

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

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE SEMENTE DE
CHIA (*Sálvia hispânica*) E SUA APLICAÇÃO EM
LINGUIÇA FRESCAL**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Gabrielle Scapin

**Santa Maria, RS, Brasil
2014**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA
DO EXTRATO DE SEMENTE DE CHIA (*Sálvia hispânica*) E SUA
APLICAÇÃO EM LINGUIÇA FRESCAL**

Gabrielle Scapin

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. Dr^a. Claudia Severo da Rosa

**Santa Maria, RS, Brasil
2014**

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

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

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA
DO EXTRATO DE SEMENTE DE CHIA (*Sálvia hispânica*) E SUA
APLICAÇÃO EM LINGUIÇA FRESCAL**

elaborada por
Gabrielle Scapin

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

COMISSÃO EXAMINADORA:

Claudia Severo da Rosa, Dr^a.
(Presidente/Orientadora)

Virgínia Cielo Rech, Dr^a. (UNIFRA)

Ernesto Hashime Kubota, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 20 de março de 2014.

Dedico este trabalho aos meus queridos pais, Sandra e Gilberto, e minha irmã Julia, por terem me incentivado a iniciar minha caminhada em busca de conhecimento; por terem me dado forças para sempre seguir em frente; por compartilharem comigo dos momentos bons e ruins, sempre com muito amor e dedicação. Amo vocês!! Obrigada por serem os exemplos que são para mim!

De maneira especial, agradeço ao meu namorado Fábio, por ser o primeiro a me incentivar a buscar algo que me realizasse pessoal e profissionalmente; pelo apoio e companheirismo em todos os momentos que passamos; por estar sempre por perto pronto a me ouvir e ajudar. Obrigada por tudo! Amo você!

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Prof^a. Dr^a. Cláudia Severo da Rosa, agradeço pela confiança desde os tempos em que fui sua aluna na disciplina de Química de Alimentos. Agradeço pela orientação, incentivo, amizade e suporte constante; pela calma e serenidade transmitida a mim durante cada momento difícil. Serei sempre muito grata por tudo!

Ao Prof. Dr. Ernesto Kubota e a Prof^a. Dr^a. Rosa Cristina Prestes pela colaboração e sugestões pra a realização deste trabalho.

A colega de mestrado e amiga Michele, minha querida “dupla”; agradeço pela paciência e ajuda durante estes dois anos. Obrigada por compartilhar comigo dos momentos difíceis, de tensão, mas também de momentos de descontração por que passamos.

A estagiária Ariadne, pela ajuda durante as análises do produto cárneo, pela sua dedicação, disposição e vontade de aprender, e também pelas conversas, risadas e pela amizade.

Aos funcionários do PPGCTA Magé, Marta, Marialene, Moisés e Aline, sempre prontos a ajudar e esclarecer nossas duvidas no dia a dia de trabalho.

As funcionárias Liana e Ana pela colaboração e esclarecimentos com a parte de Microbiologia.

A colega de mestrado Sabrina e ao funcionário Magé pela enorme ajuda na elaboração do produto cárneo.

A colega Luana pela ajuda com as técnicas de flavonóides e FRAP e a colega Marcia pela boa vontade e ajuda com a determinação de fibras.

As colegas Sabrina, Carine, Raquel, Márcia e Mariana pela amizade, conversas, encontros, desabafos e troca de conhecimento durante o mestrado.

Ao CNPQ e CAPES pela bolsa de mestrado para que fosse possível a execução deste trabalho.

Ao Prof. Ernesto Hashime Kubota, Prof. Virginia Cielo Rech e Prof. Luisa Helena Hecktheuer por terem aceito o convite para fazer parte da banca examinadora de defesa.

A todos não citados que de alguma forma contribuíram e fizeram parte desta caminhada, muito obrigada!

RESUMO

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

AValiação da Atividade Antioxidante e Antimicrobiana do Extrato de Semente de Chia e sua Aplicação em Linguiça Frescal

AUTORA: GABRIELLE SCAPIN

ORIENTADORA: CLAUDIA SEVERO DA ROSA

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 20 de março de 2014.

