in pressure-processed, minced chicken breast during refrigerated storage and subsequent heat treatment. **European Food Research and Technology**, v.221, p.610-615, 2005.

CHEN, X. N., FAN, J. F., YUE, X., WU, X. R., & LI, L. T. Radical scavenging activity and phenolic compounds in persimmon (*Diospiros kaki* L. cv. Mopan). **Journal of Food Science**, v. 73, p. 24–28, 2008.

DALVI, L. T. **Mecanismos de ação de antioxidantes de origem vegetal: estudo do polifenol ácido elágico e do extrato de caqui (*Diospyros kaki*)**. 2008. 129f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília.

DEVATKAL, S. K.; NARSAIAH, K.; BORAH, A. Anti-oxidant effect of extracts of kinnow rind, pomegranate rind and seed powders in cooked goat meat patties. **Meat Science**, v.85, p. 155-159, 2010.

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

FU, L.; XU, T. B.; XU, X. R.; GAN, R. Y.; ZHANG, Y.; XIA, E.Q.; LI, H.B. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. **Food Chemistry** (2011), doi: 10.1016/j.foodchem.2011.04.079

GARCIA, A. M., PASCUAL, T. S., SANTOS, B. C., RIVAS, G. J. Evaluation of the antioxidant properties of fruits. **Food Chemistry**, v. 84, p.13–18, 2004.

GEORGANTELIS, D.; BLEKAS, G., KATIKOU, P.; AMBROSIADIS, I.; FLETOURIS, D. J. Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on lipid oxidation and colour stability during frozen storage of beef burgers. **Meat Science**, v.75, p.256–264, 2007a .

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, p.172–181, 2007b .

GIORDANI, E.; DOUMETT, S.; NIN, S.; DEL BUBBA, M. Selected primary and secondary metabolites in fresh persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.): A review of analytical methods and current knowledge of fruit composition and health benefits. **Food Research International**, v.44, n.7, p.1752-1767, 2011.

GU, H.F.; LI, C.M.; XU, Y.J.; HU, F.W.; CHEN, M.H.; WAN, Q.H. Structural features and antioxidant activity of tannin from persimmon pulp. **Food Research International**, v.41, p.208-217, 2008.

HERNÁNDEZ, E. H.; ALQUICIRA, E.P.; FLORES, M.E.J.; LEGARRETA, I.G. Antioxidant effect rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) extracts on TBARS and colour of model raw pork batters. **Meat Science**, v.81 p.410–417, 2009.

HOFFMANN, R. S. H. **Antioxidante natural na proteção da carne mecanicamente separada (CMS) de frango**. 2003. 135 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2003.

HOFFMANN, R. S. H.; DELLA LIBERA, R.; MILANI, L. I. G.; QUADROS, C. P.; FURTADO, A. S.; TERRA, N. N. Antioxidante natural na proteção da carne mecanicamente separada de frango. In: 5º SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 2003, Campinas. **Anais...**, Campinas: Microservice, 2003. 1 CD-ROM.

HOLLEY, R.A.; PATEL, D. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oil and smoke antimicrobial. **Food Microbiology**, v. 22, n.4, p.273-292, 2005.

KATSUBE, T.; TABATA, H.; OHTA, Y.; YAMASAKI, Y.; ANUURAD, E.; SHIWAKU, K.; YAMANE, Y. Screening for antioxidant activity in edible plant products: comparison of low-density lipoprotein oxidation assay, DPPH radical scavenging assay, and Folin-Ciocalteu assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.8, p.2391-2396, 2004.

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

McCARTHY, T.L.; KERRY, J.P.; KERRY, J.F.; LYNCH, P.B.; BUCKLEY, D.J. Assessment of the antioxidant potential of natural food and plant extracts in fresh and previously frozen pork patties. **Meat Science**, v.57, n.2, p.177–184, 2001.

MILANI, L. I. G.; TERRA, N. N. FRIES, L. L. M.; REZER, A. P. S.; FERREIRA, S. F.; CICHOSKI, A. J.; VALENTE, C. R. F. **Oxidação lipídica, características sensoriais e cor da carne de frango adicionada de extratos de caqui (*Diospyros kaki* L.) e submetida a tratamento térmico**. Brazilian Journal of Food Technology, Campinas, v. 13, n. 4, p. 242-250, 2010.

NAVEENA, B. M.; SEN, A. R.; KINGSLEY, R. P.; SINGH, D. B.; KODAI AH, N. Antioxidant activity of pomegranate rind powder extract in cooked chicken patties. **International Journal of Food Science and Technology**, v.43, p.1807–1812, 2008.

NORUSIS, M. **SPSS 13.0: Guide to Data Analysis**. Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 2005.

ORDÓÑEZ P., J. A.; RODRIGUEZ, M.I.C., ÁLVAREZ, L.F.; SANZ, M.L.G.; MINGUILLÓN, G.D.G.F.; PERALES, L.L.; CORTECERO, M.D.S. **Tecnología de Alimentos: Alimentos de origem animal**. Porto Alegre: Ed. Artmed, 2005. 279p.

PERUMALA, A. V. S.; HETTIARACHCHY, N. S Green tea and grape seed extracts – Potential applications in food safety and quality. **Food Research International**, v.44, p.827-839, 2011.

RAHARJO, S.; SOFOS, J. N.; SCHMIDT, G. R. Improved speed, specificity, and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid – C₁₈ method for measuring lipid peroxidation in beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.40, n.12, p.2182-2185. 1992.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v.30, n.12, p.3875-3883, 1991.

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

SHAN, B.; CAI, Y. Z.; BROOKS, J. D.; Corke, H. Antibacterial and antioxidant effects of five spice and herb extracts as natural preservatives of raw pork. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.89, p.1879-1885, 2009.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**, 3.ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007. 552p.

SUZUKI, T.; SOMEYA, S.; HU, F.; HU, F. TANOKURA, M. Comparative study of catechin compositions in five Japanese persimmons (*Diospyros kaki*). **Food Chemistry**, v.93, p.149-152, 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.; BRUM, M. A. R. **Carne e Seus Derivados - Técnicas de Controle de Qualidade**. São Paulo: Ed. Nobel, 1988. 119 p.

TERRA, N. N. **Apontamentos de Tecnologia de Carnes**. São Leopoldo: Editora Unisinos. 2005. 216p.

TERRA, N. N.; CICHOSKI, A. J.; FREITAS, R. J. S. Valores de nitrito de TBARs durante o processo e armazenamento da paleta suína curada, maturada e fermentada. **Ciência Rural**, v. 36, n. 3, p. 965-970, 2006.

TRINDADE, M.A.; NUNES, T.P.; CONTRERAS-CASTILLO, C.J.; FELÍCIO, P.E. Estabilidade oxidativa e microbiológica em carne de galinha mecanicamente separada e adicionada de antioxidantes durante período de armazenamento a -18 °C. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n.1, p.160-168, 2008.

VEBERIC et al. Comparative study of primary and secondary metabolites in 11 cultivars of persimmon fruit (*Diospiros kaki L.*). **Food Chemistry**, v.119, p.477-483, 2010.

ZHANG, W.; XIAO, S., SAMARAWEEERA, H., LEE, E. J., AHN, D.U. Improving functional value of meat products. **Meat Science**, v.86, p.15–31, 2010.

ZHAO, B.; HALL, C. A. Composition and antioxidant activity of raisin extracts obtained from various solvents. **Food Chemistry**, v.108, p.511-518, 2008.

TABELAS

Tabela 1. Valores médios da contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, *Clostridium* sulfito redutores a 46 °C, coliformes totais, coliformes termotolerantes e pesquisa de *Salmonella sp.*, das amostras de hambúrguer submetidas aos diferentes tratamentos logo após a sua elaboração.

Tratamento	Pesquisa de <i>Salmonella sp.</i> /25g de amostra	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (Log UFC·g⁻¹)	<i>Clostridium</i> sulfito redutores a 46 °C (Log UFC·g⁻¹)	Coliformes totais (Log UFC·g⁻¹)	Coliformes termotolerantes (Log UFC·g⁻¹)
P	Ausente	<1.0	<1.0	4,26 ± 0,187 ^{a*}	<1.0
C	Ausente	<1.0	<1.0	4,09 ± 0,058 ^a	<1.0
T1	Ausente	<1.0	<1.0	3,91 ± ,267 ^a	<1.0
T2	Ausente	<1.0	<1.0	4,04 ± 0,072 ^a	<1.0
T3	Ausente	<1.0	<1.0	4,27 ± 0,123 ^a	<1.0
T4	Ausente	<1.0	<1.0	4,22 ± 0,141 ^a	<1.0
T5	Ausente	<1.0	<1.0	4,22 ± 0,399 ^a	<1.0
T6	Ausente	<1.0	<1.0	3,97 ± 0,364 ^a	<1.0
T7	Ausente	<1.0	<1.0	4,29 ± 0,066 ^a	<1.0

*médias ± desvio padrão na mesma coluna seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância, **P**: hambúrguer padrão produzido com eritorbato de sódio; **C**: hambúrguer controle formulado sem adição de antioxidante natural e do eritorbato de sódio; **T1**: hambúrguer adicionado de 0,5% de extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte; **T2**: hambúrguer adicionado de 0,7% de extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte; **T3**: hambúrguer adicionado de 0,5% da fração residual; **T4**: hambúrguer adicionado de 0,7% da fração residual; **T5**: hambúrguer adicionado de 0,5% da fração acetato de etila; **T6**: hambúrguer adicionado de 0,7% da fração acetato de etila; **T7**: hambúrguer adicionado de 0,10% (sobre o teor de gordura) de extrato oleoso de alecrim.

