

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

**EXTRATOS NATURAIS DE SEMENTES DE MAMÃO
PAPAYA (*Carica papaya L.*) E MARCELA (*Achyrocline
satureioides*) E AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE
ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA EM LINGUIÇA DE
FRANGO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Natiéli Piovesan

**Santa Maria, RS, Brasil
2012**

**EXTRATOS NATURAIS DE SEMENTES DE MAMÃO
PAPAYA (*Carica papaya L.*) E MARCELA (*Achyrocline
satureioides*) E AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE
ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA EM LINGUIÇA DE
FRANGO**

Natiéli Piovesan

Dissertação apresentada ao 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 a obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

Orientadora: Prof^a. Leadir Lucy Martins Fries

**Santa Maria, RS, Brasil
2012**

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

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

**EXTRATOS NATURAIS DE SEMENTES DE MAMÃO PAPAYA (*Carica
papaya L.*) E MARCELA (*Achyrocline satureioides*) E AVALIAÇÃO
DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA EM
LINGUIÇA DE FRANGO**

elaborada por
Natiéli Piovesan

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

COMISSÃO EXAMINADORA:

Leadir Lucy Martins Fries, PhD.
(Presidente/Orientadora)

Rogério Manoel Lemes de Campos, Dr. (UNIVASF)

Ernesto Hashime Kubota, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 16 de fevereiro de 2012.

Dedico esta dissertação aos meus pais Amilton José Piovesan e Maria Elena Piovesan, por todo apoio e esforço que fizeram para que pudesse realizar meus estudos. Exemplos de vida, obrigada por todos ensinamentos transmitidos ao longo de minha vida!!! A quem devo tudo que sou dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me proteger, iluminar, guiar e dar esperança. Está sempre ao meu lado, compartilha comigo alegrias, me dá forças quando eu mais necessito e indicar o melhor caminho para seguir.

Aos meus pais Amilton e Maria Elena por todo amor, apoio, por tudo que me ensinaram e por proporcionarem sempre as melhores condições de estudo, me incentivando nas minhas conquistas. Amo vocês !!!!

Aos meus queridos irmãos Chaiana e Patrick por me incentivarem e torcerem para que tudo desse certo sempre, obrigado pelo companheirismo e pela paciência que sempre tiveram comigo.

Ao meu amor, Michel, obrigada por todo amor e incentivo. Obrigada por me encorajar e me apoiar nos momentos mais difíceis. Obrigada por fazer parte da minha vida!

A minha querida orientadora, Professora Leadir Lucy Martins Fries, que sempre demonstrou acreditar no meu potencial, agradeço pela orientação e por tudo que me ensinou até hoje. Obrigada pela sua dedicação, confiança, amizade e principalmente pelo bom convívio nestes anos de trabalho.

Ao Prof^o Nelcindo Terra, agradeço pelos ensinamentos transmitidos, pela atenção e colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof^o Ernesto Kubota e ao Prof^o Rogério Campos por aceitarem prontamente meu convite para fazer parte da banca examinadora e por compartilharem seus ensinamentos e conhecimentos.

Ao Prof^o Volmir Polli e ao Djanir do Colégio politécnico da UFSM, pelos conhecimentos repassados e por sempre me salvar na falta de ingredientes para a elaboração dos produtos cárneos.

A colega, companheira e amiga Vanessa Bordin Viera, que esteve comigo em todos os momentos da execução desse trabalho, não se cansou de testar e repetir técnicas além de transmitir todo seu conhecimento. Companheira de muitas madrugadas no laboratório, dias incansáveis de análises, sempre disposta e bem humorada. Vanessa obrigada pela amizade, confiança, e por ter aceitado ser minha “dupla inseparável” nesse período e nos próximos que virão!!!

"Um amigo é uma pessoa com a qual se pode pensar em voz alta."

A minha adorada colega Barbara Deon, pela amizade, apoio e incentivo. Que nossa amizade seja eterna.

Ao colega Carlos Cavalheiro, pela amizade nesses anos de laboratório, troca constante de conhecimentos e pela ajuda sempre que precisei.

A Liana Milani e Ana Paula Rezer por estarem sempre prontas a me ajudar. Por todos os incentivos, conversas e amizade!

Aos estagiários e bolsistas do Laboratório de Microbiologia dos Alimentos, em especial a Fernanda, Felipe, Gabrielle, agradeço a ajuda na realização deste trabalho e os momentos descontraídos que compartilhamos.

Aos funcionários do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, em especial ao Magé, Marialene, Moisés, Marta, Carlos, Lia e Aline. Agradeço pela colaboração na realização deste trabalho, e por tornar os dias no departamento mais agradáveis e divertidos.

Enfim, agradeço de coração aos meus amigos e colegas, que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigada!

RESUMO

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

EXTRATOS NATURAIS DE SEMENTES DE MAMÃO PAPAYA (*Carica papaya L.*) E MARCELA (*Achyrocline satureioides*) E AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA EM LINGUIÇA DE FRANGO

AUTORA: NATIÉLI PIOVESAN

ORIENTADORA: LEADIR LUCY MARTINS FRIES

CO-ORIENTADOR: NELCINDO NASCIMENTO TERRA

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 16 de fevereiro de 2012.

O presente estudo teve por objetivo desenvolver extratos naturais de sementes de mamão papaya (*Carica papaya L.*) e de marcela (*Achyrocline satureioides*) para aplicação em linguiça de frango, avaliando suas atividades antimicrobianas e antioxidantes. Primeiramente elaborou-se os extratos hidro-etanólicos e realizou-se a caracterização da composição de fenólicos e da atividade antioxidante *in vitro*. Após, os extratos de sementes de mamão e de marcela, nas concentrações de 0,5%, 1% e 1,5%, e 0,5% e 0,75%, respectivamente, foram aplicados em linguiça de frango. As análises realizadas nos embutidos foram: composição centesimal (umidade, proteínas, cinzas, gordura), pH, cor objetiva, oxidação lipídica, análises microbiológicas e sensorial. Os resultados obtidos nas análises *in vitro* dos extratos mostraram que o extrato de marcela apresenta maior quantidade de fenólicos totais e maior atividade antioxidante quando comparada ao extrato de sementes de mamão. A composição centesimal dos produtos estava de acordo com o exigido pela legislação brasileira. Não houve interferência da adição dos extratos sobre pH das linguiças de frango em relação ao controle. Em relação à cor, durante o período de armazenamento, os tratamentos T2, T3, T4 e T5 apresentaram valores superiores para o h^* em relação ao controle, indicando uma tendência de cor vermelha para amarelo. Aos 42 dias de armazenamento das linguiças de frango refrigeradas, as amostras T3 (1,5%ESM) e T5 (0,75%EM) apresentaram os menores valores de TBARS, sendo respectivamente 0,485 e 0,448 mg malonaldeído·Kg⁻¹ de amostra, representando uma inibição lipídica superior ao controle. Os valores obtidos para *Clostridium*, *Staphylococcus* coagulase positiva; *Samonella* e coliformes a 45 °C encontravam-se com valores inferiores aos limites estabelecidos pela legislação. Já a contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos foram inferiores a 10⁻⁶ UFC. g⁻¹ até os 21 dias de armazenamento, a 4 °C. Os valores médios das notas atribuídas para os atributos cor, odor, sabor, textura e aparência global não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos. O índice de aceitabilidade apresentou valores superiores a 70% para todos atributos avaliados, sendo considerado com boa repercussão. Portanto, conclui-se que a adição dos extratos de sementes de mamão (1,5%) e de marcela (0,75%), podem ser utilizadas na elaboração de linguiça de frango, pois apresentaram capacidades antioxidantes, podendo aumentar a vida de prateleira desse produto cárneo.

Palavras-Chave: antioxidante natural, linguiça, semente de mamão, marcela, oxidação.

ABSTRACT

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

PAPAYA SEEDS (*Carica papaya*L.) AND MARCELA (*Achyrocline satureioides*) NATURAL EXTRACTS AND THEIR ANTIOXIDANT AND ANTI-MICROBIAL CAPACITIES IN CHICKEN SAUSAGE

AUTHOR: NATIÉLI PIOVESAN
ADVISOR: LEADIR LUCY MARTINS FRIES
CO-ADVISOR: NELCINDO NASCIMENTO TERRA
Date and Defense place: Santa Maria, February 16th, 2012.

The present study aimed to develop natural extracts from papaya seed (*Carica papaya* L.) and marcela (*Achyrocline satureioides*) to be used in chicken sausage, evaluating their antioxidant and anti-microbial activities. Firstly, the hydroethanolic extracts were elaborated and the phenolic compounds characterization and *in vitro* antioxidant activity were accomplished. Then, the papaya seeds and marcela extracts, in 0,5%, 1%, 1,5% and 0,5 and 0,75% respectively were used in the chicken sausage. The analyses accomplished were: centesimal composition (humidity, protein, ash and fat), pH, objective color, lipid oxidation, microbiological and sensory analyses. The results obtained in the extracts' *in vitro* analyses showed that the marcela extract presents greater amount of total phenolic and higher antioxidant activity compared to the papaya seeds extract. The products' centesimal composition complied with the Brazilian law. There was no interference of the extracts addition on the pH of the chicken sausage in relation to the control ones. Regarding color, during the storage period the T2, T3, T4 and T5 treatments presented higher values for h* in relation to control, indicating a color tendency from red to yellow. At the 42 days of storage of the refrigerated chicken sausage, the samples T3 (1,5% ESM) and T5 (0,75%EM) presented the lowest TBARS values, being respectively 0,485 and 0,448 mg malonaldehyde Kg⁻¹ of sample, representing a lipid inhibition higher than control. The values obtained to *Clostridium*, *Staphylococcus* positive coagulase; *Salmonella* and coliforms at 45° were lower than the ones established by law. However the mesophylls aerobic and the psychotropic microorganisms were lower to 10⁻⁶ UFC. g⁻¹ up to 21 days of storage, at 4 °C. The mean values of the scores attributed to color, smell, texture and global appearance did not present significant difference (p<0, 05) among the treatments. The acceptability index presented values higher than 70% for all attributes which is considered good. Then, it is possible to conclude that the addition of papaya seeds (1,5%) and marcela (0,75%) extracts can be used in the chicken sausage manufacture since they have presented antioxidant capacity and may lengthen this meat product's shelf life.

Keywords: natural antioxidant, sausage, papaya seed, marcela, oxidation

LISTAS DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura fenólica dos antioxidantes sintéticos.....	21
Figura 2 –.Sementes de mamão papaya (<i>Carica papaya L.</i>).....	26
Figura 3 -. Inflorescências de marcela (<i>Achyrocline satureioides</i>).....	27
Figura 4 - Atividade antioxidante (porcentagem de neutralização do DPPH) dos extratos hidro-etanólicos de sementes de mamão e de marcela pelo método de capacidade de seqüestro do radical DPPH.....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Formulação de linguiça de frango.....	32
Tabela 2 – Conteúdo de compostos fenólicos totais nos extratos hidro-etanólicos de sementes de mamão (<i>Carica papaya</i> L.) e de marcela (<i>Achyrocline satureioides</i>).....	38
Tabela 3 – Composição centesimal das amostras de linguiça de frango controle e das adicionadas do extrato hidro-etanólico de sementes de mamão e de marcela.....	41
Tabela 4 – Valores médios de pH das amostras de linguiça de frango controle e das adicionadas do extrato hidro-etanólico de sementes de mamão e de marcela, durante o período de armazenamento a 4 °C (± 1 °C).....	42
Tabela 5 – Valores médios para a Luminosidade (L*), cor vermelha (a*) e cor amarela (b*) das amostras de linguiça de frango controle e das adicionadas do extrato hidro-etanólico de sementes de mamão e de marcela, durante o período de armazenamento a 4 °C (± 1 °C).....	44
Tabela 6 - Valores médios para a saturação (C*), ângulo de tonalidade (h*) e a diferença global (ΔE^*) das amostras de linguiça de frango controle e das adicionadas do extrato hidro-etanólico de sementes de mamão e de marcela, durante o período de armazenamento a 4 °C (± 1 °C).....	46
Tabela 7 – Valores médios de TBARS das amostras de linguiça de frango controle e das adicionadas do extrato hidro-etanólico de sementes de mamão e de marcela, durante o período de armazenamento a 4 °C (± 1 °C).....	48
Tabela 8 – Valores médios da contagem de coliformes a 35°C , <i>Staphylococcus</i> coagulase negativa, microrganismos mesófilos e psicrotróficos das amostras de linguiça de frango controle e das adicionadas do extrato hidro-etanólico de sementes de mamão e de marcela, durante o período de armazenamento a 4 °C (± 1 °C).....	51
Tabela 9 – Médias das notas relativas as características sensoriais (cor, odor, sabor, textura e aparência global) das amostras de linguiça de frango controle e das adicionadas de diferentes concentrações de extrato hidro-etanólico de sementes de mamão e de marcela, aos 7 dias de armazenamento a 4 °C (± 1 °C).....	52
Tabela 10 – Valores obtidos para o Índice de Aceitabilidade (%) das amostras de linguiça de frango controle e das adicionadas de diferentes concentrações de extrato hidro-etanólico de sementes de mamão e de marcela, aos 7 dias de armazenamento a 4 °C (± 1 °C).....	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a* - Variação entre a cor vermelha (+a*) e a verde (-a*)
ANOVA – Análise de variância
b* - Variação entre a cor amarela (+b*) e o azul (-b*)
BHA – Butil-hidroxi-anisol
BHI – Infusão Cérebro Coração
BHT – Butil hidróxi-tolueno
BREMIL – Indústria de Produtos Alimentícios
C* - Saturação
DPPH - 1,1-difenil-2-picrilhidrazil
EAG – Equivalente Ácido Gálico
EM – Extrato hidro-etanólico de marcela
ESM – Extrato hidro-etanólico de sementes de mamão
H* - Ângulo de tonalidade
IA – Índice de Aceitabilidade
IC₅₀ – Concentração Inibitória
Log – Logaritmo
L* - Luminosidade, variando de 0 (preto) até 100 (branco)
MDA – Malonaldeído
NMP – Número Mais Provável
pH – Potencial hidrogeniônico
PG – Propil Galato
TBA – Ácido 2-tiobarbitúrico
TBARS – Substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico
TBHQ – Tércio butilhidroxiquinona
THBP – Tri-hidroxi-butilfenona
UFC – Unidade Formadora de Colônias
VRBA – Ágar Cristal Violeta Vermelho Neutro Bille
ΔE – diferença global

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo geral	15
2.2 Objetivos específicos	15
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1 Linguíça frescal	16
3.2 Oxidação Lipídica	17
3.3 Antioxidantes	19
3.3.1 Antioxidantes Sintéticos	20
3.3.2 Antioxidantes Naturais	22
3.3.2.1 Extratos vegetais aplicados em alimentos	23
3.3.2.2 Sementes de Mamão	25
3.3.2.3 Marcela	27
4. MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1 Matéria-prima	29
4.2 Métodos	29
4.2.1 Elaboração do extrato de sementes de mamão papaya	29
4.2.2 Elaboração do extrato de marcela	30
4.2.3 Determinação do conteúdo de fenólicos totais	30
4.2.4 Atividade antioxidante <i>in vitro</i> dos extratos	31
4.2.5 Elaboração do produto cárneo	31
4.2.6 Composição Centesimal	33
4.2.7 Determinação do pH	33
4.2.8 Determinação da cor	33
4.2.9 Avaliação da oxidação lipídica	34
4.2.10 Análises microbiológicas	35
4.2.10.1 Contagem de Coliformes a 45°C	35
4.2.10.2 Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva e negativa	35
4.2.10.3 <i>Salmonella sp.</i>	35
4.2.10.4 <i>Clostridium</i> sulfito redutor	36
4.2.10.5 Microrganismos mesófilos	36
4.2.10.6 Microrganismos psicrotópicos	36
4.2.11 Análise sensorial	37
4.2.12 Análise Estatística	37
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1 Caracterização dos extratos hidro-etanólicos	38
5.1.1 Determinação do conteúdo de fenólicos totais	38
5.1.2 Atividade antioxidante <i>in vitro</i> dos extratos	39
5.2 Caracterização do produto cárneo	40

5.2.1 Composição centesimal	40
5.2.2 pH.....	42
5.2.3 Análise da cor.....	43
5.2.4 Oxidação Lipídica.....	47
5.2.5 Características microbiológicas do produto cárneo.....	50
5.2.6 Análise Sensorial.....	52
6 CONCLUSÕES	54
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

1 INTRODUÇÃO

A carne é um dos alimentos mais importantes na dieta humana, não apenas como fonte de proteína de alta qualidade, mas também de minerais e todas as vitaminas do complexo B. Neste sentido tem merecido especial atenção pelo seu valor nutritivo, e principalmente em relação à conservação de suas propriedades funcionais, a fim de garantir um produto final de boa qualidade para os consumidores e rentabilidade para a indústria cárnea (PADILHA, 2007).