O presente estudo teve por objetivo verificar a atividade antioxidante de extratos de semente de chia (*Sálvia hispânica*) e seu efeito antioxidante em linguiça de carne suína. Primeiramente, foi realizada a composição química da semente de chia. A mesma apresentou alto conteúdo de fibra alimentar, proteína e lipídios e baixo teor de umidade. Após elaborou-se os extratos hidroetanólicos por agitação, utilizando diferentes concentrações de etanol e temperaturas. Nos extratos obtidos foram realizadas análises de compostos fenólicos totais, flavonóides totais e atividade antioxidante *in vitro* através dos métodos DPPH e FRAP. O extrato obtido através de extração por agitação utilizando etanol 80% como solvente e temperatura de 60°C foi o que apresentou as melhores características antioxidantes, então o mesmo foi aplicado nas concentrações de 1%, 1,5% e 2% em linguiças de carne suína. Para a caracterização do produto cárneo, foram realizadas análises de umidade, proteínas, cinzas, gordura e a cada sete dias foram realizadas as análises de pH, cor, índice de TBARS e análises microbiológicas. A análise sensorial foi avaliada através do teste de aceitabilidade com escala hedônica de sete pontos e teste de intenção de compra. Os resultados obtidos na composição centesimal, bem como nas análises microbiológicas para *Staphylococcus* coagulase positiva, Coliformes a 35 ° C e a 45 ° C, *Samonella sp* e *Clostridium sulfito redutor* dos produtos estão de acordo com o exigido pela legislação brasileira. O pH da linguiça apresentou um aumento ao longo do tempo de armazenamento. Com relação à cor do produto, este apresentou uma coloração com tendência ao escurecimento. Ao fim de 28 dias de armazenamento, os valores de TBARS foram de 1,12 mg de MDA/kg para o tratamento com 2% de extrato de chia e 1,60 mg de MDA/ kg para o tratamento controle (0% de extrato de chia). O extrato de semente de chia não apresentou efeito sobre a estabilidade microbiológica ao longo do armazenamento, avaliada pela contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos totais e psicrotóxicos. A estabilidade das características sensoriais foi mantida, demonstrando boa aceitabilidade pelo consumidor. Desta forma, conclui-se que o extrato de semente de chia (*Sálvia hispânica*) foi capaz de inibir a oxidação lipídica da linguiça de carne suína, sendo viável a aplicabilidade como uma fonte antioxidante natural.

Palavras-chave: Antioxidante natural. Linguiça de carne suína. Chia. Oxidação lipídica

ABSTRACT

Masters Dissertation
Postgraduate Program in Science and Food Technology
Santa Maria Federal University

EVALUATION OF ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF CHIA SEED EXTRACT (*Sálvia hispânica*) AND ITS APPLICATION IN FRESCAL SAUSAGE

AUTHOR: GABRIELLE SCAPIN

ADVISOR: CLAUDIA SEVERO DA ROSA

DATE AND DEFENSE PLACE: March 20th of 2014, Santa Maria.

The present study had as object verify the antioxidant activity of chia seed extracts (*Sálvia hispânica*) and its antioxidant effect in pork sausage. First of all, it was held the chemical composition of the chia seed. It presented high dietary fiber content, protein and lipids and low moisture content. After that, it was elaborated hydroethanolic extracts by stirring, using different ethanol concentrations and temperatures. In the extracts obtained were performed analyzes to measure total phenolic compounds, total flavonoids and antioxidant activity *in vitro* through DPPH and FRAP methods. The extract obtained from stirring using ethanol 80% as solvent and 60°C temperature, was the one that got the best antioxidants features, so, this one was applied in concentrations of 1%, 1,5% and 2% in pork sausages. To characterize the meat product, were held analyzes to measure pH, color, TBARS values and microbiological analysis. The sensorial analysis was evaluated by the test of acceptability with hedonic scale of seven points, and purchase intent test. The results obtained in the proximate composition, as well as in the microbiological analyzes to positive *Staphylococcus* coagulase, coliforms between 35°C and 45°C, *Samonella sp e Clostridium sulfito* products reducer are according to what is required by Brazilian law. The sausage pH showed an increase throughout time in storage. Regarding color, the product showed a staining tendency to browning. In the end of 28 days of storage, the TBARS values was 1,12 mg of MDA/kg to the control treatment (0% of chia extract). The chia seed extract did not present effects over the microbiological stability along the storage, measured by counting the total mesophilic aerobic microorganisms and psicrotrofics. The sensorial features stability was kept, showing good acceptability by consumers. Therefore, we can conclude that the chia seed extract (*Sálvia hispânica*) was able to inhibit the lipid oxidation of pork sausage, which suggests its applicability as a natural antioxidant source.

Keywords: Natural Antioxidant. Pork sausage. Chia. Lipid oxidation.