Tabela 2. Valores médios da contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos das amostras de hambúrguer controle e das submetidas aos diferentes tratamentos durante o período de armazenamento a $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Mesófilos (Log UFC ⁻¹)	Período de Armazenamento (meses)									
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	
P	5,82±0,09 ^a	5,81±0,09 ^a	5,79±0,10 ^a	5,76±0,08 ^a	5,76±0,08 ^a	5,45±0,17 ^a	5,35±0,17 ^a	5,36±0,22 ^a	5,28±0,05 ^a	4,96±0,06 ^a
C	5,94±0,09 ^a	5,93±0,13 ^a	5,90±0,12 ^a	5,90±0,12 ^a	5,90±0,12 ^a	5,46±0,08 ^a	5,43±0,06 ^a	5,42±0,08 ^a	5,26±0,10 ^a	5,04±0,10 ^a
T1	5,76±0,08 ^a	5,75±0,11 ^a	5,72±0,11 ^a	5,68±0,11 ^a	5,68±0,11 ^a	5,35±0,11 ^a	5,25±0,11 ^a	5,26±0,13 ^a	5,32±0,02 ^a	5,05±0,12 ^a
T2	5,92±0,04 ^a	5,92±0,04 ^a	5,89±0,04 ^a	5,85±0,04 ^a	5,85±0,04 ^a	5,21±0,08 ^a	5,09±0,10 ^a	5,08±0,11 ^a	5,15±0,06 ^a	5,03±0,17 ^a
T3	5,78±0,28 ^a	5,76±0,27 ^a	5,73±0,28 ^a	5,69±0,25 ^a	5,69±0,25 ^a	5,41±0,31 ^a	5,35±0,41 ^a	5,34±0,42 ^a	5,20±0,26 ^a	5,05±0,06 ^a
T4	5,60±0,21 ^a	5,58±0,22 ^a	5,56±0,22 ^a	5,57±0,19 ^a	5,57±0,19 ^a	5,19±0,14 ^a	5,09±0,14 ^a	5,05±0,17 ^a	5,31±0,06 ^a	4,96±0,11 ^a
T5	5,83±0,08 ^a	5,77±0,05 ^a	5,73±0,05 ^a	5,71±0,05 ^a	5,71±0,05 ^a	5,16±0,02 ^a	5,06±0,02 ^a	5,04±0,03 ^a	5,28±0,02 ^a	5,03±0,10 ^a
T6	5,81±0,18 ^a	5,81±0,20 ^a	5,78±0,23 ^a	5,72±0,23 ^a	5,72±0,23 ^a	5,19±0,03 ^a	5,00±0,08 ^a	4,96±0,12 ^a	5,31±0,13 ^a	4,95±0,09 ^a
T7	5,92±0,01 ^a	5,90±0,04 ^a	5,89±0,05 ^a	5,87±0,06 ^a	5,87±0,06 ^a	5,28±0,19 ^a	5,18±0,19 ^a	5,16±0,19 ^a	5,36±0,04 ^a	5,10±0,01 ^a
Psicrotróficos (Log UFC⁻¹)										
P	6,43±0,08 ^a	6,41±0,13 ^a	6,43±0,15 ^a	6,33±0,09 ^a	6,33±0,09 ^a	6,25±0,07 ^a	6,21±0,03 ^a	5,71±0,08 ^a	5,18±0,13 ^a	5,45±0,04 ^a
C	6,31±0,06 ^a	6,35±0,08 ^a	6,45±0,08 ^a	6,38±0,05 ^a	6,38±0,05 ^a	6,32±0,07 ^a	6,24±0,02 ^a	5,88±0,06 ^a	5,38±0,33 ^a	5,45±0,03 ^a
T1	6,29±0,14 ^a	6,28±0,15 ^a	6,31±0,29 ^a	6,26±0,07 ^a	6,26±0,07 ^a	6,32±0,04 ^a	6,16±0,10 ^a	5,73±0,09 ^a	5,58±0,08 ^a	5,51±0,11 ^a
T2	6,13±0,20 ^a	6,13±0,20 ^a	6,05±0,22 ^a	6,22±0,09 ^a	6,22±0,09 ^a	6,25±0,06 ^a	6,18±0,06 ^a	5,77±0,08 ^a	5,64±0,26 ^a	5,48±0,06 ^a
T3	6,21±0,10 ^a	6,14±0,18 ^a	5,93±0,42 ^a	6,27±0,07 ^a	6,27±0,07 ^a	6,29±0,08 ^a	6,25±0,03 ^a	5,89±0,07 ^a	5,38±0,35 ^a	5,47±0,07 ^a
T4	6,15±0,15 ^a	6,15±0,15 ^a	6,15±0,16 ^a	6,27±0,10 ^a	6,27±0,10 ^a	6,26±0,07 ^a	6,26±0,07 ^a	5,81±0,14 ^a	5,55±0,22 ^a	5,37±0,11 ^a
T5	6,36±0,10 ^a	6,35±0,11 ^a	6,43±0,04 ^a	6,32±0,07 ^a	6,32±0,07 ^a	6,31±0,06 ^a	6,25±0,04 ^a	5,80±0,03 ^a	5,54±0,30 ^a	5,37±0,03 ^a
T6	6,15±0,14 ^a	6,09±0,12 ^a	6,04±0,08 ^a	6,31±0,08 ^a	6,31±0,08 ^a	6,31±0,06 ^a	6,23±0,02 ^a	5,85±0,06 ^a	5,59±0,16 ^a	5,36±0,08 ^a
T7	6,24±0,08 ^a	6,23±0,09 ^a	6,20±0,23 ^a	6,33±0,05 ^a	6,33±0,05 ^a	6,32±0,07 ^a	6,23±0,02 ^a	5,89±0,05 ^a	5,68±0,16 ^a	5,43±0,05 ^a

*médias \pm desvio padrão (n=4) na mesma coluna seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância. **P**: hambúrguer padrão produzido com eritorbato de sódio; **C**: hambúrguer controle formulado sem adição de antioxidante natural e do eritorbato de sódio; **T1**: hambúrguer adicionado de 0,5% de extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte; **T2**: hambúrguer adicionado de 0,7% de extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte; **T3**: hambúrguer adicionado de 0,5% da fração residual; **T4**: hambúrguer adicionado de 0,7% da fração residual; **T5**: hambúrguer adicionado de 0,5% da fração acetato de etila; **T6**: hambúrguer adicionado de 0,7% da fração acetato de etila; **T7**: hambúrguer adicionado de 0,10% (sobre o teor de gordura) de extrato oleoso de alecrim.

Tabela 3. Valores médios do teor de umidade, cinzas, proteínas e lipídeos da massa cárnea pronta para a elaboração dos hambúrgueres controle, padrão e dos diferentes tratamentos.

	Massa básica hambúrguer	Limite estabelecido por Brasil (2000)
Umidade (%)	66,75	-
Cinzas (%)	2,75	-
Proteína (%)	17,36	Mínimo 15
Lipídeos (%)	7,48	Máximo 23

Tabela 4. Valores médios de TBARS das amostras de hambúrguer controle e das submetidas aos diferentes tratamentos durante o período de armazenamento a -25 °C.

	Período de Armazenamento (meses)								
	0	2	4	6	8	10	12	14	16
TBARS (mg MA/Kg amostra)									
P	0,23±0,01 ^a	0,23±0,05 ^a	0,28±0,01 ^a	0,26±0,03 ^a	0,29±0,03 ^a	0,28±0,01 ^d	0,30±0,10 ^c	0,67±0,06 ^d	0,96±0,01 ^e
C	0,24±0,01 ^a	0,23±0,01 ^a	0,27±0,02 ^a	0,24±0,04 ^a	0,29±0,04 ^a	0,38±0,01 ^{ab}	0,48±0,02 ^{ab}	0,86±0,07 ^c	1,68±0,08 ^d
T1	0,24±0,01 ^a	0,22±0,02 ^a	0,26±0,01 ^a	0,26±0,03 ^a	0,29±0,04 ^a	0,34±0,03 ^{bc}	0,39±0,03 ^{bc}	0,90±0,01 ^{bc}	1,85±0,01 ^{cd}
T2	0,24±0,01 ^a	0,23±0,01 ^a	0,29±0,01 ^a	0,29±0,04 ^a	0,28±0,03 ^a	0,40±0,02 ^a	0,53±0,03 ^a	1,15±0,05 ^a	1,64±0,13 ^d
T3	0,24±0,01 ^a	0,22±0,02 ^a	0,29±0,03 ^a	0,29±0,02 ^a	0,29±0,01 ^a	0,37±0,19 ^{ab}	0,44±0,04 ^{ab}	1,03±0,02 ^{ab}	1,84±0,01 ^{cd}
T4	0,23±0,01 ^a	0,23±0,02 ^a	0,28±0,01 ^a	0,29±0,02 ^a	0,28±0,02 ^a	0,35±0,02 ^{bc}	0,41±0,04 ^{bc}	1,02±0,09 ^{ab}	2,33±0,04 ^a
T5	0,24±0,01 ^a	0,24±0,01 ^a	0,29±0,01 ^a	0,29±0,02 ^a	0,30±0,01 ^a	0,39±0,05 ^{ab}	0,49±0,06 ^{ab}	0,86±0,02 ^c	2,02±0,02 ^{bc}
T6	0,24±0,01 ^a	0,24±0,01 ^a	0,28±0,02 ^a	0,29±0,01 ^a	0,29±0,01 ^a	0,36±0,01 ^{ab}	0,42±0,02 ^{ab}	0,89±0,11 ^{bc}	2,21±0,15 ^{ab}
T7	0,23±0,01 ^a	0,23±0,02 ^a	0,27±0,03 ^a	0,27±0,01 ^a	0,28±0,04 ^a	0,29±0,00 ^{cd}	0,30±0,01 ^c	0,81±0,04 ^{cd}	0,89±0,03 ^c

*médias ± desvio padrão em cada coluna seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância. **P**: hambúrguer padrão produzido com eritorbato de sódio; **C**: hambúrguer controle formulado sem adição de antioxidante natural e do eritorbato de sódio; **T1**: hambúrguer adicionado de 0,5% de extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte; **T2**: hambúrguer adicionado de 0,7% de extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte; **T3**: hambúrguer adicionado de 0,5% da fração residual; **T4**: hambúrguer adicionado de 0,7% da fração residual; **T5**: hambúrguer adicionado de 0,5% da fração acetato de etila; **T6**: hambúrguer adicionado de 0,7% da fração acetato de etila; **T7**: hambúrguer adicionado de 0,10% (sobre o teor de gordura) de extrato oleoso de alecrim.

5 DISCUSSÃO

Nos anos recentes, tem sido dada atenção ao desenvolvimento de produtos cárneos que além de seguros e práticos, possam contribuir para a manutenção da saúde. Os aditivos químicos sintéticos muitas vezes têm sido alvos de questionamentos quanto à segurança e os consumidores atuais têm demonstrado preferência por alimentos mais naturais. Dessa forma, muitos estudos estão envolvidos na pesquisa de recursos naturais antioxidantes e antimicrobianos (AHN; GRÜN; MUSTAPHA, 2007; GEORGANTELIS et al., 2007a; GEORGANTELIS et al., 2007b; SHAN et al., 2009; ZHANG et al., 2010).