Os produtos cárneos, devido ao teor de umidade, proteínas, gorduras e outros nutrientes, tornam-se susceptíveis a alterações físico-químicas e microbiológicas, causando não apenas perdas nutricionais, mas também gerando produtos que podem levar a formação de vários compostos indesejáveis e até mesmo prejudiciais à saúde humana. Dentre estas alterações, a oxidação lipídica e a oxidação da cor são as mais difíceis de serem controladas, pois são reações de ordem físico-química, que são potencializadas por ação microbiológica (ALMEIDA et al., 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; GRÜN; MUSTAPHA, 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 (VELASCO, 2005).

Os antioxidantes naturais apresentam-se como alternativa para prevenir a deterioração oxidativa dos alimentos, minimizando assim os danos que esses compostos oxidativos causariam nos seres humanos (MELO e GUERRA, 2002).

O uso de antioxidantes naturais como conservantes em produtos cárneos tem o objetivo de tornar estes alimentos mais seguros ao consumo humano, prolongar a vida útil, com a redução da atividade microbiana e de perdas através da inibição e retardamento do processo de oxidação. Frutas, vegetais, cereais e especiarias são produtos que 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).

Várias pesquisas têm avaliado o efeito de extratos vegetais contra alterações microbianas e oxidativas em produtos cárneos (MILANI et al., 2001; TERRA et al.,

2008). As sementes de mamão, resíduo da indústria de alimentos, podem ser transformadas em produtos de valor significativo, devido ao seu potencial nutritivo e a sua atividade antioxidante, apresentando-se como uma alternativa natural para ser aplicada em alimentos (MALACRIDA e JORGE, 2008). As propriedades funcionais como o alto conteúdo de flavonoides, propriedades antioxidantes, boa disponibilidade na flora brasileira e o baixo custo de obtenção, justificam o uso do extrato de marcela para utilização como antioxidante natural em produto cárneo.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Desenvolver extratos naturais de sementes de mamão papaya (*Carica papaya L.*) e de marcela (*Achyrocline satureioides*) para aplicação em linguiça de frango, avaliando suas atividades antimicrobianas e antioxidantes.

2.2 Objetivos específicos

- Elaborar extratos hidro-etanólicos de sementes de mamão papaya e marcela;
- Determinar o teor de fenólicos totais e a atividade antioxidante *in vitro* dos extratos hidro-etanólicos de sementes de mamão papaya e marcela.
- Aplicar diferentes concentrações dos extratos hidro-etanólicos em linguiça de frango.
- Caracterizar as linguiças de frango quanto a composição centesimal, pH e cor;
- Avaliar o efeito dos extratos na estabilidade lipídica e na qualidade microbiológica das linguiças de frango durante o armazenamento;
- Avaliar a interferência da aplicação dos extratos naturais adicionados em linguiça de frango quanto as características sensoriais e aceitabilidade pelos provadores.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Linguiça frescal

De acordo com a legislação entende-se por linguiça o produto cárneo industrializado, obtido de carnes de animais de açougue, adicionados ou não de tecidos adiposos, ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial, e submetido ao processo tecnológico adequado (BRASIL, 2000).

Entre os parâmetros que definem a qualidade de um produto cárneo, a formulação é um dos mais importantes. A elaboração de um produto cárneo inicia-se pela definição dos componentes, requer informações sobre as propriedades e a composição das matérias-primas cárneas incluídas no produto. Esta formulação deverá cumprir os requisitos da legislação, qualidade organoléptica e de estabilidade microbiológica, além de apresentar custo compatível à comercialização do produto (ALMEIDA, 2005). A linguiça frescal deve apresentar as seguintes características físico-químicas: 70% de umidade máxima, 30% de gordura máxima, e no mínimo, 12% de proteína, sendo proibida a adição de carne mecanicamente separada (CMS) (BRASIL, 2000).

O processamento das linguiças frescas é relativamente simples e, com a observação de certas regras, a produção desse tipo de produto pode ser muito lucrativa ao fabricante. As principais etapas envolvidas no processamento de linguiças são: recebimento da matéria-prima; preparo e formulação; moagem; misturas das carnes com condimentos e aditivos até completa homogeneização para desenvolvimento do sabor e início do processo de cura; embutimento (TERRA, 1998).

Devido ao alto teor de gordura, a natureza das matérias-primas e a falta de tratamento térmico, tal produto é propenso à deterioração, a oxidação lipídica e a contaminação microbiana (GEORGANTELIS et al., 2007). Uma higiene perfeita dos equipamentos, utensílios e de toda a área de processamento deve ser observada. A linguiça, mesmo mantida sob refrigeração, começa a apresentar certas modificações no quinto ou sexto dia, após o processamento. No entanto, sob condições

adequadas de processamento incluindo uso de aditivos permitidos e com boas praticas de fabricação, a vida útil pode ser prolongada sob refrigeração adequada (IBRAC, 1980; PRANDL et al., 1994).

3.2 Oxidação lipídica

Os lipídios desempenham um importante papel no que diz respeito à qualidade dos produtos alimentares, particularmente em relação às propriedades organolépticas que os tornam desejáveis (*flavor*, cor e textura). Além disso, conferem valor nutritivo aos alimentos, constituindo uma fonte de energia metabólica, de ácidos graxos essenciais (ácidos linoleico, linolênico e araquidônico) e de vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) (ST. ANGELO, 1996).

Ao lado da deterioração microbiológica, a oxidação lipídica é um dos principais processos que levam à perda de qualidade dos produtos cárneos. A oxidação é causada principalmente pela oxidação de ácidos graxos insaturados, tais como: oléico, linoléico e linolênico. Outro importante componente na oxidação de carne é o colesterol que como os outros derivados lipídicos, sofre oxidação catalisada pela ação da luz, ar, temperaturas elevadas, radicais livres ou uma combinação destes (TORRES 1988).

A oxidação lipídica é normalmente associada a carnes que são cozidas ou cujas membranas sofrem um processo de desintegração, como no caso da moagem. Os lipídios ligados às membranas são constituídos, na maioria das vezes, de fosfolipídios altamente insaturados, que são especialmente susceptíveis à oxidação lipídica (TORRES et al., 1998).

De acordo com Vieira (2003), os produtos industrializados elaborados com carne moída sofrem oxidação lipídica muito facilmente, pois aumenta a superfície de contato das gorduras com o oxigênio. Alguns pigmentos utilizados e a adição de sal em embutidos também catalisam a oxidação, que ocorre inclusive em condições de armazenamento congelado. A gordura de aves também sofre oxidação muito facilmente, sendo ainda mais pronunciado em produtos pré-cozidos ou pré-fritos. Como as gorduras animais "*in natura*" são normalmente desprovidas de antioxidantes naturais, a oxidação lipídica pode rapidamente degradá-las, causando sua rancidez.

Os fatores que mais influenciam na oxidação são a presença de íons metálicos no produto (no sal ou temperos), de calor ou luz, de enzimas, meio alcalino, moléculas com insaturações, disponibilidade de oxigênio para reagir.

Segundo Gardini (2001), a oxidação lipídica pode desencadear várias reações secundárias com a formação de radicais livres. Além da formação de compostos “off flavor”, outras reações podem afetar a segurança e a estabilidade do produto, resultando em perdas de nutrientes e promovendo mais reações oxidativas. Enquanto as reações deteriorativas (microbiológicas e enzimáticas) em alimentos podem ser inibidas com o emprego de baixas temperaturas, a oxidação lipídica ocorre normalmente a temperaturas de congelamento embora numa velocidade reduzida.

Segundo Vieira (2003), a rancidez oxidativa pode ocorrer pelo processo auto-oxidativo, este mecanismo leva à formação de compostos que podem ser desejáveis (cor, odor, sabor) ou indesejáveis (formação de compostos tóxicos, compostos cíclicos). A auto-oxidação pode ser dividida em três partes: iniciação, propagação e término.

Na fase de iniciação, estão envolvidas ações dos radicais livres e o mecanismo natural de defesa antioxidante, no organismo ainda vivo alteração na estrutura das membranas celulares. Suas características podem ser resumidamente descritas como o baixo consumo de oxigênio, aumentando lentamente e baixa concentração de peróxidos, não a alterações sensoriais e aumenta a concentração de radicais livres (BOBBIO e BOBBIO, 2001). Na fase de propagação ocorre a destruição oxidativa, sendo que no período imediatamente antes e pós-abate, ocorre uma série de eventos bioquímicos, tais como, falha do sistema antioxidante natural, diminuição do pH, ação enzimática, desnaturação protéica, liberação de ferro.

Na terceira fase, ou terminação, as características são: consumo de oxigênio tendendo a cair, diminuição dos peróxidos e forte alteração sensorial, podendo haver alterações da cor e viscosidade (BOBBIO e BOBBIO, 2001). E a fase mais crítica, por ocasião do processamento, manuseio, moagem, trituração, cozimento e estocagem, determinando o rompimento da membrana celular, potencializado pela adição de água, adição de sal, temperatura, liberação de ferro, presença de oxigênio, ação microbiológica (OLIVO, 2006).

Nos últimos anos, a preocupação constante de proporcionar aos consumidores produtos de alta qualidade levou à adoção de medidas que permitem

limitar o fenômeno de oxidação durante as fases de processamento e armazenagem dos produtos. Deste conjunto de ações, a adição de compostos antioxidantes é, sem dúvida, uma prática bastante eficiente, razão que justifica o atual interesse pela pesquisa de novos compostos com capacidade antioxidante. O baixo custo de obtenção, facilidade de emprego, eficácia, termo-resistência e ausência reconhecida de toxicidade, são premissas para a sua seleção e utilização a nível industrial (CASTERA-ROSSIGNOL, 1994).

3.3 Antioxidantes

O uso de antioxidantes nos alimentos teve início em meados de 1940, quando algumas substâncias naturais, provenientes da casca de árvore, utilizadas por tribos americanas e indianas, mostraram-se úteis na conservação de gorduras animais e vegetais. Posteriormente, descobriu-se que a efetividade destes compostos estava relacionada ao seu teor de constituintes fenólicos (COULTER, 1988).

A estabilidade oxidativa dos alimentos é dependente do equilíbrio entre a composição e concentração do substrato e a presença de pró-oxidantes (DECKER, 1997).

De acordo com Bailey (1996), o retardamento das reações oxidativas por certos compostos foi primeiramente registrada em 1797, e depois esclarecida em 1817. Até então, a rancificação de gorduras e alimentos permanecia desconhecida, então se demonstrou que o oxigênio atmosférico era o maior agente causador de oxidação do ácido graxo livre. Durante a I Guerra Mundial e pouco depois, Moureu e Dufraise testaram a atividade antioxidante de mais de 500 compostos.

A adição de antioxidantes em alimentos constitui prática mais comum para aumentar a estabilidade dos lipídios, segundo Decker (1997) estes, são definidos, como substâncias que, quando presentes em baixas concentrações em relação ao substrato oxidável, são capazes de preservar os alimentos através do retardo do desenvolvimento de sabores, odores desagradáveis e da descoloração ocasionados pela oxidação de ácidos graxos insaturados (ADEGOKE et al., 1998).

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

o período de armazenamento do produto alimentício, ser estável ao processo de aquecimento e ser facilmente incorporado ao alimento (MELO e GUERRA, 2002). Existe uma grande quantidade de compostos, tanto naturais quanto sintéticos, com propriedades antioxidantes, embora para seu uso em alimentos devam ser cumpridos certos requerimentos, sendo um deles a segurança para a saúde (NAWAR, 1996).

Hoje em dia há uma tendência geral no processamento de alimentos, de substituir os antioxidantes sintéticos, pelos inibidores da oxidação ou pelo uso preferencial de ingredientes que naturalmente possuem atividade antioxidante, pois estudos toxicológicos têm demonstrado a possibilidade de antioxidantes sintéticos apresentarem algum efeito tóxico e serem promotores de alguns tipos de câncer. Entre outros efeitos fisiológicos, estudos centralizam-se nos compostos fenólicos de origem vegetal, que agem como aceptores de radicais livres, interrompendo a reação em cadeia provocada por estes, além de atuarem também nos processos oxidativos catalisados por metais, dentre os compostos fenólicos com propriedade antioxidante, destacam-se os flavonóides que quimicamente, englobam as antocianinas e flavonóis (SHYMALA et al., 2005; SOARES, 2002; LIMA e SOUSA, 2002).

3.3.1 Antioxidantes Sintéticos

O butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxiquinona (TBHQ), trihidroxibutilfenona (THBP) e propil galato (PG) são os antioxidantes mais utilizados na indústria de alimentos (RAMALHO e JORGE, 2006).

A estrutura fenólica destes compostos (Figura 1) permite a doação de um próton a um radical livre, regenerando, assim, a molécula do acilglicerol e interrompendo o mecanismo de a oxidação por radicais livres. Estes radicais podem estabilizar-se sem promover ou propagar reações de oxidação (BUCK, 1981).

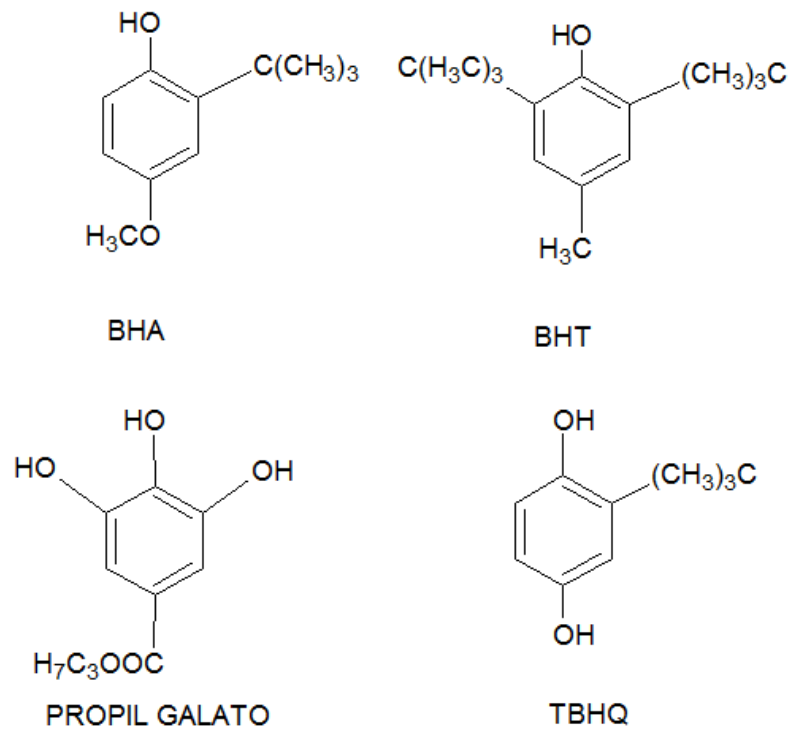


Figura 1- Estrutura fenólica dos antioxidantes sintéticos.