LISTA DE TABELAS

ARTIGO CIENTÍFICO 1

Tabela 1- Condições de extração utilizada na extração das sementes de chia por agitação, com base no planejamento fatorial 2^2 com triplicata no ponto central.....	37
Tabela 2- Composição centesimal das sementes de chia.....	41
Tabela 3- Teor de compostos fenólicos totais dos extratos de semente de chia expressos em mg EAG/g de amostra seca.....	42
Tabela 4- Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta conteúdo de compostos fenólicos.....	44
Tabela 5- Teor de flavonóides totais dos extratos de semente de chia, expressos em mg Equivalente Quercetina/g amostra seca.....	45
Tabela 6- Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta conteúdo de flavonóides totais.....	46
Tabela 7- Análise de Variância para a resposta conteúdo de flavonóides.....	47
Tabela 8- Atividade antioxidante máxima e IC_{50} dos extratos de semente de chia.....	49
Tabela 9- Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta IC_{50}	50
Tabela 10- FRAP (Poder antioxidante de redução do ferro) para os extratos de semente de chia expresso em mMol equivalentes Trolox/g de amostra seca.....	51
Tabela 11- Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta FRAP.....	52

ARTIGO CIENTÍFICO 2

Tabela 1- Formulação de linguiça de carne suína.....	61
Tabela 2- Composição centesimal de linguiça frescal de carne suína adicionada de diferentes concentrações de extrato de semente de chia (<i>Sálvia hispânica</i>) armazenada a 4°C por 28 dias.....	65

Tabela 3- Valores de pH da linguiça frescal de carne suína adicionada de diferentes concentrações de extrato de chia (<i>Sálvia hispânica</i>) armazenada a 4°C por 28 dias.....	66
Tabela 4- Parâmetros de cor instrumental (L*, a*, b*, C* e h*) de linguiça frescal de carne suína adicionada de diferentes concentrações de extrato de chia (<i>Sálvia hispânica</i>) armazenada a 4°C por 28 dias.....	68
Tabela 5- Valores de TBARS (mg MDA/kg de amostra) das amostras de linguiça frescal de carne suína adicionada de diferentes concentrações de extrato de chia (<i>Sálvia hispânica</i>) armazenada a 4°C por 28 dias.....	71
Tabela 6- Contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos totais e psicotróficos (LogUFC/g) em amostras de linguiça frescal de carne suína adicionada de diferentes concentrações de extrato de semente de chia (<i>Sálvia hispânica</i>) armazenada a 4°C por 28 dias.....	74
Tabela 7- Médias das notas atribuídas para as linguiças frescas de carne suína adicionadas de diferentes concentrações de extrato semente de chia (<i>Sálvia hispânica</i>) armazenadas a 4°C.....	75
Tabela 8- Médias das notas atribuídas relativas a intenção de compra para as linguiças frescas de carne suína adicionadas de diferentes concentrações de extrato de semente de chia (<i>Sálvia hispânica</i>) armazenadas a 4°C utilizando escala hedônica de 5 pontos.....	77

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mecanismo de reação da oxidação lipídica.....	20
Figura 2 - Reação entre o ácido 2-tiobarbitúrico e o malonaldeído, no teste de TBARS, formando o composto colorido medido a 532 nm.....	22
Figura 3 - Estrutura fenólica dos antioxidantes sintéticos.....	24
Figura 4 - Sementes de chia (<i>Sálvia hispânica</i>).....	30

ARTIGO CIENTÍFICO 1

Figura 1 - Superfícies de resposta e curvas de contorno considerando a variável conteúdo de flavonóides totais (%) em função das variáveis concentração de etanol e temperatura.....	48
---	-----------

ARTIGO CIENTÍFICO 2

Figura 1 : Provadores que escolheram o termo “Decididamente compraria” no teste de intenção de compra para as linguiças frescas de carne suína adicionadas de diferentes concentrações de extrato semente de chia (<i>Sálvia hispânica</i>) armazenadas a 4°C.....	78
---	-----------

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a* - Variação entre a cor vermelha (+a*) e a verde (-a*)

AA- Atividade Antioxidante

ANOVA – Análise de variância

b* - Variação entre a cor amarela (+b*) e o azul (-b*)

BHA – Butil-hidroxi-anisol

BHI – Infusão Cerebro Coração

BHT – Butil hidroxi-tolueno

C* - Saturação

DPPH - 1,1-difenil-2-picrilhidrazil

EAG – Equivalente ácido Gálico

EC-Extrato de chia

EQ-Equivalente Quercetina

ET-Equivalente Trolox

FRAP-Poder antioxidante de redução do ferro

h* - Angulo de tonalidade

IC₅₀ – Concentração Inibitória

Log – Logaritmo

L* - Luminosidade, variando de 0 (preto) ate 100 (branco)