Os compostos fenólicos constituem um dos principais grupos de compostos naturalmente presentes nos vegetais que podem atuar como antioxidantes primários ou terminadores de radicais livres (CHEN et al., 2008). Segundo Giordani et al. (2011) os caquis são uma boa fonte de compostos polifenólicos, como o ácido p-cumárico, catequina, epicatequina, epigallo catequina, e proantocianidinas condensadas. A composição química, juntamente com resultados de testes *in vivo* e *in vitro*, sugerem um papel relevante do caqui na proteção contra radicais livres e na prevenção de algumas doenças humanas (GIORDANI et al., 2011).

Tem sido relatado que o teor de compostos fenólicos totais pode variar em diferentes variedades de caqui (CHEN et al., 2008). Resultados de estudos demonstraram que caquis adstringentes possuem maior teor de compostos fenólicos e maior potencial antioxidante que caquis não adstringentes (KATSUBE et al., 2004; VEBERIC et al., 2010). Desta forma julgou-se necessário a determinação de compostos fenólicos nos extratos obtidos a partir das duas cultivares de caqui em estudo (Quioto e Rama Forte), assim como a verificação da atividade antioxidante na carne de frango. Conforme esperado, o extrato obtido do caqui cv. Rama Forte (adstringente) apresentou maior teor de compostos fenólicos, e também maior atividade antioxidante na carne de frango submetida ao tratamento térmico que o extrato de caqui cv. Quioto (não adstringente).

Durante certas operações de processamento da carne, o equilíbrio dos fatores que controlam as reações oxidativas no tecido vivo é eliminado, ocorrendo alterações oxidativas dos componentes químicos (ARAUJO, 2008). As amostras de carne de frango e bovina além do processo de moagem, que ocasiona redução do

tamanho das partículas cárneas, proporciona a mistura de catalisadores da oxidação com a fração lipídica e a incorporação do oxigênio, também foram adicionadas de sal (cloreto de sódio), que aumenta a atividade catalítica do ferro e reduz a atividade de enzimas antioxidantes (ARAUJO, 2008). Além disso, as amostras de carne de frango e carne bovina controle e as adicionadas dos diferentes tratamentos também foram submetidas a um tratamento térmico, visando torná-las ainda mais suscetíveis a oxidação lipídica, pois conforme foi descrito por Tang et al. (2001) a carne cozida é mais suscetível a peroxidação lipídica que a carne crua durante o armazenamento refrigerado e congelado devido o processo de aquecimento resultar em aceleração das reações oxidativas com os lipídios da carne.

As amostras de carne de frango adicionadas dos extratos hidroetanólicos brutos de caqui cv. Quioto e Rama Forte, em ambas as concentrações testadas (0,5% e 1,0%) apresentaram valores de TBARS significativamente inferiores que as amostras controle, logo após o tratamento térmico (Dia 0), sugerindo que ambos os extratos retardaram a oxidação lipídica durante e imediatamente após o tratamento térmico. Estes resultados estão de acordo com os resultados obtidos com outros antioxidantes naturais em almondegas de carne bovina cozida (FERNÁNDEZ-LOPEZ et al., 2005) e em carne bovina moída cozida (AHN; GRÜN; FERNANDO, 2002).

Sato e Hegarty (1971) relataram que ferro não-heme foi o catalisador ativo da oxidação lipídica em carnes cozidas. Chen et al. (1984) mencionaram que o ferro foi liberado dos pigmentos heme durante o cozimento e que o consequente aumento de ferro não-heme foi responsável pela oxidação lipídica. Segundo ARAUJO (2008) o aquecimento libera o ferro da mioglobina e de outras metaloproteínas que atuam como catalisadores, acelerando a reação da oxidação de fosfolipídios, transforma a mioglobina em molécula pró-oxidante, induz a decomposição de peróxido e desnatura enzimas protetoras que atuam no controle da oxidação. Possivelmente estes fatores tenham contribuído para a oxidação lipídica das amostras de carne de frango durante e logo após o tratamento térmico, o que foi constatado pelos elevados valores de TBARS obtidos no dia zero pelas amostras controle, sem extrato (1,83 mg MA/Kg amostra), em contrapartida aos valores inferiores obtidos pelas amostras adicionadas do extrato hidroetanólico de caqui cv. Quioto (0,5 e 1%), do extrato hidroetanólico de caqui cv. Rama Forte (0,5 e 1%) e do extrato de erva mate (0,5%) com 1,50; 1,02; 0,21; 0,23; 0,20 mg MA/Kg amostra, respectivamente.

Presume-se que os antioxidantes naturais utilizados diminuíram a velocidade da reação de oxidação mantendo as amostras de carne de frango tratadas com valores de TBARS inferiores.

Durante o período de armazenamento das amostras de carne de frango o extrato de caqui cv. Rama Forte (0,5% e 1,0%) apresentou boa atividade antioxidante, proporcionando maior proteção contra a oxidação lipídica que o extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Quioto, o que foi verificado pelos menores valores de TBARS destas amostras. Ambos os extratos não promoveram alteração significativa nas características sensoriais (cor, aroma, sabor e textura) das amostras, o que foi considerado um resultado positivo, pois segundo Amarowicz (2009) os níveis necessários dos antioxidantes naturais para serem ativos nos alimentos muitas vezes podem transmitir características sensoriais negativas e gerar problemas de aceitação, o que não ocorreu com a utilização do extrato hidroetanólico de caqui de ambas as cultivares testadas.

O extrato de caqui da cultivar Rama Forte além de não alterar de forma significativa as características sensoriais das amostras de carne de frango apresentou maior atividade antioxidante que o extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Quioto, desta forma foi fracionado com solventes de polaridade crescente (n-hexano, clorofórmio e acetato de etila) e submetido, juntamente com as frações (hexânica, clorofórmica, de acetato de etila e residual) a determinação da atividade antioxidante *in vitro* pelo teste de captura de radicais livres DPPH, a avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* pelo método de difusão em disco e a determinação da inibição da oxidação lipídica e atividade antimicrobiana na carne bovina.

O extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama forte e a fração residual apresentaram maior teor de compostos fenólicos e através do teste de captura de radicais livres DPPH demonstraram atividade antioxidante superior, que as demais frações (hexânica, clorofórmica e acetato de etila). Observou-se que a fração acetato de etila, que apresentou aproximadamente 33 a 34 vezes menor quantidade de compostos fenólicos que o extrato hidroetanólico bruto e que a fração residual, apresentou baixa atividade antioxidante através do método do DPPH, obtendo valor próximo a 20% na maior concentração testada (10 mg.mL⁻¹). Entretanto, na carne bovina tratada termicamente a porcentagem de inibição da oxidação lipídica proporcionada pela fração acetato de etila, quando utilizada na concentração de 0,5%, foi de 60,31% e apresentou-se sem diferença significativa dos tratamentos

com o extrato hidroetanólico bruto e a fração residual, que promoveram inibição da oxidação lipídica de 60,21 e 61,90; respectivamente.

Uma explicação para este fato poderia ser que não apenas a concentração de compostos fenólicos é importante na atividade antioxidante, mas segundo relatou Pokorný (2007) vários fatores afetam a atividade antioxidante entre estes estão os fatores que dependem do próprio antioxidante como estrutura química, potencial redox, polaridade, solubilidade e concentração. Existem fatores que dependem do alimento a ser estabilizado tais como distribuição na fase lipídica e fase aquosa, presença de pró-oxidantes, presença de outros antioxidantes, presença de sinergistas. Também existem fatores, dependendo das condições de armazenamento ou aquecimento como temperatura de estocagem, tempo de estocagem, temperatura de aquecimento, tempo de aquecimento e acesso de oxigênio. Kahkonen et al. (1999) realizou experimento com 92 extratos de plantas e observou que a atividade antioxidante de um extrato não pode ser prevista apenas com base em seu conteúdo fenólico. Para Hernández et al. (2009) a atividade antioxidante dos extratos não depende apenas da concentração de fenóis totais, mas também da sua polaridade e estrutura molecular.

O método DPPH consiste na redução do radical DPPH \cdot , de coloração púrpura, que, ao receber um elétron ou um radical hidrogênio, muda sua coloração de violeta para amarelo, ficando estável e com o desaparecimento da absorção que pode ser avaliada pelo decréscimo da absorbância (COSTA et al., 2010). Desta forma, através do método do DPPH é avaliada apenas a habilidade de doação de átomos de hidrogênio ou de elétrons pelas substâncias antioxidantes presentes nos extratos e frações, enquanto que na carne bovina a avaliação da atividade antioxidante acontece de forma mais ampla possibilitando a atuação das substâncias fenólicas presentes no extrato ou nas frações através de outros mecanismos de ação como, por exemplo, agindo como quelantes complexando metais, bloqueando a peroxidação catalizada por ferro e interrompendo as reações em cadeia ou também como sequestrantes, reagindo com o oxigênio, removendo-o do sistema (MANCINI FILHO; MANCINI, 2011).

Provavelmente as substâncias fenólicas presentes na fração acetato de etila, que apesar de estarem em menor teor (aproximadamente 33 a 34 vezes), que no extrato hidroetanólico bruto e que na fração residual, tenham atuado como antioxidantes através de outros mecanismos de ação e não apenas pela doação de

átomos de hidrogênio ou de elétrons aos radicais livres e desta forma contribuíram para uma inibição da oxidação lipídica semelhante ao extrato hidroetanólico bruto e a fração residual na carne bovina.

Para realização do teste inicial, com os extratos obtidos a partir de caquis das duas cultivares, foi utilizada carne de frango devido sua susceptibilidade a oxidação lipídica (ARAUJO, 2008). Posteriormente, para o teste da atividade antioxidante e antimicrobiana do extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte, das frações hexânica, clorofórmica, de acetato de etila e fração residual foi utilizada carne bovina devido a mesma fazer parte da formulação do salame e do hambúrguer.

A ordem de susceptibilidade a oxidação lipídica de carnes obtidas de diferentes espécies animais esta relacionada ao nível de gordura, ácidos graxos insaturados, e conteúdo de ferro associado com cada espécie (TANG et al., 2001). Segundo Araujo (2008) as alterações oxidativas ocorrem em maior velocidade em carnes de aves do que na bovina. A carne de frango (7% de gordura) oxida mais rapidamente que a de boi, em razão do elevado teor de ácidos graxos insaturados, especialmente nos fosfolipídios (em torno de 30 a 40% do lipídio total).