Fonte: Ramalho e Jorge (2006).

No Brasil, o uso de aditivos com função antioxidante em produtos cárneos é definido de acordo com o estabelecido na Portaria número 1004 de 11 de dezembro de 2008. Embora potentes antioxidantes como BHA e BHT sejam permitidos em produtos cárneos, em quantidades de 0,01 gramas de antioxidante para cada cem gramas de produto (GRÜN et al., 2006), os antioxidantes sintéticos requerem testes extensos e de custo elevado para comprovar a sua segurança para aplicação em alimentos (MARTINEZ-VALVERDE; PERIAGO; PROVAN, 2002).

Segundo Soares (2002), estudos toxicológicos têm demonstrado a possibilidade de antioxidantes sintéticos apresentarem algum efeito tóxico e serem promotores de alguns tipos de câncer entre outros efeitos fisiológicos. Devido a esse fato a busca por substitutos naturais para os antioxidantes sintéticos tem elevado o número de pesquisas envolvendo os alimentos de origem vegetal, que são potenciais fontes destas substâncias como ácido ascórbico, tocoferol, carotenóides e

uma ampla variedade de compostos fenólicos (MARTINEZ-VALVERDE; PERIAGO; PROVAN, 2002).

3.3.2 Antioxidantes Naturais

O uso de antioxidantes naturais para reduzir a oxidação não é um conceito novo e os estudos nessa área vêm desde meados de 1980 (RHEE et al., 1988). A partir do início dos anos 80, o interesse em encontrar antioxidantes naturais para o emprego em produtos alimentícios aumentou consideravelmente, com o intuito de substituir antioxidantes sintéticos, os quais têm sido restringidos devido ao seu potencial de carcinogênese, bem como pela comprovação de diversas outras patologias como: aumento do peso do fígado e significativa proliferação do retículo endoplasmático, com isso deram-se início à identificação e purificação de novos compostos com atividade antioxidante, provenientes de fontes naturais, que pudessem atuar sozinhos ou sinergicamente com outros aditivos, como alternativa para prevenir a deterioração oxidativa de alimentos e limitar o uso dos antioxidantes sintéticos (MELO e GUERRA, 2002; YILDIRIM, MAVI e KARA, 2000; ZHENG e WANG, 2001; POKORNÝ, 1991).

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

Os compostos antioxidantes naturais têm sido isolados de diferentes partes de plantas tais como sementes, frutas, folhas e raízes. Esses antioxidantes podem funcionar como agentes redutores, como inibidores de radicais livres, como quelantes ou sequestrantes do oxigênio singlete e como desativadores de metais pró-oxidantes (KÄHKÖNEN et al., 1999; RICE-EVANS et al., 1995; PRATT, 1992). As plantas têm excelentes propriedades antioxidantes e seus efeitos estão

principalmente atribuídos aos constituintes fenólicos. Além disso, estes compostos podem reter ou retardar o início da oxidação lipídica, influenciando tanto na decomposição de hidroperóxidos nos alimentos, como também, em tecidos animais (WETTASINGHE e SHAHIDI, 1999).

Atualmente, diversos estudos têm sido realizados visando verificar o potencial antioxidante dos ácidos fenólicos, com o objetivo de substituir os antioxidantes sintéticos, largamente utilizados na conservação de alimentos lipídicos por aumentarem a vida útil de muitos produtos cárneos, nota-se que a aplicação de antioxidantes naturais tem abrangido toda a cadeia de produção de carnes, não se restringindo apenas nos produtos finais. Uma diversidade de antioxidantes naturais tem sido estudada para tal fim (DURAN e PADILLA, 1993; PEREIRA, 2009).

A utilização dos antioxidantes naturais tem como vantagens a aceitação imediata do consumidor e sua utilização não é limitada pela legislação. Os antioxidantes naturais podem apresentar modos de ação que ainda não foram totalmente esclarecidos, geralmente eles atuam como aceptores de radicais livres, como quelantes ou seqüestradores do oxigênio singlete e como desativadores de metais pró-oxidantes (GHIRETTI et al., 1997).

A maior desvantagem da utilização destes produtos esta em seu alto custo quando o extrato é purificado, nas propriedades antioxidantes, que podem variar, no caso de compostos não purificados e devido a seu aroma forte e característico, podendo afetar a cor, inferir no sabor residual e causar “*of flavors*” no produto ao qual foi adicionado (POKORNY, 1991).

3.3.2.1 Extratos vegetais aplicados em alimentos

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

Extratos de chá verde são disponíveis comercialmente e podem ser utilizados para retardar a oxidação, prolongando o tempo de armazenamento dos produtos cárneos prontos como nuggets de frango, salsichas tipo Frankfurter, mortadela e outros (BENZAQUEN, 2009).

Nissen et al. (2000) estudaram a aplicação de extrato de alecrim (1000 ppm) em carne de pescoço de frango mecanicamente separada, mostrando que o produto resultante apresentou boa estabilidade em relação à oxidação lipídica durante o armazenamento.

Estudos dos efeitos antioxidantes e antimicrobianos dos extratos etanólicos e metanólicos de chá verde, chá preto e erva mate na CMS (carne mecanicamente separada) de frango, não apresentaram proteção antimicrobiana, no entanto todos demonstraram ação antioxidante quando comparados com as amostras sem tratamento (MILANI et al., 2001).

Hoffmann (2003) verificou que extrato aquoso de caqui, a 1% na carne mecanicamente separada de frango que foi incorporada em 30% ao produto cárneo fresco (linguiça) apresentou ligeira ação antioxidante, mas sem diferença significativa ($p < 0,05$) das amostras de referência (CMS adicionada de 0,1% de extrato de alecrim sobre o teor de gordura) e do controle (CMS sem extrato).

Furtado et al. (2004a), aplicaram os extratos hidro-etanólicos de marcela (*Achyrocline satureioides*) e de erva mate (*Ilex paraguariensis*) em linguiça, mantida a 5°C por 35 dias. Os extratos apresentaram ação protetora contra a rancificação da linguiça, sendo que o extrato 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 erva mate em linguiça mantidas a 5°C por 35 dias, e verificaram que os extratos de marcela a 0,5 e 1% apresentaram poder de inibição do crescimento microbiano nesse produto.

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

Pereira (2009) avaliou extratos naturais de erva mate, marcela, uma mistura de erva mate (50%) e marcela (50%), o chá verde e a própolis sem álcool em relação a sua atividade antioxidante e antimicrobiana na CMS (carne mecanicamente separada de frango). O extrato de marcela teve o melhor efeito na inibição 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.

Selani (2010) aplicou antioxidantes sintéticos e naturais em carne de frango processada no formato de mini-hambúrgueres, embalada à vácuo e armazenada sob congelamento por 9 meses, os extratos naturais de bagaço de uva mostraram efeito na inibição da oxidação lipídica da carne de frango, apresentando resultados compatíveis aos antioxidantes sintéticos utilizados.

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

3.3.2.2 Sementes de mamão

Durante o processamento de frutas para obtenção da polpa, são recolhidos materiais não aproveitados na produção industrial, os chamados resíduos, tais como as cascas, sementes, caroços e o bagaço. Para diminuir o impacto ambiental, é importante o aproveitamento alternativo destes materiais. Por exemplo, as frutas refugadas durante a seleção podem ser utilizadas na indústria de vinagres e aguardentes; cascas e miolos de abacaxi, na fabricação de bebidas fermentadas, álcool e vinagre, casca de maracujá, para elaboração de doces e massas e em calda. Outros resíduos que podem ser aproveitados são determinados caroços que

podem fornecer óleos vegetais não-voláteis utilizados na indústria de sabão, alimentícia e de cosméticos. Atualmente, nas agroindústrias de polpas de frutas, praticamente todos resíduos sólidos são conduzidos a uma área destinada para esse fim, onde sofrem uma fermentação natural e, posteriormente, são utilizados como adubo nas plantações de frutas (EMBRAPA, 2003).

Compostos antioxidantes estão presentes não somente na porção comestível dos frutos, mas também na semente, desta forma sua ação antioxidante pode motivar o aproveitamento destes resíduos como matérias-primas para a extração de antioxidantes naturais para uso em alimentos. Soong e Barlow (2004) encontraram maior teor de compostos fenólicos na amêndoa da semente de manga do que na polpa da fruta, sugerindo que estes compostos poderiam ser boas fontes de antioxidantes naturais para alimentos.

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é uma frutífera nativa da América Tropical e largamente distribuída em todas as áreas tropicais do mundo, onde é produzido, principalmente, para consumo do fruto *in natura* e na forma de sucos e doces. As sementes, que correspondem em média a 14% do peso do fruto (MARTIN et al., 1989), constituem geralmente material de descarte tanto na indústria de alimentos como no consumo doméstico, entretanto, poderiam ter uma finalidade mais útil ao homem e ao meio ambiente, podendo, inclusive, serem transformadas em produtos de valor econômico significativo.



Figura 2 - Sementes de mamão papaya (*Carica papaya* L.)

3.3.2.3 Marcela

A marcela (*Achyrocline satureioides*) é uma erva da flora brasileira, cresce espontaneamente em pastagens e beira de estradas, campos sujos, campos limpos e cerrado ralo. É conhecida popularmente como marcela, macela, marcela-do-campo, macelinha, carrapicho-de-agulha, camomila nacional e outros (LORENZI e MATOS, 2002).

É uma planta medicinal usada na Argentina, Uruguai, Paraguai e Brasil por suas propriedades medicinais de largo uso, cujas propriedades despertam interesse da indústria farmacêutica. Infusões de inflorescências de *Achyrocline satureioides* são utilizadas comumente na medicina popular brasileira como digestivo, anti-espasmódico, antiinflamatório, agente hiperglicêmico e como redutor dos níveis de colesterol sanguíneo (SIMOES *et al.*, 1988). Estudos da composição química demonstraram que o extrato etanólico das inflorescências da marcela tem como principais constituintes os flavonóides quercetina, 3-O-metilquercetina e luteolina. De forma similar, estudos fotoquímicos confirmaram a presença de ácido caféico, clorogênico e isoclorogênico (FERRARO, NORBEDO e COUSSIO, 1981; SIMÕES, 1988).



Figura 3 - Inflorescências de marcela (*Achyrocline satureioides*).

As propriedades bioquímicas dos polifenóis como flavonóides e ácido caféico têm atraído muitos pesquisadores da biologia e da medicina. Os flavonóides são descritos como seqüestradores do ânion superóxido, de hidroxilas, de radicais peróxi e como inibidores de enzimas chave na respiração mitocondrial, mas também são conhecidos como inibidores da oxidação de proteínas de baixa densidade. A quercetina é um dos principais flavonóides presentes na marcela e foi descrita como inibidora da peroxidação lipídica por capturar espécies reativas de oxigênio e quelar íons metálicos envolvidos na formação dessas espécies reativas de oxigênio (OHSHIMA *et al.*, 1998; DI CARLO *et al.*, 1999; YAMAMOTO *et al.*, 1999; HARBONE e WILLIAMS, 2000; ISHIGE, SCHUBERT e SAGARA, 2001).

A atividade antioxidante e antimicrobiana da marcela já foram demonstradas por diversos autores Desmarchelier *et al.* (1998) verificaram que tanto o extrato aquoso quanto o metanólico de marcela reduziram a produção de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico em homogeneizados de fígado de ratos. O uso de extrato hidro-etanólico de marcela a 1% em salame controlou a oxidação lipídica, mantendo o produto com baixos valores de TBARS, porém reduziu significativamente os valores de aceitação em prova sensorial (CAMPAGNOL, 2007).

Ao avaliar a estabilidade lipídica com a utilização de extrato de marcela (*Achyrocline satureioides*) aplicado em carne de pescado (*Micropogonias furnieri*) em embutido emulsionado com substituição da gordura por isolado protéico de resíduo de pescado, Palezi (2011) verificou que o extrato hidro-etanólico de marcela foi eficiente na inibição da oxidação lipídica do embutido emulsionado.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Matéria-prima

Para elaboração dos extratos foram utilizadas sementes de mamão papaya (*Carica papaya L.*) e inflorescência de marcela (*Achyrocline satureioides*). As sementes de mamão foram retiradas de frutos maduros adquiridos em estabelecimento comercial da cidade de Santa Maria (RS), e as inflorescências de marcela foram colhidas no mês de abril, na zona rural de Nova Palma (RS).

A matéria-prima e ingredientes utilizados para a elaboração do produto cárneo foram adquiridos no comércio da cidade de Santa Maria- RS.

4.2 Métodos

4.2.1 Elaboração do extrato de sementes de mamão papaya

Para o preparo do extrato hidro-etanólico as sementes de mamão papaya foram retiradas manualmente dos frutos maduros e lavadas com água destilada para remover os resíduos da polpa. Após, foram desidratadas em estufa com circulação de ar forçada a 45°C por 48 horas e posteriormente foram reduzidas a pó em moinho analítico refrigerado (4°C) (Quimis, modelo Q 298^a21, Brasil) com auxílio de banho ultratermostatizado (Solab, modelo SL-152/10).

O produto vegetal triturado foi homogeneizado em uma solução hidroetanólica (etanol 80%), na relação líquido-sólido de 5:1 (v/p), utilizando liquidificador, durante 3 minutos na velocidade média. Após a mistura foi transferida para um béquer, o qual permaneceu imerso em banho ultra-som (Thornton®, modelo T14) durante 25 minutos a temperatura ambiente (ZHAO e HALL, 2008). Transcorrido esse período a parte sólida foi submetida a mais duas extrações sucessivas. O filtrado das três extrações foi concentrado até 7% do seu volume inicial em rotaevaporador (Fisatom® 802) com vácuo de 760mg Hg e temperatura da água do banho a 44°C

($\pm 1^\circ\text{C}$). O extrato hidro-etanólico foi armazenado em frasco de vidro âmbar ao abrigo da luz e mantido sob refrigeração a 4°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) até o momento que foi utilizado.

4.2.2 Elaboração do extrato de marcela

O produto vegetal foi seco sob temperatura de 45°C por 40 minutos em estufa com circulação de ar forçada. Posteriormente as inflorescências da marcela foram homogeneizadas com solução hidro-etanólica e transferidas para um béquer, deixando durante 1 hora, a temperatura ambiente. Transcorrido este período, procedeu-se a filtração. A parte sólida foi submetida a mais duas extrações sucessivas, com o objetivo de extrair totalmente o princípio ativo da matéria prima. Os 3 filtrados foram recolhidos e concentrados até 7% do volume inicial em rotaevaporador (Fisatom® 802) com vácuo de 760mg Hg e temperatura da água do banho a 44°C ($\pm 1^\circ\text{C}$), obtendo-se assim o extrato bruto que foi mantido sob refrigeração a 4°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) em frasco de vidro, ao abrigo da luz. Na elaboração do extrato, a relação líquido-sólido foi de 12:1(v/p). Na primeira extração o solvente empregado foi etanol 80% e nas duas seguintes etanol 95% (CAMPAGNOL, 2007).