MDA – Malonaldeído

PCA-ágar padrão de contagem

pH – Potencial hidrogeniônico

PG – Propil Galato

ROS-Espécies reativas de oxigênio

TBA – Acido 2-tiobarbitúrico

TBARS – Substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico

TBHQ – Tercio butilhidroxiquinona

UFC – Unidade Formadora de Colônias

VRBA – Agar Cristal Violeta Vermelho Neutro Bille

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice A- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	96
Apêndice B- Ficha utilizada na avaliação sensorial.....	97

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. OBJETIVOS.....	17
2.1 Objetivos gerais.....	17
2.2 Objetivos específicos.....	17
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	18
3.1 Linguiça frescal.....	18
3.2 Oxidação lipídica.....	19
3.3 Antioxidantes.....	22
3.3.1 Antioxidantes sintéticos.....	24
3.3.2 Antioxidantes naturais.....	26
3.4 Extração de antioxidantes naturais.....	27
3.4.1 Influência do solvente.....	27
3.4.2 Influência da temperatura.....	28
3.4.3 Influência do tempo.....	29
3.5 Chia (<i>Sálvia hispânica</i>).....	29
3.6 Antimicrobianos Naturais.....	31
4. ARTIGOS CIENTÍFICOS.....	33
4.1 Artigo 1: Conteúdo de fenólicos, flavonóides totais e atividade antioxidante de extratos de sementes de chia (<i>Sálvia hispânica</i>) obtidos por diferentes condições de extração.....	33
4.2 Artigo 2: Efeito do extrato de sementes de chia (<i>Sálvia hispânica</i>) sobre as características de linguiça frescal de carne suína.....	57
5. CONCLUSÕES GERAIS.....	84
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86

1. INTRODUÇÃO

Os estudos que se referem a alimentos que apresentam alto teor de gordura, como as carnes e produtos cárneos, mostram que a oxidação lipídica é a principal reação química responsável pela deterioração da qualidade destes alimentos. A reação de oxidação lipídica forma produtos indesejáveis, não somente pela modificação de características organolépticas (alterações na coloração da carne e da gordura e produção de odores e *flavours* ofensivos), mas também, pela destruição de constituintes essenciais, ocasionando o decréscimo do valor nutricional dos alimentos e a formação de compostos tóxicos para o organismo humano, tornando-o impróprio para o consumo (BRUM, 2009; YUNES, 2010).

A prevenção da oxidação lipídica é uma das principais buscas da indústria cárnea, sendo que um método alternativo para reduzir a oxidação lipídica é incluir antioxidantes, os quais não devem afetar a qualidade sensorial da carne e devem ser eficazes a baixas concentrações (FRANCO et al., 2012).

Desde a década de 80 o interesse em encontrar antioxidantes naturais para o emprego em produtos alimentícios tem aumentado consideravelmente com o intuito de substituir antioxidantes sintéticos, como o butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxiquinona (TBHQ) os quais têm sido restringidos devido ao seu potencial carcinogênico bem como pela comprovação de diversas outras patologias (MELO; GUERRA, 2002).

O uso de antioxidantes naturais em produtos cárneos tem o objetivo de tornar estes alimentos mais seguros ao consumo humano, e prolongar a vida útil do mesmo 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, carotenoides, tocoferóis e ácido ascórbico (DIMITRIUS, 2006).

Salvia hispânica ou chia é nativa da região que se estende do oeste central do México ao norte da Guatemala. É considerada uma cultura anual, de verão, pertencente a mesma família da menta (Labiatae). Seus grãos são ovalados e tem aproximadamente 2 mm de largura, com coloração preta ou marrom escura, e, as vezes, branca ou cinza (COATES; AYERZA, 1996).

A semente possui alto conteúdo de óleo (0,25 e 0,38 g de óleo/ g de semente) (IXTAINA et al., 2011), além de possuir alto conteúdo de proteína (0,19 a 0,23 g/ g de semente) (COATES; AYERZA, 1996) e fibra alimentar (0,339 g/ g de semente) (CRAIG; SONS, 2004).

Além disso, a semente de chia contém alguns compostos com potente atividade antioxidante tais como miricetina, quercetina, kaempferol e ácido caféico, que evitam a rancidez dos ácidos graxos insaturados nos alimentos que a contém. Sabe-se que a oxidação das sementes de chia é mínima ou nula, devido a presença destes compostos antioxidantes, possuindo um grande potencial dentro da indústria de alimentos, se comparada com outras fontes de ácidos graxos poli-insaturados, como as sementes de linhaça, que apresentam rápida decomposição devido a ausência destes compostos antioxidantes (IXTAINA et al., 2011).