Neste experimento apesar de não terem sido realizadas comparações estatísticas entre os dados obtidos com carne de frango e bovina, devido terem sido conduzidos de forma independente, pode-se observar que os valores de TBARS das amostras de carne de frango foram superiores aos valores das amostras de carne bovina durante todo o período avaliado. Os Valores de TBARS das amostras de frango controle variaram de 1,83 mg MA/Kg amostra a 5,91 mg MA/Kg amostra durante 14 dias de armazenamento, enquanto que a carne bovina controle não apresentou nenhuma oxidação logo após o tratamento térmico e 1,308 mg MA/Kg amostra no 20º dia de armazenamento sob refrigeração. Desta forma a susceptibilidade a oxidação lipídica apresentada pelas amostras de carne de frango e bovina no presente experimento está de acordo com dados obtidos na literatura. Rhee, Anderson e Sams (1996) verificaram que a estabilidade oxidativa decresce na seguinte ordem: carne bovina>suína>frango. Segundo McGuire (2012) usualmente a carne de peru apresenta maior grau de oxidação lipídica, seguida da carne de frango, logo após a carne suína e por último a bovina com menor suscetibilidade a oxidação lipídica.

Quanto a atividade antimicrobiana do extrato hidroetanólico de caqui Rama Forte e de suas frações, foi verificado que os mesmos não apresentaram atividade

sobre os microrganismos aeróbios mesófilos na carne bovina, logo após o tratamento térmico (Dia 0) e durante o período de armazenamento a 5 °C, concordando com os resultados obtidos *in vitro*, no teste de difusão em placas, onde não demonstraram atividade antimicrobiana sobre os microrganismos submetidos ao teste. Nas amostras de hambúrguer o extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte, a fração residual e de acetato de etila também não demonstraram nenhuma atividade antimicrobiana.

Em experimento conduzido por Schirmer e Langsrud (2010) onde investigaram o efeito inibitório de antimicrobianos naturais (timol, cinamaldeído, isotiocianato de alila, ácido cítrico, ácido ascórbico, extrato de alecrim e do extrato de semente de uva) sobre o crescimento de bactérias deteriorantes típicas de carne suína marinada, também verificaram que os mesmos não proporcionaram efeito antimicrobiano sobre o crescimento microbiano total nas amostras da carne suína embalada a vácuo e estocadas a 4 °C. Carpenter et al. (2007) verificaram que o extrato de semente de uva e de uva ursina não apresentaram efeito antimicrobiano, sobre os microrganismos mesófilos, em carne suína crua e cozida. Fernández-Lopez et al. (2005) ao estudarem o efeito antioxidante e antibacteriano de extrato de alecrim, laranja e limão em almondegas de carne bovina cozida verificaram que o extrato de alecrim apresentou atividade contra bactérias ácido lácticas e *Brochothrix thermosphacta* em teste de difusão em ágar, mas não contra *Listeria*, já no produto somente as bactérias ácido lácticas foram ligeiramente reduzidas e os autores recomendaram medidas adicionais para controlar os microrganismos. Já Ahn, Grün e Mustapha (2007) verificaram durante período de armazenamento a 4°C, em carne bovina moída cozida adicionada de 1% de extrato de semente de uva ou de 1% de extrato de casca de pinheiro, que os mesmos apresentaram atividade antimicrobiana, uma vez que reduziram o número de colônias de *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, e retardaram o crescimento de *Listeria monocytogenes* e *Aeromonas hydrophila*.

Entretanto, segundo Schirmer e Langsrud (2010) as comparações dos diferentes estudos com antimicrobianos são extremamente difíceis devido ao tipo e a qualidade do produto alimentar, microbiota bacteriana e condições experimentais que podem influenciar o efeito dos antimicrobianos.

Nas amostras de salame pronto, após o período de fermentação e maturação no 28º dia, em ambas as concentrações utilizadas (0,5% e 0,7%), o extrato de caqui cv. Rama Forte não promoveu diferença significativa nas contagens de bactérias lácticas, *Staphylococcus coagulase negativa* e de coliformes, quando comparadas

com as contagens do produto controle, vindo ao encontro dos resultados obtidos nas amostras de carne bovina tratada térmicamente e no hambúrguer congelado, onde não se observou atividade antimicrobiana.

Os microrganismos que estão envolvidos principalmente na etapa de fermentação do salame incluem espécies de bactérias ácido lácticas, Gram-positivas, cocos catalase positiva, bolores e leveduras (LEROY; VERLUYENT; VUYST, 2006). No presente estudo, observou-se um aumento gradual na contagem total de bactéria lácticas nos primeiros dias de fabricação em todas as amostras de salame cuja contagem inicial variou entre 5,88 a 6,43 Log UFC·g⁻¹ e apresentou-se sem diferença significativa entre os tratamentos alcançando um valor máximo próximo a 8 Log UFC·g⁻¹, no 5º dia do período de fabricação do salame, que posteriormente diminuiu atingindo valor próximo a 7,7 Log UFC·g⁻¹ no 28º dia. Este aumento durante os primeiros dias poderia ser devido ao ambiente favorável com alta umidade relativa (95-83% UR) e temperatura (25-21 °C) até o 5º dia que posteriormente diminuiu até alcançar 75% UR e 18 °C no 8º dia tornando o ambiente menos favorável até o final da maturação do salame. Estes resultados estão de acordo com o observado por Salem e Ibrahim (2010) onde também verificaram um aumento inicial na contagem de bactérias ácido lácticas com posterior decréscimo durante o período de maturação do salame de carne de búfalo.

A contagem de *Staphylococcus* coagulase negativa apresentou-se sem diferença significativa em todas as amostras de salame ao longo do período de fabricação do salame e foi progressivamente reduzida em todas as amostras atingindo valor próximo a 4,7 Log UFC·g⁻¹ no 28º dia de processamento do salame. A contagem de coliformes a 35 °C também foi diminuindo nas amostras de salame, ao longo do período de fabricação, atingindo contagens próximas a 1 Log UFC·g⁻¹ no 28º dia em todas as amostras, entretanto ocorreu um decréscimo mais rápido nesta contagem nas amostras de salame tratadas com os extratos do que nas amostras controle, onde a contagem de coliformes totais se apresentou com valores significativamente superiores no 7º dia de fabricação do salame, este fato coincidiu com menores valores de pH nas amostras tratadas no dia zero. Segundo Jay (2005) um pH adverso torna as células muito mais sensíveis a uma grande variedade de agentes tóxicos. Possivelmente a diferença de pH entre amostras tratadas e controle contribuiu para uma diminuição mais rápida na contagem de coliformes a 35 °C nas amostras tratadas.

Ocorreu uma diminuição nos valores de pH das amostras de salame, no início do período de fermentação, sendo que os valores que estavam entre 5,73 a 5,93 no dia da elaboração do salame decresceram para valores entre 4,97 e 5,03 no 5º dia, o que provavelmente contribuiu juntamente com outros fatores para a redução das contagens microbianas. Segundo Lücke (1994) esta diminuição acentuada de pH é importante devido à inibição das bactérias indesejáveis, a taxa de conversão de cor, a formação de sabor e aroma desejado, em embutido fermentado seco.

A atividade de água diminuiu em todas as amostras de salame, durante o processamento, atingindo valores sem diferença significativa entre os tratamentos no 28º dia com valores de 0,85 a 0,86. Esta redução pode ser atribuída ao decréscimo nos valores de pH, pois a capacidade de retenção de água das proteínas da carne é diminuída quando o pH se aproxima do seu ponto isoelétrico, acelerando a desidratação e conseqüentemente reduzindo a atividade de água (CHASCO; LIZASO; BERIAIN, 1996). A adição do extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte (0,5 e 0,7%) também não interferiu significativamente na perda de peso das amostras de salame que apresentaram valores próximos a faixa de 30 a 40%, considerada ideal para produtos fermentados secos (RUST, 1994).

Na elaboração do salame além da concentração de 0,5% utilizou-se 0,7% de extrato hidroetanólico de caqui Rama Forte na tentativa de obter uma concentração do extrato que apresentasse atividade antioxidante suficiente para evitar a elevação dos valores de TBARS do salame, pois quando na carne de frango a inibição da oxidação lipídica do extrato hidroetanólico de caqui cv. Rama Forte a 0,5% foi de 91,46%, que pode ser considerada uma boa atividade antioxidante, segundo Costa et al. (2010), mas na carne bovina na concentração de 0,5% apresentou atividade antioxidante intermediária (COSTA et al., 2010), com valor de 60,21% de inibição da oxidação lipídica. Provavelmente essa diferença de atividade antioxidante se deva as diferenças que os dois tipos de carnes apresentam em relação ao nível de gordura, ácidos graxos insaturados e conteúdo de ferro, o que está associado com cada espécie animal (TANG et al., 2001).

Quando se compara os valores de TBARS das amostras de salame controle com os obtidos pelas amostras adicionadas do extrato hidro etanólico de caqui cv. Rama Forte observa-se que o extrato em ambas as concentrações utilizadas retardou a oxidação lipídica durante o período de fabricação e de armazenamento do salame. Mas as amostras de salame adicionadas de 0,7% de extrato hidro

etanólico de caqui cv. Rama Forte apresentaram menores valores de TBARS do que os obtidos pelas amostras adicionadas de 0,5% de extrato de caqui, sendo que seus valores de TBARS mantiveram-se próximos aos obtidos pelas amostras tratadas com extrato de alecrim (antioxidante comercial, controle positivo), na maioria dos dias analisados e após o 45º dia de armazenamento apresentaram-se sem diferença significativa. As amostras de salame controle apresentaram os mais altos valores de TBARS conforme foi constatado por outros pesquisadores ao empregarem outros extratos naturais em produtos cárneos fermentados (NASSU et al., 2003; BOZKURT, 2006a; CAMPAGNOL, 2007; CIRIANO et al., 2009).

Diferentemente dos resultados obtidos na carne bovina tratada termicamente, onde a adição do extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte e das frações residual e de acetato de etila promoveram inibição da oxidação lipídica, mantendo as amostras tratadas com valores de TBARS inferiores aos obtidos pelas amostras controle (sem antioxidante), nas amostras de hambúrguer congeladas se observou valores de TBARS iguais ou superiores aos obtidos pelas amostras controle, no final do período avaliado.