4.2.3 Determinação do conteúdo de fenólicos totais

Para a determinação de fenólicos totais utilizou-se o método de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton et al. (1999) com modificações. Em um balão volumétrico o extrato de semente de mamão e marcela foram diluídos em etanol 80% na proporção 1:50 (v/v) e 1:500 (v/v) respectivamente. Posteriormente uma alíquota (0,2 mL) da solução foi misturada a 1 mL de reagente de Folin-Ciocalteu 0,2 N (diluído 1:10). Posteriormente aguardou-se 6 minutos no escuro e adicionou-se 0,8 mL de solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 7,5%. Após a incubação a temperatura ambiente (25°C) por 2 horas, a absorbância foi medida a 765 nm em espectrofotômetro (SP- 220 marca Biospectro). Os resultados do teor de compostos fenólicos totais foram expressos em equivalentes de ácido gálico (mg AG/mL),

calculados por meio de uma curva de calibração $Y = 0,018x + 0,2518$, onde Y é a absorbância e x é a concentração; $R^2 = 0,9999$, construída com concentrações que variam de 0 a 50 mg/mL. As análises foram realizadas em triplicata e os valores são apresentados como a média (\pm desvio padrão).

4.2.4 Atividade antioxidante *in vitro* dos extratos

A metodologia utilizada foi descrita por Brand-Williams et al. (1995) com adaptações. Esta fundamenta-se na capacidade de sequestro do radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH). A técnica consistiu na incubação por 30 minutos, de 5 mL de uma solução etanólica (80%) de DPPH 0,1 mM com 5 mL de soluções contendo concentrações crescentes dos extratos hidroalcoólicos (0,01; 0,02; 0,07; 0,125; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10; 15 e 20 mg/mL).

A solução “controle” consistiu de DPPH 0,1 mM em etanol 80% e a solução “branco” de solvente etanol (80%). Após incubação foram realizadas as leituras das amostras em espectrofotômetro (SP- 220 marca Biospectro) em comprimento de onda de 517nm. A porcentagem de atividade antioxidante (AA%) foi calculada através do percentual de captação do radical DPPH, conforme a Equação 1:

$$AA\% = 100 - \left\{ \frac{(Abs. amostra - Abs. branco) \times 100}{Abs. controle} \right\} \quad \text{equação (1)}$$

Após a avaliação da faixa de concentração ideal, calculou-se a concentração necessária para capturar 50% do radical livre DPPH (IC_{50}) utilizando o programa GraphPad Prism 10.7.

4.2.5 Elaboração do produto cárneo

Para a elaboração do produto cárneo foi seguida as quantidades de ingredientes descritos pela Legislação (BRASIL, 2000) e foram utilizadas as recomendações descritas por Terra (1998), conforme Tabela 1.

A formulação utilizada para a elaboração das linguiças de frango está descrita na Tabela 1.

Tabela 1- Formulação de linguiça de frango

Matéria-prima	Quantidade (Kg)
Retalhos de frango	94
Pele de frango	6
Ingredientes	Quantidade (Kg)
Água/gelo	3
Sal	2,5
Cura rápida	0,25
Alho moído	0,1
Pimenta preta moída	0,1
Glutamato	0,05
Fixador de cor	0,25
Condimento para linguiça de frango	0,5*

*Quantidade recomendada pelo fornecedor – Bremil Ind. de produtos alimentícios LTDA.

A elaboração das linguiças de frango iniciou-se com a moagem da carne e pele de frango (Moedor Jamar PJ22, Jamar Ltda, São Paulo, Brasil), sendo levados à misturadeira (Jamar MJI 35) para a adição dos demais ingredientes até a formação da liga. Posteriormente à mistura, a massa cárnea foi dividida em seis lotes de 6 kg cada, que deram origem aos tratamentos. A adição de alíquotas pré-definidas dos extratos hidro-etanólicos foi adicionada manualmente, exceto para o tratamento controle que não recebeu a adição de extrato.

Os tratamentos foram os seguintes:

Controle – sem adição de extrato – (C)

Tratamento 1 – extrato de sementes de mamão a 0,5% - (0,5% ESM);

Tratamento 2 – extrato de sementes de mamão a 1,0% - (1% ESM);

Tratamento 3 – extrato de sementes de mamão a 1,5% - (1,5% ESM);

Tratamento 4 – extrato de marcela a 0,5% - (0,5% EM);

Tratamento 5 – extrato de marcela a 0,75% - (0,75% EM).

As massas cárneas foram embutidas em tripa suína previamente lavada para a remoção do sal e imersa em solução de ácido láctico 1%, por 30 minutos para hidratação. Para armazenamento as linguiças de frango foram acondicionadas em bandejas de poliestireno, embaladas com papel filme, identificadas e armazenadas em estufa D.B.O (ELETROLAB, Modelo EL 101) e conservadas à temperatura de 4°C.

4.2.6 Composição Centesimal

A composição centesimal foi realizada no 1º dia de armazenamento, as amostras foram trituradas em multiprocessador até formação de uma pasta homogênea. Foram realizadas análises de umidade, cinzas e proteínas segundo metodologia descrita pela *Association Of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2005). A gordura foi realizada segundo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), pelo método do butirômetro.

4.2.7 Determinação do pH

A medida do pH foi realizada nos 0, 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de armazenamento do produto sob refrigeração a 4°C. Para tanto, homogeneizou-se dez gramas de amostra com água destilada (1:10 amostra/água). O homogeneizado foi submetido aos eletrodos do pHmetro Digimed, por cinco minutos, quando foi procedida a leitura em triplicata (TERRA e BRUM 1988).

4.2.8 Determinação da cor

A determinação da cor foi realizada pelo aparelho Minolta Chroma Meter CR-300, (MINOLTA), nos 0; 7; 14, 21, 28, 35 e 42 dias de armazenamento mantidos sob

refrigeração a 4°C. Os resultados foram expressos como L^* (que representa a porcentagem de luminosidade), a^* (onde $-a^*$ representa direção ao verde e $+a^*$ direção ao vermelho), b^* (onde $-b^*$ representa direção ao azul e $+b^*$ direção ao amarelo), C^* (índice de saturação) e h^* (ângulo de tonalidade). Para cada tratamento, foi obtido o valor médio de cinco leituras em diferentes pontos de três porções (replicatas) (FONTES CAMPOS e GOMIDE, 2005). A diferença global (ΔE^*) foi obtida através da seguinte fórmula (HUNT et al., 1991):

$$\Delta E^* = [(L^* - L^{*ref})^2 + (a^* - a^{*ref})^2 + (b^* - b^{*ref})^2]^{1/2} \quad \text{equação (2)}$$

4.2.9 Avaliação da oxidação lipídica

A avaliação da oxidação lipídica nas amostras elaboradas foi conduzida no produto acabado pelo teste das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARs) segundo Raharjo et al. (1992), adaptado por Pereira (2009), onde pesou-se 10g de amostra previamente moída e homogeneizada em saqueta plástica. Adicionou-se 40 mL de ácido tricloroacético (TCA) 5% e 1 mL do antioxidante sintético butilhidroxitolueno (BHT) 0,15%. Homogeneizou-se por um minuto em Bag Mixer, filtrou-se com auxílio de papel filtro qualitativo para balão volumétrico de 50 mL sendo o volume completado com a solução de ácido tricloroacético 5%. Deste balão, retirou-se uma alíquota de 5 mL e transferiu-se para tubo de ensaio, onde foi adicionado 5 mL de ácido tiobarbitúrico 0,08M em ácido acético 50%. Os tubos foram incubados em banho-maria fervente por 40 minutos. A leitura foi realizada a 531 nm e os resultados comparados contra o branco. Os valores de TBARS foram determinados em triplicata para cada amostra após 0, 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de armazenamento sob temperatura de resfriamento 4°C e os resultados foram expressos em mg de malonaldeído por quilograma de amostra.

4.2.10 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas nos 0°, 7°, 14°, 21°, 28° e 35° dias de armazenamento do produto sob refrigeração a 4°C.

4.2.10.1 Contagem de Coliformes a 45°C

Para a contagem de coliformes a 45°C (coliformes fecais) foram repicadas colônias suspeitas em caldo EC (*Escherichia coli*), incubando-se a $45 \pm 0,2^\circ\text{C}$ pelo período de 48h, observando-se a produção de gás pelas colônias, através da presença de gás nos tubos de Durham (BRASIL, 2003).

4.2.10.2 Contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e negativa

Determinou-se *Staphylococcus* coagulase negativa e positiva de acordo com Brasil (2003), utilizando-se Agar Baird-Parker. As diluições foram semeadas em placas e incubadas invertidas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 30 a 48h. Foram realizadas as contagens de colônias típicas, de cor preta brilhante com anel branco opaco rodeado com halo claro transparente. Para confirmação do teste de coagulação do *Staphylococcus* coagulase positiva, três a cinco colônias típicas foram selecionadas e semeadas em caldo de infusão cérebro-coração (BHI), em plasma de coelho.

4.2.10.3 *Salmonella* sp

Apartir de 25 g da mostra realizou-se um pré-enriquecimento em caldo lactosado a 37°C durante 24h. Após, foi realizado um enriquecimento seletivo em caldo tetracionato verde brilhante e rappaports vassiliadis, levado a estufa por 24h a

42,5 °C. A partir destes, semeou-se uma alíquota em placas com agar SS (*Salmonella Shiguella*) e ágar Rambach, e foram incubados a 37°C por 24h, para confirmação final foi realizada a série bioquímica (BRASIL, 2003).

4.2.10.4 *Clostridium* sulfito redutor

Apartir de 25 g da mostra realizou-se a inoculação da amostra em meios de cultura seletivos. Após as placas foram incubadas em jarras de anaerobiose, os *Clostridium* formam colônias negras, devido à reação de redução de sulfito a sulfeto, que reage com citrato de amônio e ferro III, formando um precipitado negro (BRASIL, 2003).

4.2.10.5 Microrganismos mesófilos

Para a contagem dos microrganismos mesófilos, tomou-se 1 mL das diluições a serem analisadas, o qual foi depositado no fundo de placas de Petri estéreis. Em seguida, foram adicionados aproximadamente 15 mL de Agar padrão (PCA) fundido e resfriado a temperatura em torno de 45° C. Após a homogeneização e solidificação do ágar em temperatura ambiente, as placas foram incubadas a 35° C por 48h para contagem de microrganismos mesófilos (APHA, 2001).

4.2.10.6 Microrganismos psicotróficos

Para contagem dos microrganismos psicotróficos, foram adicionados cerca de 15 mL de ágar padrão fundido e resfriado à temperatura em torno de 45° C em placas de Petri. Após a solidificação do ágar em temperatura ambiente, foi adicionado e espalhado com o auxílio de uma alça de Drigalski, 0,1 mL de cada diluição. Em seguida as placas foram incubadas a 7° C por 7 dias (APHA, 2001).

4.2.11 Análise Sensorial

A análise sensorial seguiu a metodologia descrita por Dutcosky (2007). Foi aplicado um teste de aceitabilidade o qual se utilizou uma escala hedônica estruturada de 9 pontos (1 desgostei muitíssimo e 9 gostei muitíssimo) para avaliar a cor, odor, sabor, textura e aparência global.

Também foi determinado o Índice de Aceitabilidade do produto adotando a expressão: $IA(\%) = A \times 100/B$, onde A = nota média obtida para o produto, e B = nota máxima dada ao produto. O IA será considerado com boa repercussão quando $\geq 70\%$ (MONTEIRO, 1984).

Os testes foram realizados com 50 provadores, não treinados, entre alunos de graduação, pós-graduação, docentes e funcionários da Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, os quais foram instruídos a ler e assinar o termo de Consentimento Livre e Esclarecido declarando-se não alérgicos aos componentes das formulações, permitindo o uso da informação prestada para seu devido fim e também possuidores do direito de desistir de participar a qualquer momento do teste. Os provadores receberam, também, um copo de água e um biscoito tipo água e sal para serem utilizados entre as amostras.

A avaliação foi realizada em cabines individuais no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos do Centro de Ciências Rurais da UFSM, foi planejada de forma que cada um dos participantes provasse as 6 amostras servidas seqüencialmente em blocos completamente balanceados, com relação a ordem de apresentação.

4.2.12 Análise Estatística

Todas as determinações foram realizadas em triplicata, os dados foram avaliados através de análise de variância (ANOVA). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, considerando o nível de significância de 95% ($p < 0,05$), utilizando o pacote estatístico SPSS 17.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização dos extratos hidro-etanólicos

5.1.1 Determinação do conteúdo de fenólicos totais

Os resultados do conteúdo de fenólicos totais dos extratos hidro-etanólicos de semente de mamão e de marcela estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Conteúdo de compostos fenólicos totais nos extratos hidro-etanólicos de sementes de mamão (*Carica papaya L.*) e de marcela (*Achyrocline satureioides*).

Extrato hidro-etanólico	Fenólicos totais mg eq. Ácido gálico.g ⁻¹ extrato
Sementes de mamão	6,69±1,14*
Marcela	31,46±3,97

*Valores médios ± desvio padrão.

Os valores para os compostos fenólicos totais encontrados nos extratos de marcela foi de 31,46 mg eq ác. gálico.g⁻¹ extrato e para o extrato de semente de mamão 6,69 mg eq ác. gálico.g⁻¹ extrato, sendo que os resultados encontrados neste trabalho para o extrato de marcela estão de acordo com os encontrados por Pereira (2009) e Palezi (2011), onde para fenólicos totais foi encontrado 31,36 e 38,51 mg eq ác. gálico.g⁻¹ extrato respectivamente, quando estudado compostos fenólicos totais em extratos de marcela.

Já para o conteúdo de compostos fenólicos totais obtidos do extrato de sementes de mamão, esse é considerado elevado quando comparado com resíduos de outras frutas. Oliveira et al. (2009), utilizando extração com metanol, encontraram valores de 6,81mg GAE.g⁻¹ na polpa e casca de acerola, 2,75mg GAE.g⁻¹ nas

sementes, polpa e casca de abacaxi e $1,03 \text{ mg GAE}\cdot\text{g}^{-1}$ nas sementes e polpa e casca de maracujá. Soares et al. (2008) determinaram o extrato de bagaço de maçã, extraído com acetona nas concentrações de 75% e 100%, valores de $4,67 \text{ mg GAE}\cdot\text{g}^{-1}$ e $5,22 \text{ mg GAE}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente.