Foram utilizadas diferentes condições tanto para o preparo, quanto no armazenamento do hambúrguer e das amostras de carne bovina. Desta forma, com base nos resultados obtidos podemos presumir que o extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte e as frações residual e de acetato de etila permaneceram estáveis durante o tratamento térmico ($75\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 30 minutos) em presença de 1,5% de cloreto de sódio e que apresentam atividade antioxidante em temperatura de refrigeração ($5\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante o período de armazenamento das amostras de carne bovina. Já nas condições de armazenamento do hambúrguer sob congelamento ($-25\text{ }^{\circ}\text{C}$) verificou-se que estes extratos, quando utilizados nas concentrações de 0,5 e 0,7% não foram eficientes em controlar a oxidação lipídica. Este resultado vem ao encontro dos dados obtidos por Hoffmann et al. (2003) que observaram que extratos brutos (aquoso e hidroetanólico) de caqui da cv. Taubaté apresentaram ação antioxidante nas concentrações de 0,5% e 1,0% em carne mecanicamente separada de frango (CMS) durante armazenamento a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$, entretanto quando armazenadas a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ as médias dos valores de TBARS, das amostras de CMS, incorporadas dos extratos, não apresentaram diferença significativa do controle.

Desta forma, se supõe que o efeito protetor do extrato hidroetanólico bruto de caqui cv. Rama Forte e das frações residual e de acetato de etila contra a oxidação

lipídica é dependente da temperatura de armazenamento das amostras. Segundo ORDÓÑEZ et al. (2005) a temperatura influi de modo considerável no processo de auto-oxidação e afeta a ação dos antioxidantes.

Já o extrato oleoso de alecrim (controle positivo) apresentou atividade antioxidante tanto nas amostras de carne bovina tratadas térmicamente, armazenadas sob refrigeração, como no salame armazenado em temperatura ambiente e no hambúrguer congelado. Este fato é justificável, pois conforme mencionou Araujo (2008) os vários antioxidantes possuem substancial diferença em sua eficiência quando utilizados em vários tipos de óleos ou alimentos e diferentes condições de processamento e manuseio, devido a diferenças em suas estruturas moleculares.

O extrato hidroetanólico de caqui Rama Forte não promoveu alteração significativa nas características sensoriais de cor, aroma, sabor e textura das amostras de salame assim como o observado na carne de frango e no hambúrguer. Bañón et al. (2007) observaram que a adição de extratos de chá verde e de semente de uva não produziu alterações significativas de sabor, odor ou textura em hambúrguer bovino cozido com baixo teor de sulfito. Em experimento conduzido por Ciriano et al. (2009) foi constatado que a modificação da formulação de salame pela adição de antioxidante natural de *Melissa officinalis* L. não afetou as características sensoriais do produto que apresentou aparência geral, odor e sabor similar ao produto controle. Os resultados de estudo conduzido por Bozkurt (2006a) em lingüiça desidratada fermentada (“sucuk”) indicou que a adição de extrato de chá verde e de óleo de *Thymbra spicata* reduziu de forma significativa a formação de TBARS, além disso o pH, cor e qualidade sensorial em geral não foram afetados pela adição desses antioxidantes. Já Bozkurt (2006b) verificou que a adição de extrato de *Rhus coriaria* L. (“sumac”) aumentou a qualidade sensorial de lingüiça desidratada fermentada (“sucuk”) melhorando sua aceitabilidade. Da mesma forma, Hoffmann (2003) verificou que extrato aquoso de caqui, a 1% na carne mecanicamente separada de frango que foi incorporada a 30% em lingüiça mostrou-se um realçador de sabor.

A medida da cor também foi realizada nas amostras de carne de frango, na carne bovina, no hambúrguer e no salame para avaliar o efeito dos extratos naturais adicionados sobre os parâmetros L*, a* e b*, pois segundo Hayes et al. (2010) a cor é um dos principais atributos de qualidade, constituindo-se na primeira impressão que

o consumidor tem de um determinado produto, podendo influenciar na decisão de compra. Na análise de cor pelo sistema Cielab (L^* , a^* , b^*), o valor de L^* mede a luminosidade ou a percentagem de refletância, variando de 0 (preto) até 100 (branco). O valor a^* mede a variação entre a cor vermelha ($+a^*$) e a verde ($-a^*$) e o valor b^* mede a variação entre a cor amarela ($+b^*$) e o azul ($-b^*$) (PEREIRA, 2009). Os valores de h^* (tonalidade cromática), que são funções dos valores de a^* e b^* , permitem estimar o real escurecimento da carne, e normalmente o processo de descoloração das carnes é acompanhado por aumento nos valores de h^* ao longo do tempo (LEE et al., 2005).

No dia zero, logo após a aplicação dos tratamentos, observou-se que a carne de frango apresentou maior alteração na coloração, apresentando valores que diferiram significativamente do controle, enquanto que a carne bovina não sofreu modificação significativa pela adição dos extratos, na maioria dos tratamentos. Tal fato provavelmente esteja relacionado a coloração mais escura própria da carne bovina que sofreu menor alteração pela adição dos extratos e frações em teste. Provavelmente as diferenças entre os valores dos parâmetros de cor das amostras de carne de frango controle e dos tratamentos, incorporados dos extratos hidroetanólicos de caqui cv. Rama Forte e Quioto, no dia zero seja devido à presença dos pigmentos presentes nos extratos.

Outros experimentos também têm verificado que extratos interferem na coloração de amostras cárneas. Carpenter et al. (2007) verificou que a adição de extrato de semente de uva e de extrato de uva ursina em carne suína crua e cozida aumentou o valor de “a” ou seja aumentou a cor vermelha da carne que foi proporcional ao aumento da concentração de extrato nas amostras. O extrato de pó de casca de romã reduziu de forma significativa os valores de L^* em hambúrgueres de frango cozido (NAVEENA et al., 2008).

Ocorreu uma tendência em aumentarem os valores de L^* e diminuírem os valores de a^* durante o período de armazenamento das amostras de carne bovina, isto é, as amostras tornaram-se mais claras com menor luminosidade e menos vermelhas. Segundo Ramos e Gomide (2007) nos processos de cozimento e, ou, estocagem no frio ocorre a descoloração da carne em virtude da degradação/oxidação dos componentes da mioglobina e oximioglobina originando a espécie química metamioglobina, que apresenta coloração marrom (TERRA, 2005). Teoricamente a diminuição do valor de a^* significa que a carne tornou-se menos

vermelha, o que poderia ter ocorrido devido a possível diminuição do teor de mioglobina, que apresenta coloração vermelho-purpura e de oximioglobina, que apresenta cor vermelho-brilhante resultando em aumento da metamioglobina (marrom).

Assim como observado no experimento com a carne bovina, Fernández-Lopez et al. (2005) também verificaram aumento dos valores de L^* e diminuição dos valores de a^* com tempo de armazenamento de almôndegas de carne bovina cozida. Segundo relatado por Fernández-Lopez et al. (2005) este aumento de L^* e diminuição de a^* pode estar relacionado ao aumento da formação da metamioglobina. Phillips et al. (2001) também relataram uma diminuição dos valores de a^* em carne moída cozida durante o período de armazenagem.

Nas amostras de hambúrguer bovino congeladas também ocorreu tendência de diminuição da cor vermelha (valores de a^*) ao longo do período de armazenamento. Observou-se que os valores de h^* apresentaram tendência de aumentar em todas as amostras de hambúrguer bovino congeladas, durante o período de armazenamento, caracterizando descoloração das amostras.

A fração acetato de etila e o extrato oleoso de alecrim mantiveram as amostras de hambúrguer congeladas com maiores valores de a^* que as demais amostras ao longo do período de armazenamento, indicando que a adição da fração acetato de etila e do extrato de alecrim contribuíram na retenção e estabilidade da cor vermelha das amostras de hambúrguer de carne bovina durante o período de armazenamento do produto congelado.

Han e Rhee (2005) também observaram diminuição dos valores de a^* durante o período de armazenamento de 6 dias a 4 °C de reestruturados carne bovina e em contraste com os resultados obtidos no presente estudo verificaram que o extrato de alecrim não apresentou efeito estabilizador sobre os valores de a^* . Georgantelis et al. (2007a) verificaram que o extrato de alecrim teve um fraco efeito na retenção de cor vermelha de hambúrguer bovino em comparação com o uso do α -tocoferol durante 180 dias de armazenamento a -18 °C, embora apresentou maior eficiência quando em combinação com a quitosana e α -tocoferol. Em contraste, Sebranek et al. (2005) demonstraram uma melhor retenção de cor vermelha em lingüiças de porco crua pelo extrato comercial de alecrim em comparação com BHA/BHT após 84 dias de armazenamento a -20 °C. Já Shan et al. (2009) observaram que os valores de a^* das amostras de carne suína tratadas com extratos de especiarias e ervas

(canela, orégano, cravo, semente de uva, casca de romã) armazenadas por 9 dias a 20 °C diminuíram levemente, em comparação com mudanças significativas nas amostras controle.

Na carne de frango o extrato hidroetanólico de caqui Rama Forte promoveu diminuição dos valores dos parâmetros L^* , a^* e b^* logo após a aplicação (dia zero). Nas amostras de salame tratadas com os extratos os valores de a^* apresentaram-se significativamente inferiores aos valores apresentados pelas amostras controle logo após a elaboração do salame, entretanto durante o período de fabricação do salame as diferenças foram tornando-se menores e no salame pronto os valores de a^* apresentaram-se sem diferença significativa entre as diferentes amostras.

Observou-se diminuição dos valores dos parâmetros L^* e b^* nas amostras controle e em todos os tratamentos no decorrer do período de fabricação do salame. A diminuição dos valores de L^* durante o período de fabricação do salame é um fato esperado considerando que a diminuição da L^* indica uma cor mais escura no salame devido à reação de escurecimento e dessecação (BOZKURT, 2006b). Segundo Matos et al. (1997) a diminuição nos valores de L^* durante o período de fermentação/maturação e estocagem do salame deve-se a diminuição nos teores de umidade, reduzindo a reflexão da luz sobre sua superfície, conferindo menor luminosidade e brilho às peças.

A diminuição dos valores de b vem ao encontro de resultados obtidos por outros pesquisadores que também observaram diminuição da coloração amarela (b^*) de salames ao longo do período de fabricação (PEREZ-ALVAREZ et al., 1999; CAMPAGNOL, 2007). Segundo relatado por Bozkurt (2006b) durante os primeiros dias de maturação, os compostos nitrogenados presentes na carne interagem com a mioglobina produzindo o pigmento desejável nitrosomioglobina, que tem cor vermelha tendendo a aumentar os valores de a^* e b^* . Após este período, poderá ocorrer a desnaturação da nitrosomioglobina decrescendo os valores a^* e b^* . Perez-alvarez et al. (1999) explicaram a diminuição dos valores de b pelo consumo de oxigênio por microrganismos e, portanto, uma diminuição da oximioglobina, que contribui com uma cor amarela.