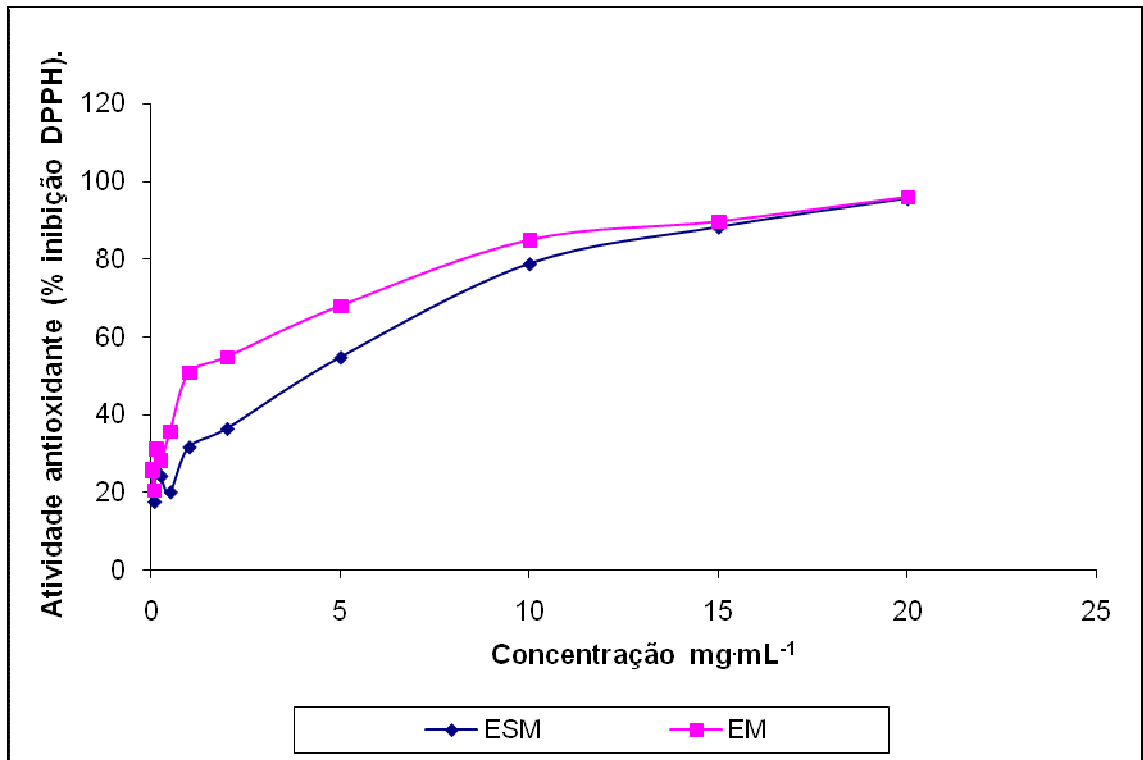
O fato de haver diferenças nas metodologias utilizadas para elaboração de extratos dificulta sobremaneira a comparação de resultados. Pesquisas apontam que uma série de fatores podem interferir no conteúdo de compostos fenólicos nos extratos, entre eles as condições de crescimento da planta, do solo, da preparação da planta para extração, do processo de extração e da metodologia utilizada para identificar o conteúdo destes compostos (MADESN e BERTELSE, 1995).

5.1.2 Atividade antioxidante *in vitro* dos extratos

A atividade antioxidante *in vitro* dos extratos de sementes de mamão e de marcela, em diferentes concentrações, estão apresentadas na Figura 4. Observa-se que o percentual antioxidante aumentou com o aumento da concentração dos extratos hidro-etanólicos de sementes de mamão e de marcela até atingir a atividade antioxidante próxima de 100% (Figura 4).

De acordo com a definição de Sousa et al. (2007), quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será seu IC_{50} e conseqüentemente maior a sua atividade antioxidante. Portanto, os resultados obtidos para a atividade antioxidante *in vitro*, utilizando-se o método do DPPH, mostraram que o extrato de marcela foi o que apresentou atividade antioxidante superior, apresentando um menor valor de IC_{50} ($0,426 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), enquanto que o extrato de sementes de mamão foi encontrado um IC_{50} com valor de $4,29 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$.

Ao analisar extratos de marcela extraídos com a mesma metodologia utilizada nesse estudo, Palezi (2011) encontrou valor inferior para IC_{50} ($0,1382 \text{ mg mL}^{-1}$) e Pereira (2009), encontrou valor superior ($5,26 \text{ mg mL}^{-1}$), considerando que quanto menor é o valor de IC_{50} , maior é a capacidade antioxidante do material analisado. Cabe salientar que diferentes autores têm apresentado valores de IC_{50} de antioxidantes naturais com grandes diferenças, dificultando a comparação dos resultados.



** ESM (extrato de semente de mamão) e EM (extrato marcela)

Figura 4 – Atividade antioxidante (porcentagem de neutralização do DPPH) dos extratos hidro-etanólicos de sementes de mamão e de marcela pelo método de capacidade de seqüestro do radical DPPH.

5.2 Caracterização do produto cárneo

5.2.1 Composição centesimal

Os resultados da composição centesimal das linguças de frango adicionadas de extratos de sementes de mamão e de marcela podem ser visualizados na Tabela 3.

Os valores obtidos nas análises da composição centesimal dos tratamentos (Tabela 3) estão de acordo com os valores estabelecidos pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Linguça Frescal (BRASIL, 2000), que estabelece o valor máximo de umidade 70%, o valor mínimo de proteína 12%, e o valor máximo

de gordura 30%. A legislação para linguiças frescas não define padrão para as cinzas, porém neste trabalho foram encontrados valores entre 3,41 a 3,69%.

Tabela 3 - Composição centesimal das amostras de linguiça de frango controle e das adicionadas do extrato hidro-etanólico de sementes de mamão e de marcela.

TRATAMENTOS	UMIDADE g(%)	PROTEINA g(%)	CINZAS g(%)	GORDURA g(%)
Controle	60,79±0,311 ^{a*}	17,47±0,363 ^{ab}	3,62±0,040 ^{ab}	15,97±1,187 ^a
T1 (0,5% ESM ^{**})	60,88±1,070 ^a	17,39±0,308 ^{ab}	3,57±0,055 ^{bc}	15,02±0,232 ^a
T2 (1% ESM)	61,13±0,911 ^a	17,89±0,015 ^a	3,69±0,025 ^a	14,69±0,471 ^a
T3 (1,5% ESM)	62,01±0,361 ^a	17,70±0,025 ^a	3,43±0,068 ^d	16,32±1,413 ^a
T4 (0,5% EM)	61,39±0,627 ^a	16,98±0,180 ^b	3,41±0,015 ^d	15,11±0,464 ^a
T5 (0,75% EM)	61,55±0,280 ^a	17,11±0,123 ^b	3,46±0,020 ^{cd}	15,79±0,035 ^a

*Valores médios ± desvio padrão, com letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

** ESM (extrato de semente de mamão), EM (extrato marcela).

Em relação à umidade e gordura, este estudo não encontrou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos. Possivelmente os valores aproximados devem-se a elaboração do produto que partiu de uma mistura homogênea com quantidades iguais de matéria-prima e ingredientes.

Para o teor de proteínas, observa-se que os tratamentos T2 (1% ESM) e T3 (1,5% ESM) possuem os maiores valores e apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação aos tratamentos T4 (0,5% EM) e T5 (0,75% EM). Segundo Jorge e Malacrida (2008), as sementes de mamão apresentaram elevadas porcentagens de lipídios, proteínas e fibras, o que pode ter influenciado neste resultado.

5.2.2 pH

O pH da linguiça frescal de frango é uma variável que depende de vários fatores, dentre os quais o estado de conservação da linguiça bem como de suas condições microbiológicas (QUEIROZ, 2006). Os resultados obtidos para o pH estão apresentados na tabela 4.

Tabela 4 - Valores médios de pH das amostras de linguiça de frango controle e das adicionadas do extrato hidro-etanólico de sementes de mamão e de marcela, durante o período de armazenamento a 4 °C (± 1 °C).

TRATAMENTOS	Tempo de análise em dias						
	1	7	14	21	28	35	42
Controle	6,32 \pm 0,041 ^a	6,28 \pm 0,020 ^a	6,31 \pm 0,021 ^a	6,34 \pm 0,053 ^a	6,32 \pm 0,010 ^{ab}	6,45 \pm 0,050 ^a	6,51 \pm 0,019 ^a
T1 (0,5% ESM ^{**})	6,34 \pm 0,011 ^a	6,35 \pm 0,040 ^a	6,28 \pm 0,006 ^a	6,37 \pm 0,064 ^a	6,39 \pm 0,041 ^a	6,43 \pm 0,101 ^a	6,44 \pm 0,035 ^a
T2 (1% ESM)	6,37 \pm 0,064 ^a	6,31 \pm 0,012 ^a	6,27 \pm 0,051 ^a	6,28 \pm 0,030 ^a	6,34 \pm 0,010 ^{ab}	6,37 \pm 0,036 ^a	6,42 \pm 0,021 ^a
T3 (1,5% ESM)	6,33 \pm 0,030 ^a	6,37 \pm 0,064 ^a	6,24 \pm 0,041 ^a	6,29 \pm 0,060 ^a	6,30 \pm 0,032 ^b	6,35 \pm 0,023 ^a	6,45 \pm 0,010 ^a
T4 (0,5% EM)	6,40 \pm 0,001 ^a	6,32 \pm 0,026 ^a	6,27 \pm 0,052 ^a	6,27 \pm 0,015 ^a	6,39 \pm 0,041 ^a	6,36 \pm 0,023 ^a	6,51 \pm 0,030 ^a
T5 (0,75% EM)	6,38 \pm 0,415 ^a	6,34 \pm 0,031 ^a	6,25 \pm 0,030 ^a	6,36 \pm 0,030 ^a	6,37 \pm 0,006 ^a	6,41 \pm 0,012 ^a	6,49 \pm 0,085 ^a

*Valores médios \pm desvio padrão de cada dia analisado, letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

** ESM (extrato de semente de mamão), EM (extrato marcela)

Os valores médios de pH obtidos ficaram na faixa entre 6,24 e 6,51 nos diferentes tratamentos analisados, apresentando diferença estatística significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$) somente no 28º dia de armazenamento, embora na prática, essas diferenças não são perceptíveis. Resultado semelhante foi encontrado por Sallam et al.(2004) que avaliou a atividade antioxidante do alho em linguiça de frango e não encontrou diferença significativa entre o pH da linguiça formulada com alho das outras formulações de linguiça de frango. Brum (2009) descreve em seu trabalho a ação antioxidante natural de marcela (*Achyrocline satureioides*) e de erva mate (*Ilex paraguariensis*) na elaboração de linguiça toscana, e mostra que os

valores de pH não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre todos os tratamentos realizados.

Os valores normais para coxa de frango são de pH entre 6,4 e 6,7 e também para carne de peito e coxa de frangos valores de 5,94 e 6,10, respectivamente (OLIVO, 2006). Enquanto que para carne de sobrecoxa desossada manualmente, um pH de aproximadamente 5,8 a 6,2 (BERAQUET, 2000). Portanto, os resultados de pH mantiveram-se em média dentro dos valores normais citados pela literatura.

Quanto ao tempo de armazenamento, pode-se observar uma leve tendência de aumento nos valores de pH, em todos os tratamentos analisados (Tabela 4). Comportamento semelhante foi encontrado por Silva et al. (2008) em estudo da influência da adição de polifosfato em linguiça de frango, onde a partir do 10º dia de estocagem, todos os tratamentos adquiriram aproximadamente o mesmo valor de pH (~6,30), mantendo um aumento uniforme e constante até o último dia de estocagem (pH ~ 6,65).

O leve aumento de pH deste estudo concorda com o observado por Asku et al. (2005) e Brannan (2008) em carne de frango refrigerada, o qual é atribuído ao aumento nas contagens de microrganismos psicrotróficos produtores de protease. Quando inicia-se a produção de proteases pelas bactérias, estas passam da utilização da glicose à utilização de aminoácidos como substrato de crescimento. A utilização destes compostos leva ao aumento do pH, devido a formação de amoníaco e aminas (TERRA e BRUM, 1988).

O pH de um alimento não exerce apenas influência sobre a velocidade de multiplicação dos microrganismos, mas também interfere na qualidade dos alimentos, durante o armazenamento, tratamento térmico, dessecação, ou durante qualquer outro tipo de tratamento, ou seja, é também responsável direto pela deterioração de produtos alimentícios (SILVA, 2005).

5.2.3 Análise da cor

Os resultados da análise colorimétrica obtidos para a luminosidade (L^*), cor vermelha (a^*), cor amarelo (b^*), saturação (C^*), ângulo de tonalidade (h^*) e a diferença global (ΔE^*) estão descritos nas Tabelas 5 e 6.

Tabela 5 - Valores médios para a Luminosidade (L*), cor vermelha (a*) e cor amarela (b*) das amostras de linguiça de frango controle e das adicionadas do extrato hidro-etanólico de sementes de mamão e de marcela, durante o período de armazenamento a 4 °C (± 1 °C).

Parâmetro L*	Tempo de análise em dias						
	1	7	14	21	28	35	42
Controle	55,92 \pm 1,112 ^a	58,41 \pm 1,055 ^a	61,55 \pm 1,446 ^a	59,02 \pm 1,179 ^b	53,78 \pm 1,622 ^{abc}	57,35 \pm 1,665 ^a	52,43 \pm 1,029 ^a
T1 (0,5% ESM**)	54,45 \pm 0,515 ^a	57,14 \pm 0,916 ^a	61,17 \pm 0,555 ^{ab}	60,08 \pm 0,606 ^{ab}	54,40 \pm 1,095 ^{ab}	54,06 \pm 1,581 ^a	53,94 \pm 0,128 ^a
T2 (1% ESM)	55,52 \pm 0,562 ^a	57,32 \pm 0,899 ^a	58,93 \pm 0,516 ^c	59,10 \pm 0,458 ^b	52,29 \pm 0,275 ^c	56,40 \pm 1,162 ^a	54,23 \pm 1,011 ^a
T3 (1,5% ESM)	55,35 \pm 1,138 ^a	58,21 \pm 0,749 ^a	61,97 \pm 0,666 ^a	61,53 \pm 1,244 ^a	54,59 \pm 0,267 ^{ab}	57,27 \pm 1,798 ^a	53,05 \pm 0,741 ^a
T4 (0,5% EM)	55,34 \pm 0,855 ^a	57,20 \pm 1,329 ^a	60,40 \pm 0,668 ^{abc}	60,36 \pm 0,223 ^{ab}	56,19 \pm 0,832 ^a	56,12 \pm 1,865 ^a	53,35 \pm 0,741 ^a
T5 (0,75% EM)	54,53 \pm 1,222 ^a	56,36 \pm 0,479 ^a	59,39 \pm 1,915 ^{abc}	59,09 \pm 0,867 ^b	54,10 \pm 0,924 ^{bc}	54,05 \pm 1,976 ^a	52,03 \pm 0,641 ^a
Parâmetro a*							
Controle	13,04 \pm 0,739 ^{ab}	14,31 \pm 0,802 ^{ab}	11,95 \pm 0,699 ^c	14,50 \pm 0,306 ^{ab}	14,19 \pm 0,647 ^a	14,38 \pm 0,717 ^a	13,86 \pm 0,225 ^a
T1 (0,5% ESM**)	13,03 \pm 0,115 ^{ab}	14,51 \pm 0,251 ^a	13,36 \pm 0,390 ^{bc}	12,03 \pm 0,770 ^c	14,28 \pm 0,104 ^a	13,06 \pm 1,130 ^{ab}	13,69 \pm 0,244 ^a
T2 (1% ESM)	12,67 \pm 0,214 ^{ab}	14,03 \pm 0,858 ^{ab}	14,28 \pm 0,549 ^{ab}	15,63 \pm 0,655 ^a	11,87 \pm 0,117 ^c	13,29 \pm 1,152 ^a	10,99 \pm 0,541 ^b
T3 (1,5% ESM)	13,38 \pm 0,821 ^a	13,76 \pm 0,698 ^{ab}	13,32 \pm 0,840 ^{bc}	13,41 \pm 0,765 ^{abc}	13,20 \pm 0,085 ^b	10,51 \pm 0,625 ^b	14,10 \pm 0,199 ^a
T4 (0,5% EM)	13,02 \pm 1,251 ^{ab}	14,64 \pm 0,975 ^a	12,44 \pm 0,225 ^c	11,57 \pm 1,620 ^c	13,85 \pm 0,190 ^{ab}	13,98 \pm 0,645 ^a	13,47 \pm 0,594 ^a
T5 (0,75% EM)	11,26 \pm 0,477 ^b	12,57 \pm 0,229 ^b	14,89 \pm 0,373 ^a	12,72 \pm 0,189 ^{bc}	12,09 \pm 0,379 ^c	12,98 \pm 1,43 ^{ab}	14,04 \pm 0,795 ^a
Parâmetro b*							
Controle	13,38 \pm 0,342 ^c	13,46 \pm 0,115 ^a	13,34 \pm 0,628 ^a	14,91 \pm 0,325 ^{ab}	14,57 \pm 0,328 ^{ab}	14,56 \pm 0,548 ^a	12,72 \pm 0,554 ^b
T1 (0,5% ESM**)	13,44 \pm 0,066 ^c	13,43 \pm 0,230 ^a	13,15 \pm 0,134 ^a	14,76 \pm 0,257 ^{ab}	14,61 \pm 0,204 ^{ab}	13,81 \pm 0,585 ^a	12,92 \pm 0,436 ^b
T2 (1% ESM)	13,98 \pm 0,267 ^{bc}	13,96 \pm 0,511 ^a	13,24 \pm 0,566 ^a	15,47 \pm 0,327 ^a	14,64 \pm 0,472 ^{ab}	14,95 \pm 0,467 ^a	13,31 \pm 0,715 ^b
T3 (1,5% ESM)	14,34 \pm 0,417 ^{ab}	14,33 \pm 0,606 ^a	13,07 \pm 0,399 ^a	14,14 \pm 0,694 ^b	14,27 \pm 0,580 ^b	14,70 \pm 0,858 ^a	13,57 \pm 0,0489 ^{ab}
T4 (0,5% EM)	14,64 \pm 0,210 ^{ab}	14,64 \pm 0,716 ^a	13,62 \pm 0,230 ^a	15,42 \pm 0,0433 ^a	15,30 \pm 0,032 ^a	15,29 \pm 0,704 ^a	13,57 \pm 0,290 ^{ab}
T5 (0,75% EM)	14,93 \pm 0,391 ^a	14,35 \pm 0,647 ^a	13,65 \pm 0,438 ^a	14,92 \pm 0,081 ^{ab}	15,06 \pm 0,110 ^{ab}	15,05 \pm 0,657 ^a	14,72 \pm 0,291 ^a

*Valores médios \pm desvio padrão de cada dia analisado, letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.** ESM (extrato de semente de mamão), EM (extrato marcela).

De acordo com a análise do parâmetro L^* (Tabela 5), o tratamento T1 adicionado de 0,5% de extrato de semente de mamão e os tratamentos T4 (0,5% EM) e T5 (0,75%EM) adicionados do extrato de marcela, não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle em todos os dias analisados, o que demonstra que estes tratamentos não alteraram a luminosidade das amostras (Tabela 5). Tais resultados vêm ao encontro dos obtidos por Brum (2009), que ao estudar os efeitos dos extratos hidro-etanólicos de erva mate e de marcela na inibição da oxidação lipídica e na coloração de banha suína, verificou que as composições mistas de extratos e o extrato de marcela a 0,5% não indicaram interferência na luminosidade da banha suína. Campagnol (2007), da mesma forma, não observou diferença significativa ($p < 0,05$) quanto à coordenada L^* , entre produtos cárneos adicionados de extrato hidro-etanólicos de marcela e o controle (sem extrato), em salame.

No final do armazenamento todos os tratamentos, inclusive o controle, apresentaram valores inferiores para L^* se comparado com o início do experimento. A redução do valor de L^* significa que a carne estava mais “escura”, como pode ser constatado no diagrama de cromaticidade do sistema CIELAB os valores de L^* representam a porcentagem de luminosidade, variando de preto (0%) a branco (100%) (RAMOS e GOMIDE, 2007).

O parâmetro a^* é o mais sensível na caracterização da cor vermelha e sua estabilidade (RAMOS e GOMIDE, 2007). Além disso, os valores altos para o parâmetro a^* está relacionado com a concentração de mioglobina e com a formação de nitrosomioglobina durante o processo de cura (PEREZ-ALVAREZ et al., 1998). Os valores de a^* para todos os tratamentos apresentaram-se numericamente próximos, e no último dia de armazenamento apenas o T2 (1% ESM) diferiu estatisticamente dos demais tratamentos. Pereira (2009) em seu estudo com antioxidantes naturais em carne mecanicamente separada de ave, diz que a média do período de armazenamento mostrou não haver diferença significativa para os valores de a^* ($p < 0,05$) entre os tratamentos com extrato de marcela, erva mate e de mistura, apresentando valores numericamente muito próximos.

Para a análise do parâmetro b^* , que variam de azul ($-b^*$) a amarelo ($+b^*$), os tratamentos com adição de extrato de marcela (T4 e T5) apresentaram os maiores valores durante o período de armazenamento das linguiças de frango, diferindo-se significativamente ($p < 0,05$) do controle. Esta diferença pode ter sido ocasionada pela

Tabela 6 - Valores médios para a saturação (C*), ângulo de tonalidade (h*) e a diferença global (ΔE^*) das amostras de linguiça de frango controle e das adicionadas do extrato hidro-etanólico de sementes de mamão e de marcela, durante o período de armazenamento a 4 °C (± 1).

Parâmetro C*	Tempo de análise em dias						
	1	7	14	21	28	35	42
Controle	19,18 \pm 0,482 ^a	20,11 \pm 0,584 ^a	17,92 \pm 0,236 ^c	20,10 \pm 0,824 ^{abc}	20,39 \pm 0,620 ^{ab}	20,47 \pm 0,865 ^a	18,82 \pm 0,472 ^b
T1 (0,5% ESM**)	19,25 \pm 0,227 ^a	20,34 \pm 0,464 ^a	18,74 \pm 0,340 ^{bc}	19,08 \pm 0,348 ^c	20,43 \pm 0,221 ^a	19,02 \pm 1,154 ^a	18,82 \pm 0,468 ^b
T2 (1% ESM)	19,05 \pm 0,312 ^a	20,15 \pm 0,381 ^a	19,46 \pm 0,591 ^{ab}	21,99 \pm 0,565 ^a	18,85 \pm 0,375 ^c	20,02 \pm 0,999 ^a	17,28 \pm 0,381 ^c
T3 (1,5% ESM)	19,87 \pm 0,622 ^a	20,31 \pm 0,959 ^a	18,67 \pm 0,415 ^{bc}	19,52 \pm 0,187 ^{bc}	19,38 \pm 0,414 ^{bc}	18,07 \pm 1,031 ^a	19,57 \pm 0,432 ^{ab}
T4 (0,5% EM)	19,69 \pm 0,980 ^a	21,03 \pm 0,290 ^a	18,45 \pm 0,315 ^{bc}	19,31 \pm 1,317 ^{bc}	20,64 \pm 0,153 ^a	20,86 \pm 0,735 ^a	19,12 \pm 0,524 ^b
T5 (0,75% EM)	19,02 \pm 0,564 ^a	19,52 \pm 0,360 ^a	20,20 \pm 0,519 ^a	19,60 \pm 0,167 ^{bc}	19,31 \pm 0,311 ^c	19,88 \pm 1,421 ^a	20,39 \pm 0,479 ^a
Parâmetro h*							
Controle	46,23 \pm 1,430 ^b	44,33 \pm 1,251 ^{ab}	48,19 \pm 2,917 ^a	45,84 \pm 1,099 ^{bc}	45,89 \pm 1,177 ^b	45,35 \pm 0,682 ^b	42,50 \pm 1,115 ^b
T1 (0,5% ESM**)	46,21 \pm 0,431 ^b	43,37 \pm 0,740 ^b	44,54 \pm 0,716 ^{ab}	50,91 \pm 2,229 ^{ab}	45,69 \pm 0,219 ^b	46,69 \pm 1,626 ^b	43,31 \pm 0,570 ^b
T2 (1% ESM)	48,09 \pm 0,669 ^b	45,28 \pm 2,017 ^{ab}	40,11 \pm 3,766 ^b	44,68 \pm 1,282 ^c	51,03 \pm 0,921 ^a	48,45 \pm 2,228 ^b	51,44 \pm 2,636 ^a
T3 (1,5% ESM)	47,04 \pm 1,423 ^b	46,45 \pm 0,318 ^{ab}	44,47 \pm 2,632 ^{ab}	46,53 \pm 3,022 ^{bc}	47,21 \pm 1,333 ^b	54,59 \pm 0,915 ^a	43,84 \pm 0,910 ^b
T4 (0,5% EM)	48,34 \pm 2,180 ^{ab}	45,92 \pm 3,290 ^{ab}	47,65 \pm 0,219 ^a	53,29 \pm 3,227 ^a	47,93 \pm 0,332 ^b	47,59 \pm 1,937 ^b	45,25 \pm 1,272 ^b
T5 (0,75% EM)	52,53 \pm 2,140 ^a	48,97 \pm 1,369 ^a	42,45 \pm 0,744 ^{ab}	49,62 \pm 0,381 ^{abc}	51,33 \pm 0,679 ^a	49,36 \pm 1,977 ^b	46,21 \pm 1,850 ^b
Parâmetro ΔE^*							
Controle	-	-	-	-	-	-	-
T1 (0,5% ESM**)	2,20 \pm 0,589 ^{ab}	1,85 \pm 0,640 ^a	2,64 \pm 0,140 ^{abc}	3,11 \pm 1,050 ^a	1,48 \pm 0,390 ^b	4,04 \pm 3,376 ^a	2,04 \pm 1,046 ^{ab}
T2 (1% ESM)	2,12 \pm 0,185 ^b	1,96 \pm 0,673 ^a	3,73 \pm 0,797 ^{ab}	2,32 \pm 0,212 ^a	3,09 \pm 0,280 ^a	2,42 \pm 0,648 ^a	3,63 \pm 0,538 ^a
T3 (1,5% ESM)	2,65 \pm 0,855 ^{ab}	2,23 \pm 0,287 ^a	2,43 \pm 0,421 ^{bc}	3,33 \pm 0,102 ^a	1,84 \pm 0,601 ^{ab}	5,05 \pm 0,895 ^a	1,42 \pm 0,256 ^b
T4 (0,5% EM)	2,45 \pm 0,205 ^{ab}	2,45 \pm 0,779 ^a	2,06 \pm 0,500 ^c	3,76 \pm 1,537 ^a	2,81 \pm 0,708 ^{ab}	3,43 \pm 1,732 ^a	1,86 \pm 0,663 ^b
T5 (0,75% EM)	3,50 \pm 0,350 ^a	3,40 \pm 0,430 ^a	4,04 \pm 0,702 ^a	2,67 \pm 0,341 ^a	2,79 \pm 0,511 ^{ab}	4,42 \pm 0,999 ^a	2,53 \pm 0,511 ^{ab}

*Valores médios \pm desvio padrão de cada dia analisado, letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.** ESM (extrato de semente de mamão), EM (extrato marcela).

adição do extrato, que tem uma coloração amarela intensa, e conseqüentemente pode ter contribuído para o aumento da cor amarela nas linguças de frango.

O ângulo de tonalidade (h^*) e grau de saturação (C^*) (Tabela 6) são medidas derivadas de a^* e b^* e pode-se observar que, para os valores para C^* , os tratamentos T2 (1%ESM) e T5 (0,75%EM) diferiram-se significativamente ($p < 0,05$) do controle nos dias 14, 28 e 42. Para o parâmetro h^* os tratamentos T2, T3, T4 e T5 apresentaram valores superiores ao controle, indicando uma tendência de cor vermelha para amarelo.

Os valores de diferença global (ΔE^*) encontrados neste estudo variaram de 1,42 a 5,05. Conforme Ramos e Gomide (2007), valores de ΔE^* entre 1,5 a 3,0 corresponde a uma percepção subjetiva de cor “perceptível” e valores de 3,0 a 6,0 corresponde a uma percepção da diferença subjetiva de cor “muito perceptível”, portanto as diferenças existentes entre os tratamentos e o controle foram na maioria dos dias, perceptíveis.

5.2.4 Oxidação lipídica

Os extratos hidro-etanólicos de semente de mamão e de marcela influenciaram de forma distinta a oxidação lipídica das amostras de linguças de frango, durante o período de armazenamento refrigerado (Tabela 7).

Em relação ao período de armazenamento, observa-se na Tabela 7, que em geral os níveis de TBARS tenderam a aumentar ao longo do tempo. De acordo com Gomes et al. (2003), Grau et al. (2000) e Melton (1983), o desenvolvimento da rancidez oxidativa ocorre mesmo durante o armazenamento da carne de frango congelada, pois enquanto as reações deteriorativas (microbiológicas e enzimáticas) podem ser inibidas com o emprego de baixas temperaturas, a oxidação lipídica ocorre normalmente, embora numa velocidade reduzida. Resultado semelhante foi encontrado por Brannan (2008), que verificou aumento significativo nos valores de TBARS de carne de frango, durante armazenamento refrigerado.

No período inicial do armazenamento (0 a 21 dias), os tratamentos não apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle. A partir do 28º dia até o final do período de armazenamento as amostras tratadas com extrato

Tabela 7 - Valores médios de TBARS das amostras de linguiça de frango controle e das adicionadas do extrato hidro-etanólico de sementes de mamão e de marcela, durante o período de armazenamento a 4 °C (± 1 °C).

Tratamentos	Tempo (dias)						
	TBA mg malonaldeído·Kg ⁻¹ amostra						
	1	7	14	21	28	35	42
Controle	**F _{0,050±0,017^{a*}}	^{EF} _{0,155±0,017^a}	^D _{0,336±0,074^a}	^C _{0,573±0,051^{abc}}	^{DE} _{0,207±0,002^{ab}}	^B _{0,871±0,042^b}	^A _{1,042±0,078^a}
T1 (0,5% ESM ^{***})	^B _{0,301±0,325^a}	^B _{0,243±0,011^a}	^B _{0,328±0,027^a}	^B _{0,446±0,036^c}	^B _{0,138±0,008^{bc}}	^A _{1,131±0,030^a}	^A _{1,120±0,067^a}
T2 (1% ESM)	^D _{0,139±0,001^a}	^{CD} _{0,184±0,056^a}	^C _{0,318±0,049^{ab}}	^{AB} _{0,597±0,098^a}	^{CD} _{0,210±0,043^a}	^B _{0,516±0,046^c}	^A _{0,708±0,021^b}
T3 (1,5% ESM)	^E _{0,162±0,121^a}	^{CDE} _{0,198±0,034^a}	^{CD} _{0,333±0,036^a}	^A _{0,629±0,016^a}	^{DE} _{0,191±0,023^{abc}}	^{BC} _{0,345±0,037^{de}}	^{AB} _{0,485±0,021^c}
T4 (0,5% EM)	^D _{0,088±0,023^a}	^{CD} _{0,148±0,050^a}	^C _{0,209±0,015^b}	^B _{0,473±0,030^{bc}}	^{CD} _{0,129±0,031^{cd}}	^B _{0,404±0,018^d}	^A _{0,659±0,025^b}
T5 (0,75% EM)	^D _{0,066±0,016^a}	^C _{0,158±0,006^a}	^B _{0,272±0,030^{ab}}	^A _{0,495±0,020^{abc}}	^D _{0,061±0,018^d}	^B _{0,267±0,012^e}	^A _{0,448±0,043^c}

*Valores médios \pm desvio padrão de cada dia analisado, letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. ** Valores médios \pm desvio padrão de cada tratamento durante o período de armazenamento, letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. ***ESM (extrato de semente de mamão), EM (extrato marcela).

de marcela (T4 e T5) apresentaram diferenças significativas em relação ao controle, apresentando uma capacidade antioxidante superior. Observa-se também que quanto maior a concentração do extrato de marcela (0,75%), maior a inibição da oxidação lipídica.