Após a conclusão do processamento do salame (28º dias), observou-se que o extrato hidroetanólico de caqui Rama Forte em ambas as concentrações utilizadas (0,5% e 0,7%) não interferiu nos parâmetros de cor L^* , a^* e b^* . Bozkurt (2006a) também verificou que os valores de L , a e b de lingüiça desidratada fermentada

(sucuk), após o período de fermentação e maturação, não foram significativamente afetados pelos antioxidantes naturais extrato de chá verde e óleo de *Thymbra spicata*. Campagnol (2007) também verificou que a adição de extrato de marcela em salame tipo italiano não modificou significativamente os parâmetros de cor L*, a* e b* no produto pronto. Já Nassu et al. (2003) verificaram que formulações de embutidos cárneos fermentados de carne de caprinos contendo extrato de alecrim 0,05% apresentaram as melhores características em relação à estabilidade oxidativa, com os menores valores iniciais de TBARS, maior soma de aceitação sensorial global, maiores valores de cor vermelha e menor pontuação para o aroma e sabor oxidado, quando comparado com o amostra contendo 0,025% de extrato de alecrim e com o controle.

6 CONCLUSÃO

Considerando as condições utilizadas e os resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que:

- Na carne de frango tratada termicamente o extrato hidro etanólico de caqui cv. Rama Forte apresentou elevado potencial antioxidante em comparação ao extrato hidro etanólico de caqui cv. Quioto, promovendo inibição da oxidação lipídica comparável ao extrato hidroetanólico de erva mate, apesar de ter apresentado menor teor de compostos fenólicos totais que o extrato de erva mate. Os extratos hidroetanólicos de caqui das cultivares Rama Forte e Quioto não interferiram nos requisitos sensoriais (cor, aroma, sabor e textura), da carne de frango tratada termicamente, enquanto que o extrato hidroetanólico de erva mate além de prejudicar as características sensoriais (cor e sabor) também provocou maior alteração na cor das amostras, medida instrumentalmente.

- O extrato hidroetanólico bruto de caqui (*Diospyros kaki* L.) cv. Rama Forte e a fração residual foram mais eficientes na eliminação dos radicais DPPH e apresentaram maior teor de compostos fenólicos totais que as demais frações em teste, mas não apresentaram atividade antimicrobiana *in vitro* no teste de difusão em disco, assim como as frações hexânica, clorofórmica e de acetato de etila.

- Nas amostras de carne bovina tratadas termicamente o extrato hidroetanólico bruto, a fração residual e a fração acetato de etila apresentaram maior atividade antioxidante que a fração hexânica e a clorofórmica, durante o período de armazenamento, proporcionando maior inibição da oxidação lipídica, entretanto na concentração utilizada (0,5%) apresentaram menor potencial antioxidante que o extrato oleoso de alecrim (0,1% sobre o teor de gordura) e não promoveram inibição significativa dos microrganismos aeróbios mesófilos.

- O extrato hidroetanólico de caqui cv. Rama Forte retardou a oxidação lipídica durante o período de processamento e de armazenamento do salame, sendo que na concentração de 0,7% apresentou atividade antioxidante superior, comparável a do extrato oleoso de alecrim (antioxidante comercial), utilizado como controle positivo. Além disso, não alterou a cor, as características sensoriais e as

contagens microbianas realizadas logo após a conclusão do processamento do salame.

- No hambúrguer de carne bovina congelado o extrato hidroetanólico bruto de caqui da cultivar Rama Forte e as frações residual e de acetato de etila, quando utilizados nas concentrações de 0,5 e 0,7%, não apresentaram atividade antioxidante e antimicrobiana, e não interferiram nas características sensoriais das amostras, enquanto que a fração acetato de etila (0,5 e 0,7%) contribuiu na retenção e estabilidade da cor vermelha das amostras de hambúrguer de carne bovina durante o período de armazenamento do produto congelado.

Assim, com base nos resultados obtidos no presente estudo pode-se presumir que o caqui da cultivar Rama Forte se apresenta como uma fonte alternativa vegetal com potencial antioxidante a ser aproveitado pela indústria cárnea, mas que carece estudos mais aprofundados principalmente no que se refere a atividade antioxidante de seus extratos em produtos congelados, uma vez que o efeito antioxidante não se confirmou nas amostras de hambúrguer congeladas.

7. REFERÊNCIAS

- ADEGOKE, G. O.; KUMAR, M. V.; KRISHNA, A. G. G.; VARADARAJ, M. C.; SAMBAIAH, K.; LOKESH, B. R. Antioxidants and lipid oxidation in foods – a critical appraisal. **Journal of Food Science and Technology**, v. 35, n. 4, p. 283-298, 1998.
- AHN, H. S.; JEON, T. I.; LEE, J. Y.; HWANG, G. S.; LIM, Y.; PARK, Y. S. Antioxidative activity of persimmon and grape seed extract: *in vitro* and *in vivo*. **Nutrition Research**, v. 22, p.1265-1273, 2002.
- AHN, J., GRÜN, I. U., FERNANDO, L. N. Antioxidant properties of natural plant extracts containing polyphenolic compounds in cooked ground beef. **Journal of Food Science**, v.67, p.1364-1369, 2002.
- AHN, J.; GRÜN; MUSTAPHA, A. Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef. **Food Microbiology**, v. 24, p. 7-14, 2007.
- ALMEIDA, P. L.; NAGHETINI, C. C.; NUNAN, 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.
- ALONSO, M. G.; PASCUAL-TERESA, C.; BUELGA, S. C.; RIVAS-GONZALO, C. Evaluation of the antioxidant properties of fruits. **Food Chemistry**, v. 84, p.13-18, 2004.
- AMAROWICZ, R. Natural antioxidants as a subject of research. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 111, p.1053–1055, 2009.
- ARAUJO, M. A. J. **Química dos alimentos: teoria e prática**. 4. ed. Viçosa: UFV, 2008. 596p.
- ASOLINI, F. C.; TEDESCO, A. M.; CARPES, S. T. Atividade antioxidante e antimicrobiana dos compostos fenólicos dos extratos de plantas usadas como chás. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 9, n.3, p.209-215, 2006.
- BAÑÓN, S.; DÍAZ, P.; RODRIGUEZ, M.; GARRIDO, M. D.; PRICE, A. Ascorbate, green tea and grape seed extracts increase the shelf life of low sulphite beef patties. **Meat Science**, v.77, p.626-633, 2007.
- BERSET, C.; CUVELIER, M. E. Methods of estimating the degree of lipid oxidation and of measuring antioxidizing power. **Sciences des Aliments**, v.16, p.219-245,1996.
- BENZAQUEN, T. Dossiê antioxidantes: os antioxidantes. **Food Ingredientes Brasil**, n.6, p.16-30, 2009.
- BOZKURT, H. Utilization of natural antioxidants: Green tea extract and *Thymbra spicata* oil in Turkish dry-fermented sausage. **Meat Science**, v. 73, n.3, p.442-450, 2006a.

_____ Investigation of the effect of sumac extract and BHT addition on the quality of sucuk (Turkish dry-fermented sausage). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.86, p.849-856, 2006b.

BROOKMAN, P. Antioxidants and consumer acceptance. **Food Technology in New Zealand**, v. 26, n.10, p. 24-28, 1991.

CAMPAGNOL, P. C. B. **Cultura starter produzida em meio de cultura de plasma suíno e antioxidante natural na elaboração do salame**. Santa Maria, 2007. 74f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

CAMPO, J. D.; AMIOT, M. J.; NGUYEN, C. Antimicrobial effect of rosemary extracts. **Journal of Food Protection**, v. 63, n.10, p.1359-1368, 2000.

CAMPOS, R. M. L.; HIERRO, E.; ORDÓÑEZ, J. A.; BERTOL, T. M.; TERRA, N. N.; HOZ, L. Fatty acid and volatile compounds from salami manufactured with yerba mate (*Ilex paraguariensis*) extract and pork back fat and meat from pigs fed on diets with partial replacement of maize with rice bran. **Food Chemistry**, v.103, p.1159-1167, 2007.

CARPENTER, R.; O'GRADY, M. N.; CALLAGHAN, O. Y. C.; O'BRIEN, N. M.; KERRY, J. P. Evaluation of the antioxidant potential of grape seed and bearberry extracts in raw and cooked pork. **Meat Science**, v.76, p.604-610, 2007.

CECHINEL, F. V.; YUNES, R. A. Estratégias para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. **Química Nova**, v.21, n.1, p.99-105, 1998.

CHAN, K. M.; DECKER, E. A. Endogenous skeletal muscle antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.34, p.403-426, 1994.

CHASCO, J.; LIZASO, G.; BERIAIN, M. J. Cured colour development during sausage processing. **Meat Science**, v.44, n.3, p.203-211, 1996.

CHEN, C. C.; PEARSON, A. M.; GRAY, J. I.; FOOLADI, M. H.; KU, P. Some factors influencing the nonheme iron content of meat and its implications in oxidation. **Journal of Food Science**, v.49, p.581-584, 1984.

CHEN, X. N.; FAN, J. F.; YUE, X.; WU, X. R.; LI, L. T. Radical scavenging activity and phenolic compounds in persimmon (*Dyospiros kaki* L. cv. Mopan). **Journal of Food Science**, v.73, p.24-28, 2008.

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

CIRIANO, M. S.; GARCÍA-HERREROS, C.; VALENCIA, E. L. I.; ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I. Use of natural antioxidants from lyophilized water extracts of *Borago officinalis* in dry fermented sausages enriched in ω -3 PUFA. **Meat Science**, v. 83, p.271-277, 2009.

COSTA, M. L.; MOURA, N. F.; MARANGONI, C.; MENDES, C. E.; TEIXEIRA, A. O. Atividade antioxidante de pimentas do gênero *Capsicum*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, supl.1, p.51-59, 2010.

DALVI, L. T. **Mecanismos de ação de antioxidantes de origem vegetal: estudo do polifenol ácido elágico e do extrato de caqui (*Diospyros kaki*)**. 2008. 129f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana), Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

DECKER, E. A. Strategies for manipulating the prooxidative/antioxidative balance of food to maximize oxidative stability. **Trends in Food Science and Technology**, v.9, p.241-248, 1998.

DEJONG, S.; LANARI, M. C. Extracts of olive polyphenols improve lipid stability in cooked beef and pork: Contribution of individual phenolics to the antioxidant activity of the extract. **Food Chemistry**, v.116, p.892-897, 2009.

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

ECONOMOU, K. D.; OREOPOULOU, V.; THOMOPOULOS, C. D. Antioxidant Activity of some plant of the family Labiatae. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.68, n.2, p.109-113, 1991.

FARBOOD, M. I.; MACNEIL, J. H.; OSTOVAR, K. Effects of rosemary spice extractive on growth of microorganism in meats. **Journal Milk Food Technology**, v.39, p.675-679, 1976.

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

FILIP, R.; LOTITO, S. B.; FERRARO, G.; FRAGA, C. G. Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. **Nutrition Research**, v.20, n.10, p.1437-1446, 2000.

FILIP, R.; LOPEZ, P.; GIBERTI, G.; COUSSIO, J.; & FERRARO, G. Phenolic Compounds in seven South American *Ilex* species. **Fitoterapia**, v.72, p. 774-778, 2001.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Editora Artmed. 2002. 424p.

FRANKEL, E. N.; HUANG, S. W.; KANNER, J.; GERMAN, J. B. Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: Bulk oils versus emulsions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, p.1054-1059, 1994.

FU, L.; XU, T. B.; XU, X. R.; GAN, R. Y.; ZHANG, Y.; XIA, E. Q.; LI, H. B. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. **Food chemistry**, v.129, p.345–350, 2011.

FURTADO, A. S.; CAMPAGNOL, P. C. B.; MILANI, L. I. G.; TERRA, N. N.; FRIES, L. L. M. Atividade antioxidante do extrato de *Achyrocline satureioides* (marcela) em lingüica. In: XIV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2004, Recife, **Anais...** Recife: CBCTA, 2004a, 1 CD-ROM.

FURTADO, A. S.; DE NES, F.; MILANI, L.I.G.; FRIES, L.L.M.; TERRA, N.N. Atividade antimicrobiana do extrato de *Achyrocline satureioides* (Marcela) em lingüiça. In: XIV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2004, Recife. **Anais...** Recife: CBCTA, 2004b. 1 CD-ROM.

GARCIA, A. M.; PASCUAL, T. S.; SANTOS, B. C.; RIVAS, G. J. Evaluation of the antioxidant properties of fruits. **Food Chemistry**, v.84, p.13-18, 2004.

GEORGANTELIS, D.; BLEKAS, G.; KATIKOU, P.; AMBROSIADIS, I.; FLETOURIS, D. J. Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on lipid oxidation and colour stability during frozen storage of beef burgers. **Meat Science**, v.75, p.256-264, 2007a.

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, p.172-181, 2007b.

GIORDANI, E.; DOUMETT, S.; NIN, S.; DEL BUBBA, M. Selected primary and secondary metabolites in fresh persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.): A review of analytical methods and current knowledge of fruit composition and health benefits. **Food Research International**, v.44, n.7, p.1752-1767, 2011.

GIROLOMETTO, G.; AVANCINI, C. A. M.; CARVALHO, H. H. C.; WIEST, J. M. Atividade antibacteriana de extratos de erva mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.). **Revista Brasileira de Plantas Médicas**, v.11, n.1, p.49-55, 2009.

GORINSTEIN, S.; ZACHWIEJA, Z.; FOLTA, M.; BARTON, J. P.; PIOTROWICZ, M. Z.; ZEMSER, M.; WISZ, M., TRAKHTENBERG, S.; BELLOSO, O. M. Comparative Contents of dietary fiber, total phenolics, and minerals in Persimmons and apples. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.49, p.952-957, 2001.

GORINSTEIN, S.; ZEMSER, M.; HARUENKIT, R.; CHUTHAKORN, R.; GRAUER, F.; BELLOSO, O. M.; TRAKHTENBERG, S. Comparative content of total polyphenols and dietary fiber in tropical fruits and persimmon. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.10, p.367-371, 1999.

GORINSTEIN, S.; ZEMSER, M.; WEISZ, M.; HALEVY, S.; DEUTSCH, J.; TILIS, K.; FEINTCH, D.; GUERRA, N.; FISHMAN, M.; BARTNIKOWSKA, E. Fluorometric analysis of phenolics in persimmons. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v.58, p.1087-1092, 1994.

GU, H. F.; LI, C. M.; XU, Y. J.; HU, F. W.; CHEN, M. H.; WAN, Q. H. Structural features and antioxidant activity of tannin from persimmon pulp. **Food Research International**, v.41, p.208-217, 2008.

GUGLIUCCI, A. Antioxidant effects of *Ilex paraguariensis*: Induction of decreased oxidability of human LDL *in vivo*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.224, p.338-344, 1996.

GUGLIUCCI, A; STAHL, A. J. C. Low density lipoprotein oxidation is inhibited by extracts of *Ilex paraguariensis*. **Biochemistry and Molecular Biology International**, v.35, n.1, 47-56, 1995.

HAGERMAN, A. E.; RIEDEL, K. M.; JONES, A. G.; SOVIK, K. N.; RITCHARD, N.T. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, p.1887-1892, 1998.

HAN, J.; KANG, S.; CHOUE, R.; KIM, H. LEEM, K.; CHUNG, S.; KIM, C.; CHUNG, J. Free radical scavenging effects of *Diopyros kaki*, *Laminaria japonica* and *Undaria pinnatifida*. **Fitoterapia**, v.73, p.710-712, 2002.

HAN, J.; RHEE, K. S. Antioxidant properties of selected Oriental non-culinary/nutraceutical herb extracts as evaluated in raw and cooked meat. **Meat Science**, v.70, p.25-33, 2005.

HAMILTON, R. J.; KALU, C.; PRISK, E.; PADLEY, F. B.; PIERCE, H. Chemistry of free radicals in lipids. **Food Chemistry**, v.60, n.2, p.193-199, 1997.

HAYES, J. E.; STEPANYAN, V.; ALLEN, P.; O'GRADY, M. N.; KERRY, J. P. Effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on the quality and shelf-life stability of packaged raw minced beef patties. **Meat Science**, v.84, p.613-620, 2010.

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

HOFFMANN, R. S. H. **Antioxidante natural na proteção da carne mecanicamente separada (CMS) de frango**. 2003. 135 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2003.

HOFFMANN, R. S. H; DELLA LIBERA, R.; MILANI, L. I. G.; QUADROS, C. P.; FURTADO, A. S.; TERRA, N. N. Antioxidante natural na proteção da carne mecanicamente separada de frango. In: 5º SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 2003, Campinas. **Anais...**, Campinas: Microservice, 2003. 1 CD-ROM.

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

JAY J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6. ed., Porto Alegre: Artmed, 2005, 711p.

JADHAVI, S. J.; NIMBALKAR, S. S.; KULKAMI, A. D.; MADHAVI, D. L. In: D. L. MADHAVI, S. S.; DESHPANDE, D. K.; SALUNKHE. **Food Antioxidant: Technological, Toxicological, and Health Perspectives**, Marcel Dekker, New York, 1997, cap.2, p.5.

JOHNSTON, T. Notícias de la indústria: El extracto de uva puede conservar la carne, dice um estúdio. **Carnetec.com**, 12/03/2007. Disponível em: <<http://www.carnetec.com/MembersOnly/webNews>>. Acesso em: 02.nov.2009.

KAHKONEN, M. P.; HOPIA, A. I.; VUORELA, H. J.; RAUHA, J. P. PIHLAJA, K.; KUJALA, T. S.; HEINONEN, M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p.3954-3962, 1999.

KANATT, S. R.; CHANDER, R.; RADHAKRISHNA, P.; SHARNA, A. Potato peel extract a natural antioxidant for retarding lipid peroxidation in radiation processed lamb meat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.5, p.1499-1504, 2005.

KARPINSKA, M.; BOROWSKI, J.; OZIEWICZ, M. D. The use of natural antioxidants in ready-to-serve food. **Food Chemistry**, v.72, n.1, p.5-9, 2001.

KATSUBE, T.; TABATA, H.; OHTA, Y.; YAMASAKI, Y.; ANUURAD, E.; SHIWAKU, K.; YAMANE, Y. Screening for antioxidant activity in edible plant products: comparison of low-density lipoprotein oxidation assay, DPPH radical scavenging assay, and Folin-Ciocalteu assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.8, p.2391-2396, 2004.

KAWASE, M.; MOTOHASHI, N.; SATOH, K.; SAKAGAMI, H.; NAKASHIMA, H.; TANI, S.; SHIRATAKI, Y.; KURIHARA, T.; SPENGLER, G.; WOLFARD, K.; MOLNÁR, J. Biological activity of (*Diospyros kaki*) peel extracts. **Phytotherapy Research**, v.17, p.495-500, 2003.

KIM, Y. C.; CHUNG, S. K. Reactive oxygen radical species scavenging effects of Korean medicinal plant leaves. **Food Science and Biotechnology**, v.11, p. 407-411, 2002.

KING, A.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **Journal of the American Dietetic Association**, v.99, n.2, p. 213-218, 1999.

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

KRING, U.; BERGER, R. G. Antioxidant activity of some roasted foods. **Food Chemistry**, v.72, p.223-229, 2001.

KUBO, I. Antibacterial activity against *Streptococcus mutans* of mate tea flavor components. **Journal Agricultural Food Chemicals**, v.41, n.1, p.107-11, 1993.

LEE, S.; DECKER, E.A.; FAUSTMAN, C.; MANCINI, R.A. The effects of antioxidant combinations on color and lipid oxidation in n-3 oil fortified ground beef patties. **Meat Science**, v.70, n.4, p.683-689, 2005.

LEROY, F.; VERLUYENT, J.; VUYST, L. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. **International Journal of Food Microbiology** v.106, p.270-285, 2006.

LÜCKE, F. K. Fermented meat products. **Food Research International**, v.27, n.3, p.299-307, 1994.

McGUIRE, A. E. R. Manejando la oxidation de la grasa em productos carnicos cocidos. **Carnetec**, Disponível on line: <http://www.carnetec.com/Industry/TechnicalArticles/Details/28038>, Acesso em 23.09.2012.

MANCINI FILHO, J.; MANCINI, D. A. P. Prevenção de reações oxidativas: antioxidantes nos vegetais de consumo humano. **Funcionais & Nutracêuticos**, n.1, p.22-24, Disponível on line: <http://www.insumos.com.br/funcionais_e_nutraceuticos/materias/83.pdf>. Acesso em: 11.05.2011.

MAJHENIC, L.; SKERGET, M.; KNEZ, Z. Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. **Food Chemistry**, v.104, n.3, p.1258-1268, 2007.