A partir do 35º dia as amostras tratadas com 1% (T2) e 1,5% (T3) de extrato de sementes de mamão apresentaram maior atividade antioxidante que o controle e somente o T3 não diferiu significativamente ($p < 0,05$) dos tratamentos adicionados de extrato de marcela.

Aos 42 dias de armazenamento das linguiças de frango refrigeradas (Tabela 7), observa-se que as amostras T3 (1,5%ESM) e T5 (0,75%EM) apresentaram os menores valores de TBARS, sendo respectivamente 0,485 e 0,448 mg malonaldeído·Kg⁻¹ de amostra, representando uma inibição lipídica superior ao controle. Os tratamentos que apresentaram menor capacidade antioxidante foram o controle e T1 (0,5% ESM), com valores de 1,042 e 1,120 mg malonaldeído·Kg⁻¹ respectivamente.

Para carnes e derivados, a informação do número de TBARS é bastante relevante devido aos processos envolvidos na elaboração de produtos cárneos, que favorecem a formação do malonaldeído, sendo fundamental o emprego do teste na avaliação da qualidade do produto final (OSAWA, FELICIO e GONÇALVES, 2005). 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⁻¹ amostra, respectivamente. Utilizando-se destes valores, todas as amostras mantiveram-se em condições adequadas até o 28º dia de armazenamento, ou seja, não apresentaram odores detectáveis de rancidez. Somente a concentração de 0,75% do extrato de marcela, adicionado as linguiças de frango, mantiveram o produto livre de rancificação até os 42 dias de armazenamento (Tabela 7).

Encontrar um antioxidante natural equivalente a um antioxidante sintético é importante para a saúde humana, pois alguns antioxidantes sintéticos têm atividade carcinogênica e seu uso na indústria de alimentos é maior ou mesmo predominante em relação ao uso do antioxidante natural (BOZKURT, 2006). Dentre do exposto, verifica-se que as pesquisas envolvendo antioxidantes naturais devem continuar, pois as mesmas se mostram de suma importância para a indústria alimentícia.

5.2.5 Características microbiológicas do produto cárneo

Segundo a RDC 12 (BRASIL, 2001), que aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, a tolerância em embutidos frescos para *Staphylococcus* coagulase positiva e para *Clostridium* sulfito redutor a 46 °C é de 3×10^3 UFC.g⁻¹, para coliformes a 45 °C é de 5×10^3 e para *Salmonella spp* é ausência em 25 g. Os resultados para *Staphylococcus* coagulase positiva, *Clostridium* sulfito redutor e coliformes a 45 °C, apresentaram resultados inferiores a 1 Log UFC.g⁻¹ durante todo o período de armazenamento e *Salmonella spp* apresentou ausência de em 25 gramas de amostra. Assim pode-se notar que os resultados apresentados neste estudo mostraram que as linguiças de frango foram consideradas dentro dos limites permitidos pela legislação, demonstrando que o processamento foi realizado em condições adequadas de higiene e respeitando as boas práticas de fabricação.

Para verificar a atividade antimicrobiana dos extratos de sementes de mamão e de marcela durante o período armazenamento das linguiças de frango refrigeradas realizou-se contagem de *Staphylococcus* coagulase negativa, microrganismos aeróbios mesófilos totais e psicotróficos (Tabela 8).

As contagens de *Staphylococcus* coagulase negativa apresentaram valores semelhantes durante o período de armazenamento das linguiças de frango refrigeradas (Tabela 8), indicando que as adições dos extratos de sementes de mamão e de marcela não apresentaram atividade antimicrobiana frente a esses microrganismos.

Quanto a contagem de aeróbios mesófilos e psicotróficos, observa-se que no período de 0 a 21 dias de armazenamento todos os tratamentos foram inferiores a 10^6 UFC.g⁻¹. Segundo Terra (1998), contagem de até 10^6 UFC.g⁻¹ é considerada faixa aceitável de contaminação microbiana em alimentos, o que também indica a qualidade sanitária dos alimentos (FRANCO e LANDGRAF, 1999).

Na contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e psicotróficos, durante o período de armazenamento, foi observado um aumento gradativo em todos os tratamentos, demonstrando assim que neste experimento os extratos hidroetanólicos de semente de mamão e de marcela não exerceram atividade antimicrobiana sobre esses microrganismos estudados. Queiroz (2006) encontrou

Tabela 8 – Valores médios da contagem de *Staphylococcus coagulase negativa*, microrganismos aeróbios mesófilos totais e psicotróficos, das amostras de linguiça de frango controle e das adicionadas do extrato hidro-etanólico de sementes de mamão e de marcela, durante o período de armazenamento a 4 °C (± 1 °C).

	Tempo de análise em dias					
	1	7	14	21	28	35
Staphylococcus coagulase negativa (Log UFC.g⁻¹)						
Controle	4,63±0,014 ^b	4,29±0,021 ^a	4,79±0,021 ^a	4,49±0,077 ^a	4,67±0,014 ^a	4,43±0,021 ^a
T1 (0,5% ESM ^{**})	4,66±0,028 ^b	4,15±0,014 ^b	4,30±0,014 ^c	4,44±0,049 ^a	4,60±0,015 ^{ab}	4,23±0,056 ^b
T2 (1% ESM)	4,57±0,007 ^b	4,15±0,063 ^b	4,35±0,028 ^{bc}	4,52±0,063 ^a	4,56±0,014 ^{bc}	4,27±0,042 ^b
T3 (1,5% ESM)	4,26±0,021 ^c	4,40±0,001 ^a	4,28±0,049 ^c	4,40±0,014 ^a	4,33±0,042 ^d	4,01±0,056 ^c
T4 (0,5% EM)	4,11±0,035 ^d	4,38±0,000 ^a	4,32±0,014 ^{bc}	4,51±0,021 ^a	4,50±0,001 ^c	4,05±0,007 ^c
T5 (0,75% EM)	4,74±0,028 ^a	4,13±0,078 ^b	4,41±0,007 ^b	4,42±0,063 ^a	4,34±0,042 ^d	4,30±0,028 ^b
Aeróbios Mesófilos (Log UFC.g⁻¹)						
Controle	3,62±0,035 ^a	3,58±0,035 ^a	4,49±0,71 ^a	5,49±0,035 ^a	6,62±0,240 ^a	7,34±0,078 ^a
T1 (0,5% ESM ^{**})	3,48±0,177 ^a	3,52±0,007 ^a	3,55±0,106 ^a	4,86±0,028 ^a	6,44±0,064 ^a	7,29±0,070 ^a
T2 (1% ESM)	3,52±0,099 ^a	3,51±0,106 ^a	3,64±0,056 ^a	4,82±0,063 ^a	6,34±0,085 ^a	7,23±0,014 ^a
T3 (1,5% ESM)	3,78±0,028 ^a	3,80±0,002 ^a	3,91±0,007 ^a	5,53±0,148 ^a	6,29±0,007 ^a	7,18±0,346 ^a
T4 (0,5% EM)	3,74±0,042 ^a	3,47±0,056 ^a	3,96±0,006 ^a	4,53±0,014 ^a	6,29±0,049 ^a	7,35±0,304 ^a
T5 (0,75% EM)	3,72±0,049 ^a	3,46±0,007 ^a	4,72±1,315 ^a	5,78±1,420 ^a	6,70±0,742 ^a	7,11±0,035 ^a
Bactérias Psicotróficas (Log UFC.g⁻¹)						
Controle	3,54±0,028 ^a	3,82±0,007 ^{bc}	5,19±0,106 ^a	5,64±0,021 ^b	6,39±0,134 ^a	6,72±0,056 ^b
T1 (0,5% ESM ^{**})	3,52±0,078 ^a	3,89±0,007 ^{ab}	3,94±0,035 ^d	5,34±0,049 ^d	6,02±0,056 ^{ab}	7,01±0,007 ^a
T2 (1% ESM)	3,25±0,177 ^a	3,64±0,035 ^d	3,83±0,007 ^d	5,97±0,003 ^a	5,93±0,148 ^{bc}	6,69±0,002 ^b
T3 (1,5% ESM)	3,55±0,141 ^a	3,82±0,042 ^{bc}	4,55±0,042 ^b	5,62±0,021 ^b	5,90±0,099 ^{bc}	6,35±0,035 ^c
T4 (0,5% EM)	3,55±0,035 ^a	3,76±0,007 ^c	4,22±0,035 ^c	5,27±0,028 ^d	5,53±0,092 ^c	6,89±0,064 ^{ab}
T5 (0,75% EM)	3,56±0,014 ^a	3,97±0,014 ^a	3,94±0,021 ^d	5,51±0,029 ^c	5,64±0,014 ^{bc}	6,72±0,134 ^b

^{**}Valores médios \pm desvio padrão de cada dia analisado, letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

^{**} ESM (extrato de semente de mamão), EM (extrato marcela).

resultados semelhantes em estudo sobre os efeitos do tripolifosfato de sódio sobre as características microbiológicas, físico-químicas e vida-de-prateleira em linguiça fresca de frango.

Milani et al. (2001) estudaram os efeitos antimicrobianos dos extratos alcoólico e metanólico do chá verde, chá preto e da erva mate em carne mecanicamente separada de frango, conservada a 5 °C e a -25 °C, e verificaram que os extratos não proporcionaram proteção antimicrobiana efetiva na CMS de frango. Em muitos experimentos altas concentrações de antimicrobianos naturais são necessárias para obter efeitos antimicrobianos em alimentos, mesmo quando a atividade antimicrobiana é constatada *in vivo* (HOLLEY e PATEL, 2005).

5.2.6 Análise Sensorial

Para avaliar a aceitabilidade dos produtos, os atributos cor, odor, sabor, textura e aparência global foram avaliados e estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 – Médias das notas relativas as características sensoriais (cor, odor, sabor, textura e aparência global) das amostras de linguiça de frango controle e das adicionadas de diferentes concentrações de extrato hidro-etanólico de sementes de mamão e de marcela, aos 7 dias de armazenamento a 4 °C (± 1 °C).

TRATAMENTOS	Característica Sensorial				
	Cor	Odor	Sabor	Textura	Aparência Global
Controle	7,20 \pm 1,160 ^{a*}	7,18 \pm 1,466 ^a	7,14 \pm 1,863 ^a	7,24 \pm 1,598 ^a	7,22 \pm 1,502 ^a
T1 (0,5% ESM ^{**})	6,78 \pm 1,344 ^a	6,98 \pm 1,406 ^a	7,16 \pm 1,742 ^a	7,04 \pm 1,702 ^a	7,14 \pm 1,212 ^a
T2 (1% ESM)	7,12 \pm 1,255 ^a	7,20 \pm 1,125 ^a	7,54 \pm 1,248 ^a	7,58 \pm 1,230 ^a	7,18 \pm 1,534 ^a
T3 (1,5% ESM)	7,30 \pm 1,281 ^a	7,06 \pm 1,476 ^a	7,30 \pm 1,619 ^a	7,22 \pm 1,729 ^a	7,14 \pm 1,525 ^a
T4 (0,5% EM)	7,02 \pm 1,597 ^a	7,00 \pm 1,484 ^a	7,24 \pm 1,597 ^a	7,24 \pm 1,709 ^a	7,18 \pm 1,438 ^a
T5 (0,75% EM)	6,86 \pm 1,726 ^a	6,80 \pm 1,702 ^a	7,00 \pm 1,773 ^a	7,12 \pm 1,598 ^a	7,28 \pm 1,262 ^a

* Valores apresentados como média \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo Teste de Tukey. Escores: 1 = desgostei muitíssimo; 2 = desgostei muito; 3 = desgostei moderadamente; 4 = desgostei ligeiramente; 5 = indiferente; 6 = gostei ligeiramente; 7 = gostei moderadamente; 8 = gostei muito; 9 = gostei muitíssimo.

** ESM (extrato de semente de mamão), EM (extrato de marcela).

Os valores médios das notas atribuídas para os atributos cor, odor, sabor, textura e aparência global (Tabela 9) foram de aproximadamente 7, classificados como “gostei moderadamente” na escala hedônica estruturada de nove pontos, não apresentando diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos avaliados. Este resultado da aceitabilidade dos produtos elaborados demonstrou que as concentrações aplicadas dos extratos de semente de mamão e de marcela não interferiram na qualidade sensorial das linguiças de frango.

Quanto ao índice de aceitabilidade (Tabela 10) das linguiças de frango adicionadas de diferentes concentrações de extratos hidro-etanólicos de sementes de mamão e de marcela, os valores de todos atributos avaliados apresentaram índices de aceitabilidade superiores a 70%. Segundo Monteiro (1984) o índice de aceitabilidade é considerado com boa repercussão quando seu valor é $\geq 70\%$, sendo assim pode-se afirmar que a aplicação dos extratos não interferiu na aceitabilidade dos atributos avaliados, nas concentrações utilizadas neste estudo.

Tabela 10 - Valores obtidos para o Índice de Aceitabilidade (%) das amostras de linguiça de frango controle e das adicionadas de diferentes concentrações de extrato hidro-etanólico de sementes de mamão e de marcela, aos 7 dias de armazenamento a 4 °C (± 1 °C).

TRATAMENTOS	Índice de aceitabilidade (%)				
	cor	Odor	sabor	textura	Aparência Global
Controle	75,33	77,56	79,56	78,22	79,33
T1 (0,5% ESM**)	79,11	80,00	83,78	84,22	79,78
T2 (1% ESM)	81,11	78,44	81,11	80,22	79,33
T3 (1,5% ESM)	78,00	77,78	80,44	80,44	79,78
T4 (0,5% EM)	76,22	75,56	77,78	79,11	80,89
T5 (0,75% EM)	80,00	79,78	79,33	80,44	80,22

** ESM (extrato de semente de mamão), EM (extrato de marcela).

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nas análises *in vitro* dos extratos apontaram o extrato de marcela como mais eficiente que o extrato de semente de mamão em relação ao conteúdo de fenólicos totais e atividade antioxidante.

A composição centesimal das linguiças adicionadas dos extratos de semente de mamão e de marcela e o controle apresentaram-se de acordo com os padrões estabelecidos pela legislação brasileira, como Padrão de Identidade e Qualidade do produto. Não houve interferência da adição dos extratos sobre pH das linguiças de frango em relação ao controle.

No final do armazenamento todos os tratamentos, inclusive o controle, apresentaram valores inferiores para L^* se comparado com o início do experimento, indicando um produto mais escuro. Para os parâmetros a^* , b^* , C^* , H^* foram observadas poucas diferenças significativas. Já o ΔE apresentou poucas diferenças significativas entre os tratamentos, porém seus valores indicaram que as diferenças entre os tratamentos e o controle foram na maioria dos dias perceptíveis.

Os extratos de sementes de mamão e de marcela nas maiores concentrações (1,5% e 0,75%, respectivamente) foram eficazes na redução da oxidação lipídica de linguiças de frango representando uma capacidade antioxidante superior ao controle.

Em relação aos valores obtidos para *Staphylococcus* coagulase positiva; *Samonella*; *Clostridium* sulfito redutor e coliformes fecais apresentaram-se dentro dos limites de tolerância estabelecidos pela Legislação brasileira para todos os tratamentos no decorrer do período de armazenamento. Em relação à contagem de *Staphylococcus* coagulase negativa, microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos, conclui-se que a adição dos extratos, nas diferentes concentrações, não foram eficazes como antimicrobianos;

Os valores médios das notas atribuídas para os atributos cor, odor, sabor, textura e aparência global foram de aproximadamente 7, classificados como “gostei moderadamente” na escala hedônica estruturada de nove pontos e o índice de aceitabilidade das linguiças de frango apresentaram-se superiores a 70%. Portanto as concentrações dos extratos de sementes de mamão e de marcela não interferiram na aceitabilidade das linguiças de frango, uma vez que todos os tratamentos foram considerados com boa repercussão sensorial.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEGOKE, G. O.; VIJAY, K. M.; GOPALA, A. G.; VARADARAJ, M. C.; SAMBAIAH, K.; LOKESH, B. R. Antioxidants and lipid oxidation in food – a critical appraisal. **Journal of Food Science and Technology**, v. 35, n. 4, p. 283-298, 1998.