MATOS, R. A.; RAMOS, E.M.; RAMOS, A.L.S.; GOMIDE, L.A.M. Efeito do tipo de fermentação na qualidade final de embutidos fermentados cozidos elaborados a base de carne ovina. **Boletim CEPPA**, v.25, n.2, p.225-234, 2007.

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

MILANI, L. I. G.; FRIES, L. L. M.; QUADROS, C. P, ROSA, C. S.; BIANCHIN, M.; WAGNER, R.; TERRA, N. N. Antioxidantes e antimicrobianos naturais para carne mecanicamente separada de frango. In: 4º SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 2001, Campinas. **Anais...** Campinas: Unicamp, 2001. p.122.

MILANI, L. I. G.; WAGNER, R.; QUADROS, C. P, ROSA, C. S.; BIANCHIN, M.; KUBOTA, E.; FRIES, L. L. M ; TERRA, N. N. Inibição natural da oxidação lipídica na carne mecanicamente separada de frango. In: XVIII CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2002, Porto Alegre, **Anais...** Porto Alegre: SBCTA, 2002, 1 CD-ROM.

MILANI, L. I. G.; TERRA, N. N.; FRIES, L. L. M.; REZER, A. A. S.; SILVA, L. S.; CAVALHEIRO, C. V. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de caqui (*Diospyros kaki*, L.) cv. Quioto. In: XII CONGRESSO ARGENTINO DE CIÊNCIA Y

TECNOLOGIA DE ALIMENTOS - CYTAL – AATA, 2009, Entre Rios -Argentina.
Anais... Facultad de Ciencias de la Alimentación, UNER, 2009. 1 CD INTERACTIVO

NASSU, R. T.; GONÇALVES, L. A. G.; DA SILVA, M. A. A. P.; BESERRA, F. J.
Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. **Meat Science**, v.63, n.1, p.43-49, 2003.

NAVEENA, B. M.; SEN, A. R.; KINGSLY, R. P.; SINGH, D. B.; KODIAH, N.
Antioxidant activity of pomegranate rind powder extract in cooked chicken patties.
International Journal of Food Science and Technology, v.43, p.1807-1812, 2008.

NAWAR, W. W. Lipids. In: FENNEMA, O.P. (Org.). **Food Chemistry**, 3. ed. New York: Marcel Dekker, p. 225-319, 1996.

NEGI, P. S.; JAYAPRAKASHA, G. K. Antioxidant and antimicrobial activities of *Punica granatum* peel extracts. **Journal of Food Science**, v.68, p.1473-1477, 2003.

ORDÓÑEZ, P. J. A.; RODRIGUEZ, M. I. C., ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. F.; PERALES, L. L.; CORTECERO, M. D. S. **Tecnología de alimentos: alimentos de origem animal**. Porto Alegre: Ed. Artmed, 2005. v.2. 279p.

PARK, Y. S.; JUNG, S. T.; KANG, S. G.; LICON, E. D.; AYALA, A. L. M.; TAPIA, M. S.; BELLOSO, O. M.; TRAKHTENBERG, S.; GORINSTEIN, S. Drying of persimmons (*Diospyros kaki* L.) and the following changes in the studied bioactive compounds and the total radical scavenging activities. **LWT - Food Science and Technology**, v.39, p.748-755, 2006.

PEREIRA, M. G. **Aplicação de antioxidantes naturais em carne mecanicamente separada (CMS) de ave**. 2009. 125 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

PEREZ-ALVAREZ, J. A.; SAYES-BARBARE, M. E.; FERNANDEZ-LOPEZ, J.; ARANDA-CATALA, V. Physicochemical characteristics of Spanish-type dry-cured sausage. **Food Research International**, v.32, n.9, p.599-607, 1999.

PHILLIPS, A. L.; MANCINI, R.; SUN, Q., LYNCH, M. P.; FAUSTMAN, C. Effect of erythorvic acid on cooked colour in ground beef. **Meat Science**, v.57, p.31-34, 2001.

POKORNÝ, J. Are natural antioxidant better – and safer – than synthetic antioxidants? **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.109, p. 629-642, 2007.

RODRIGUEZ DE SOTILLO, D. HADLEY, M., HOLM, E. T. Potato peel waste: stability and antioxidant activity of a freeze-dried extract. **Journal Food Science**, v.59, n.5, p.1031-1033, 1994.

RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da qualidade de carnes: fundamentos e metodologia**. Viçosa: Editora UFV, 2007. 599p.

RHEE, K.S.; ANDERSON, L.M.; SAMS, A.R. Lipid oxidation potential of beef, chicken and pork. **Journal of Food Science**, v.61, p.9-12, 1996.

RUST, R. E. Productos Embutidos. In: PRICE, J. F.; SCHWEIGERT, B. S. (Org.). **Ciencia de la carne y de productos carnicos**. 2. ed. Zaragoza: Acribia, 1994, p.415-440.

SALEM, F. M. A.; IBRAHIM, H. M. Dry fermented buffalo sausage with sage oil extract: Safety and quality. **Grasas y Aceites**, v.61, n.1, p.76-85, 2010.

SATO, K.; HEGARTY, G. R. Warmed over flavor in cooked meats. **Journal of Food Science**, v.36, p.1098-1102, 1971.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v.30, n.12, p.3875-3883, 1991.

SCHINELLA, G. R.; TROIANI, G.; DAVILA, V.; BUSCHIAZZO, P. M.; TOURNIER, H. A. Antioxidant effects of an aqueous extracts of *Ilex paraguariensis*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 269, v.2, p.357-360, 2000.

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

SERPEN, A.; GÖKMEN, V.; FOGLIANO, V. Total antioxidant capacities of raw and cooked meats. **Meat Science**, v. 90, p. 60–65, 2012.

SHAHIDI, F.; KE, P. J.; ZHAO, X.; YANG, Z.; WANASUNDARA, P. K. J. P. D. Antioxidant activity of Green and Black tea in meat model systems. 38th' **ICoMSTAT**, Clermont Ferrand France. p.599-602, 1992.

SHAHIDI, F. Antioxidants in food and food antioxidants. **Nahrung**, v.44, n.3, p.158-163, 2000.

SILVEIRA, C. S.; PESSANHA, C. M.; LOURENÇO, M. C. S.; NEVES JUNIOR, I.; MENEZES, F. S.; KAPLAN, M. A. C. Atividade antimicrobiana dos frutos de *Syagrus oleracea* e *Mauritia vinifera*. **Revista Brasileira de Farmacognosia - Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.15, n. 2, p.143-148, 2005.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. rev. – Porto Alegre/Florianópolis: Ed. UFSC/ Ed. da UFRGS, 2001. 833p.

SCHIRMER, B. C.; LANGSRUD, S. Evaluation of natural antimicrobials on typical meat spoilage bacteria *In Vitro* and in vacuum-packed pork meat. **Journal of Food Science**, v.75, n.2, p.98-102, 2010.

SHAN, B.; CAI, Y. Z.; BROOKS, J. D.; CORKE, H. Antibacterial and antioxidant effects of five spice and herb extracts as natural preservatives of raw pork. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.89, p.1879-1885, 2009.

SOUZA, M. A. A. **Casca da batata inglesa (*Solanum tuberosum*) na proteção antioxidante da carne de frango**. 2006. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

SUN, T.; HO, C. T. Antioxidant activities of buckwheat extracts. **Food Chemistry**, v.90, p. 743–9, 2005.

SUZUKI, T.; SOMEYA, S.; HU, F.; HU, F. TANOKURA, M. Comparative study of catechin compositions in five Japanese persimmons (*Diospyros kaki*). **Food Chemistry**, v.93, p.149-152, 2005.

TAKEMOTO, E. **Determinação simultânea de antioxidantes sintéticos em óleos vegetais, margarinas e gorduras hidrogenadas por cromatografia líquida de alta eficiência**. 2004. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2004.

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.; DE CARLI, E. M.; TELLES, M. M.; DREHMER, A. M. F.; QUADROS, C. P.; MALHEIROS, P. S.; WAGNER, R.; FRIES, L. L. M. Antioxidante natural na melhoria da qualidade do salame tipo italiano. In: 2º SIMPÓSIO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS - SIMPOCAL, 2002, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, UFSC, 2002. TERRA, N. N. – **Apontamentos de Tecnologia de Carnes**. São Leopoldo: Editora Unisinos. 2005. 216p.

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. **Revista Higiene Alimentar**, v.22, n.166, p.189-193, 2008.

TSALIKI, E.; LAGOURI, V.; DOXASTAKIS, G. Evaluation of the antioxidant activity of lupin seed flour and derivatives (*Lupinus albus* ssp. *Graecus*). **Food Chemistry**, v.65, p. 71-75, 1999.

VEBERIC, R.; JURHAR, J.; MIKULIC-PETKOVSEK, M.; STAMPAR, F.; SCHMITZER, V. Comparative study of primary and secondary metabolites in 11 cultivars of persimmon fruit (*Diospiros kaki* L.). **Food Chemistry**, v.119, p.477-483, 2010.

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

VOGEL, A. **Química analítica qualitativa**. 5. ed. São Paulo: Mestre Jou. 1981, 665 p.

WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R. L. Total antioxidant capacity of fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.44, p.701-705, 1996.

WIEST, J. M.; CARVALHO, H. H. C.; AVANCINI, C. A. M.; GONSALVES, A. R. Inibição e inativação *in vitro* de *Salmonella* spp. com extratos de plantas com indicativo etnográfico medicinal ou condimentar. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, p.119-127, 2009.

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

XI, Y.; SULLIVAN, G.A.; JACKSON, A.L.; ZHOU, G.H.; SEBRANEK, J.G. Effects of natural antimicrobials on inhibition of *Listeria monocytogenes* and on chemical, physical and sensory attributes of naturally-cured frankfurters. **Meat Science**, v.90, p.130–138, 2012.

XU, B. J.; CHANG, S. K. C. Sensory & Nutritive Qualities of Food: A Comparative Study on Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of Legumes as Affected by Extraction Solvents. **Journal of Food Science**, v.72, n.2, p.159-166, 2007.

ZHANG, W.; XIAO, S., SAMARAWEERA, H., LEE, E. J., AHN, D. U. Improving functional value of meat products. **Meat Science**, v.86, p.15-31, 2010.

ZHAO, B.; HALL, C. A. Composition and antioxidant activity of raisin extracts obtained from various solvents. **Food Chemistry**, v.108, p.511-518, 2008.