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.

ALMEIDA, C. O. **Avaliação físico-química e microbiológica de linguiça Toscana porcionada e armazenada em diferentes embalagens, sob condições de estocagem similares às praticadas em Supermercado**. 2005. Dissertação (mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Alimentos, 2005.

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.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Committee on microbiological methods for foods. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 4 ed. Washington: APHA, 2001. 676p.

AOAC **ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS.**, 16th edn. Washington, D.C. 1995.

ASKU, M. I. KARAOGLU, M.; ESENBUGA, N.; KAYA, M.; MACIT, M.; OCKERMAN, H. W. Effect of a dietary probiotic on some quality characteristics of raw broiler drumstick and breast meat. **Journal of Muscle Foods**, Trumbull, v.16, n.4, p.306-317, Oct. 2005.

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.

BAILEY, A. E. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**. Edible oil and fat products: oils and oilseeds. New York, v.2, 1996. 403p.

BENZAQUEN, T. Dossiê antioxidantes: os antioxidantes. **Food Ingredientes Brasil**, n.6, p. 16-30, 2009.

BERAQUET, N, J. Carne mecanicamente separada de aves. In: SEMINARIO E CURSO TEÓRICO_PRÁTICO AGREGANDO VALOR A CARNE DE AVES, 1, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: ITAL 2000, p. 17-19.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Química do Processamento de Alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2001.

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.

BUCK, D. F. Antioxidants in soya oil. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Champaign, v. 58, n. 3, p. 275-278, 1981.

BRANNAN, R. G. Effects of grape seeds extract on physicochemical properties of ground, salted, chicken thigh meat during refrigerated storage at different relative humidity levels. **Journal of Food Science**, Oxon, v. 73, n. 1, p. C36-C40, Jan/Feb.2008.

BRAND-WILLIAMS, W,; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, London, v. 28, n.1, p.25-30, Jan/Feb. 1995.

BRASIL. Instrução Normativa n.4, de 31 de março de 2000. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade de carne mecanicamente separada, de mortadela, de linguiça e de salsicha. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, p.6, 05 abr. 2000. Seção 1.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Instrução Normativa nº 62, de 26/08/2003. **Diário Oficial da União**, Brasília, 18 set. 2003.

BRUM, E. B. **Antioxidante natural de marcela (*Achyrocline satureioides*) e de erva mate (*Ilex paraguariensis*) na elaboração de linguiça toscana.** 2009. 78f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

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

CASTERA-ROSSIGNOL, A.; BOSQUE, F. Nouvelle approche dês antioxydants. **OCL**, v. 131, n. 1, p. 131-143, 1994.

COULTER, R. B. Extending shelf- life by using traditional phenolic antioxidants. **Cereal Foosa World**, St. Paul, v. 33, n. 2, p. 207-217, Feb. 1988.

DECKER, E. A. Phenolics: prooxidants or antioxidants? **Nutrition Reviews**, New York, v.55, n.11, p.396-407, 1997.

DESMARCHELIER, C.; COUSSIO, J.; CICCIA, G. Antioxidant and free radical scavenging effects in extracts of the medicinal herb *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. ("marcela"). **Brasilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 31, n.9, p. 1163-1170, 1998.

DI CARLO, G.; MASCOLO, N.; IZZO, A. A.; CAPASSO, F. Flavonoids: Old and New Aspects of a Class of Natural Therapeutics Drugs. **Life Sciences**, v. 65, n. 4, p. 337–353,1999.

DIMITRIOS, B. Sources of natural phenolic antioxidants. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 17, p. 505-512, 2006.

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

DUTCOSKY, S.D. **Análise Sensorial de Alimentos.** 2.ed. Curitiba: Champagnat, 2007.

EMBRAPA INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA. **Iniciando um pequeno grande negocio agroindustrial: polpa e suco de frutas.** Brasília: Embrapa Agroindustria de Alimentos, 1^aed, Brasília, DF, 2003, 123p.

ESTÉVEZ, A.M. et al. Cereal and nut bars, nutritional quality and storage stability. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 47, n. 4, p. 309-317, 1995.

FERRARO, G. E.; NORBEDO, C.; COUSSIO, J. D.; Polyphenols from *Achyrocline satureioides*. **Phytochemistry**, v. 20, n. 8, p. 2053–2054, 1981.

FONTES, P. R. ; RAMOS, E. M. ; GOMIDE, L.A.de M . Avaliação da Cor Objetiva de Mortadelas Adicionadas de Sangue Tratado com Monóxido de Carbono e Formuladas Com ou Sem Adição de Nitrito. In: III CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES, 2005, São Paulo. **Anais....** Campinas : CTC/ITAL, CD-ROM(SE05-38), 2005.

FRANCO, B. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1999. 182p.

FURTADO, A. S. *et al.* Atividade antioxidante do extrato de *Achyrocline satureioides* (Marcela) em linguiça. In: XIV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2004, RECIFE. **Anais...** Recife: CBCTA, 2004a, 1 CD-ROM.

FURTADO, A. S. *et al.* Atividade antimicrobiana do extrato de *Achyrocline satureioides* (Marcela) em linguiça. In: XIV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2004, RECIFE. **Anais...** Recife: CBCTA, 2004b, 1 CD-ROM.

GARDINI, C. H. C. Efeito da vitamina E na qualidade da carne de frango de corte. **Revista Nacional da Carne**, v.288, p.90-97, Fev. 2001.

GEORGANTELIS, D.; AMBROSIADIS, I. KATIKOU, P.; BLEKAS, G.; GEORGAKIS, S. A. Effects 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, 2007.

GHIRETTI G.P. ZANARDI E. NOVELLI E., CAMPANINI G., DAZZI G., MADARENA G., CHIZZOLINI R. (1997) Comparative evaluation of some antioxidants in salame Milano and mortadella production. **Meat Science**, 47, 167-176.

GOMES, H.D.A.; SILVA, E. N.; NASCIMENTO, M. R. L.; FUKUMA, H. T. Evaluation of the 2-thiobarbituric acid method for measurement of lipid oxidation in

mechanically deboned gamma irradiated chicken meat. **Food Chemistry**, Oxford, UK, v.80, n.3, p.433-437, Mar. 2003.

GRAU, A.; GUARDIOLA, F.; BOATELLA, J.; CODONY, R. Measurement of 2-thiobarbituric acid values in dark chicken meat through derivative spectrophotometry: influence of various parameters. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, DC, v.48, n.4, p.1155-1159, Apr. 2000.

GRÜN, I. U.; AHN, J.; CLARKE, A. D.; LORENZE, Carol L.. Reducing oxidation of meat. **Food Technology**. p. 36-43. 2006.

HARBONE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v. 55, p. 481–504, 2000.

HOFFMANN, R. S. **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.

HOLLEY, R. A., PATEL D. (2005): Improvement of shelf life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. **Food Microbiology**, n. 22, p. 273-292.

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.

HUNT, M.C., ACTON, J.C., BENEDICT, R.C., CALKINS, C.R., CORNFORTH, D.P., JEREMIAH, L.E., OLSON, D.G., SALM, C.P., SAVELL, J.W., SHIVAS, S. D. AMSA Guidelines for Meat Color Evaluation. In: 44TH ANNUAL RECIPROCAL MEAT CONFERENCE, (pp.3-17), 9-12 July 1991. **Proceedings...** Manhattan, KS: Kansas State University. 1991.

IBRAC – Indústria Brasileira de Aditivos e Condimentos. **Teoria e Prática na Industrialização de Carnes**. Departamento Técnico – IBRAC. Rio Claro, 1980. [Manual teórico-prático].

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. 4. ed.; 1.ed digital, São Paulo: Secretaria de Estado da Saúde, 2008. cap. 6. p. 279-320.

ISHIGE, K.; SCHUBERT, D.; SAGARA, Y. Flavonoids protect neuronal cells from oxidative stress by three distinct mechanisms. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 30, n. 4, p. 433–446, 2001.

KÄHKÖNEN, 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.

LIMA, A. W.O.; SOUSA, C. P. Infecções e intoxicações alimentares. In: **Aspectos da ciência e tecnologia de alimentos**. 1 ed. João Pessoa, PB: Nova Idéia, 2002, v. 1, p. 175-199.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais: Nativas e Exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum. 2002, 515p

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

MALACRIDA, C. R.; JORGE, N. Papaya (*Carica papaya* L.) seeds extracts as source of natural antioxidants. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 3, p. 337-340, 2008.

MARTIN, A. J. et al. Processamento: produtos, características e utilização. In: INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. **Mamão: cultura, matéria prima, processamento e aspectos econômicos**. 2ª ed. Campinas, 1989. p. 255-334.

MARTINEZ-VALVERDE ,I.; PERIAGO, M. J, PROVAN, G. Phenolic compounds, lycopene and antioxidant activity in commercial varieties of tomato (*Lycopersicon esculentum*). **Journal Science Food Agriculture**, v. 82, n. 3, p. 323-330, 2002.

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

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

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. **Anais do 4º Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos**, p.122. Campinas, 2001.

MONTEIRO, C. L. B. **Técnicas de Avaliação sensorial**. 2. ed. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, CEPPA, 1984. 101 p.

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

NISSEN, L. R. et al. Protection of dehydrated chicken meat by natural antioxidants as evaluated by electron spin resonance spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 48, n. 11, p. 5548-5556, 2000.

OHSHIMA, H.; YOSHIE, Y.; AURIOL, S.; GILIBERT, I. Antioxidant and prooxidant actions of flavonoids: effects on DNA damage induced by nitric oxide, peroxyxynitrite and nitroxyl anion. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 25, n. 9, p. 1057–1065, 1998.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, L. B.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; BARROS, M. P.; MANO, C. M.; GOULARTA, M. O. F. Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. **Food Chemistry**, v. 115, n. 2, p. 469-475, July 2009.

OLIVO, R. **Alterações Oxidativas em produtos cárneos**. In. Olivo, R. O Mundo do Frango. 1 Ed. Criciúma, SC: Ed do Autor, 2006. v.29, n.1, p.533-542. Capítulo 44.

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

PADILHA, D. G. A. **Antioxidante natural de erva mate na conservação de carne de frango in vivo**. 2007. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

PALEZI, S. C. **Embutido Emulsionado a Base de Pescado (*Micropogonias furnierii*) com Adição de Isolado Proteico de Pescado e Antioxidante Natural de *Marcela* (*Achyrocline satureioides*)**. 2011. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

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

PEREZ-ALVAREZ, J.A.; SAYAS-BARBERA, M.E.; FERNANDEZ-LOPEZ, J.; GAGOGAGO, M.A.; PAGAN-MORENO, M.J.; ARANDA-CATALA, V. Spanish drycured ham aging process: colour characteristics. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 44, Barcelona, 1998. **Proceedings**. Barcelona, 1998. p.984-985.

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

PRANDL, O.; FISCHER, A.; SCHIMIDHOFER, T.; SINEL, H. J. **Tecnología y Higiene de la carne.** Zaragoza: Ed. Acribia, 1994. 854p.

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

QUEIROZ, A. M. P. **Efeitos do Tripolifosfato de Sódio sobre as Características microbiológicas, físico-químicas e vida-de-prateleira em linguiça frescal de frango.** 2006. 85 f. Dissertação de mestrado (Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

RAHARJO, S *et al.* Improved speed, specificity, and limit of determination of an aqueous acidextraction thiobarbituric acid – C18 method for measuring lipid peroxidati on in beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.40, p.2182-2185, 1992.

RAMALHO, V.C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em oleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v.29, n.4, Sao Paulo, 2006.

RAMOS, E.M., GOMIDE, L.A.M. **Avaliação da Qualidade de Carnes: Fundamentos e Metodologias.** Viçosa: Editora UFV, 2007. 599p.

RHEE, K. S.; ZIPRIN, Y. A.; ORDONEZ, G.; BOHAC, C. E. Fatty acid profiles of the total lipids and lipid oxidation in pork muscle as affected by canola oil the animal diet and muscle location. **Meat Science**, Oxford, v.23, n.3, p. 201-210, 1988.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; BOLWELL, P. G. BRAMLEY, P. M., PRIDHAM, J. B. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonóides. **Free Radical Research**, v. 22, n. 4, p. 375-383, 1995.

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.

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

SELANI, M. M. **Extrato de Bagaço de Uva como Antioxidante Natural em Carne de Frango Processada e Armazenada sob Congelamento**. 2010. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2010.

SHYMALA, B.N.; GUPTA,S; LAKSHMI,A.J.; PRAKASH, J. Leafy vegetable extracts – antioxidant activity and effect on storage stability of heated oils. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, p.239 245, 2005

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; BAUER, L.; LANGELOH, A. Pharmacological investigations on *Achyrocline satuireioides* (LAM.) D.C. Compositae. **J. Ethnopharmacol**, v. 22, p. 281–293, 1988.

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.

SILVA, M.; **Obtenção de isolado protéico proveniente de pescado de baixo valor comercial**. Dissertação de Mestrado. Rio Grande – RS. FURG. 2005.

SILVA, L. P.; LOPES, M. M.; MANO, S.; MÁRSICO,E. T.; CONTE-JUNIOR, C. A.; TEODORO, A. J.; GUEDES, W. S. Influência da adição de polifosfato em linguiça de frango. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 15, n. 1, p. 50-55, jan./abr, 2008.

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**, v.299, p.152-178, 1999.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v.15 n.1. Campinas. 2002.

SOARES, M.; WELTER, L.; GONZAGA, L.; LIMA, A. L.; MANCINI-FILHO. J.; FETT, R. Avaliação da atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos presentes no bagaço de maçã cv. Gala. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 3, p. 727-732, jul./set.2008.

SOONG, Y. Y.; BARLOW, P. J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. **Food Chemistry**, v. 88, p. 411-147, 2004.

SOUSA, C.M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 351-355, abr/jun. 2007.

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

ST. ANGELO, A. J.; **Critical Reviews in Food Science and Nutrition 1996**, 36, 175.

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

TERRA, N. N. **Apontamentos de Tecnologia de Carnes**. São Leopoldo: Editora Unisinos. 1998, 216 p.

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, 2008.

TORRES, E. F. S. et al. Papel do sal iodado na oxidação lipídica em hambúrgueres bovino e suíno (misto) ou de frango. **Ciência e Tecnologia de alimentos**, v.18, n.1, Campinas Jan/Apr. 1998.

TORRES, E. A. F. S. Oxidação lipídica em carnes - uma revisão. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.22, n.1/2, p.53-71, Jan/Jun., 1988.

TRINDADE, M. A.; NUNES, T. P.; CONTRERAS-CASTILLO. FELÍCIO, P. E. Estabilidade oxidativa e microbiol[ogica em carne de galinha mecanicamente separada e adicionada de antioxidante durante o período de armazenamento a -18⁰C. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas , v. 28, n. 1, p. 160-168, 2008.

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

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

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

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

YAMAMOTO, N.; MOON, J.; TSUSHIDA, T.; NAGAO, A.; TERAOKA, J. Inhibitory Effect of Quercetin Metabolites and Their Related Derivatives on Copper Ion- Induced Lipid Peroxidation in Human Low-density Lipoproteins. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 372, n. 2, p. 347–354, 1999.

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

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

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