Com base no exposto, a utilização de extratos de chia como ingrediente na formulação de linguiças suínas pode ser benéfica devido às características antioxidantes da chia que podem atuar positivamente na conservação deste produto cárneo retardando a oxidação lipídica.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a capacidade antioxidante e antimicrobiana dos extratos de semente de chia (*Salvia hispânica*) e seu efeito em linguiças de carne suína.

2.2 Objetivos específicos

Caracterizar quimicamente as sementes de chia;

Testar diferentes soluções hidroetanólicas e temperaturas na obtenção dos extratos;

Avaliar a atividade antioxidante dos extratos de semente de chia;

Determinar a atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato de chia com o melhor potencial antioxidante;

Aplicar o extrato que apresentou o melhor potencial antioxidante em linguiça suína;

Caracterizar as linguiças quanto a composição centesimal;

Monitorar o efeito do extrato de semente de chia nas concentrações de 0%, 1%, 1,5% e 2% no pH, cor, na estabilidade lipídica e microbiológica das linguiças durante o armazenamento refrigerado;

Avaliar a aceitação sensorial das linguiças elaboradas.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Linguiça Frescal

Embutidos são definidos como alimentos condimentados contidos em envoltório natural ou artificial, cuja elaboração emprega carne de bovinos, suínos ou aves, bem como suas vísceras, podendo ser cozido ou não, curado, maturado e dessecado (CHAVES et al., 2000). A fabricação de embutidos propicia o aumento da vida de prateleira das carnes, bem como diversifica a oferta de derivados (VIEIRA, 1998).

Dentre os embutidos, a linguiça frescal é um dos mais consumidos devido a seu processamento relativamente simples e preço acessível. Dados recentes demonstram que no Brasil, a linguiça frescal é a preferida, própria para churrascos, e responde por quase 60% das vendas totais da categoria (BRASIL, 2007).

Conforme a Instrução Normativa nº4 de 31 de março de 2000 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), linguiça frescal se caracteriza por ser um produto cru e curado, de carne, gordura e outros ingredientes. Deve apresentar as seguintes características físico-químicas: 70% de umidade máxima, 30% de gordura, 12% de proteína mínima e máximo de 0,1% de cálcio (BRASIL, 2003). O processo requer adição de sais de cura, recurso que permitirá ao alimento produzido em escala industrial atingir os parâmetros característicos de qualidade sensorial – sabor, cor, aroma e textura e a preservação do produto (TAKAHASHI, 1993).

Sua obtenção requer uma série de etapas de manipulação, o que eleva as possibilidades de contaminação por uma gama de espécies de microrganismos, patogênicos ou deterioradores, podendo comprometer a qualidade microbiológica do produto final, desde que ocorram falhas e não conformidades em seu processamento (MOROT-BIZOT; LEROY; TALON, 2006).

De acordo com Terra (1998), as principais etapas envolvidas no processamento de linguiça são recebimento da matéria-prima; preparo e formulação; moagem; mistura das carnes com os condimentos e aditivos até completa homogeneização e embutimento.

Por não sofrer processamento térmico ou dessecação, e apresentar alta atividade de água, a linguiça frescal tem curto prazo comercial e qualidade microbiológica dependente da ausência ou de baixos níveis de contaminação na matéria-prima e demais ingredientes empregados na produção (VARNAN; SUTHERLAND, 1998).

3.2 Oxidação lipídica

Os lipídios são importantes componentes dos produtos cárneos, conferindo características desejáveis de suculência, sabor, aroma, valor nutricional e propriedades tecnológicas. No entanto, estes são facilmente oxidáveis (OLIVO, 2006). A oxidação dos lipídios, que ocorre durante o armazenamento, processamento e aquecimento, é um processo básico causador de rancidez nos produtos alimentícios, promovendo a deterioração oxidativa (HUDSON, 1990).

Os produtos da oxidação lipídica são indesejáveis, não somente pela produção de odores e *flavors* ofensivos, como resultado da decomposição de lipídios e produção de compostos voláteis, mas também, pela destruição de constituintes essenciais, ocasionando o decréscimo do valor nutricional dos alimentos e a formação de compostos tóxicos durante o processamento (FRANKEL, 1996).

A reação de oxidação depende do grau de insaturação do ácido graxo, da quantidade de oxigênio, da presença de metais, do pH, da temperatura, da umidade, de enzimas e pigmentos. Os lipídios podem ser oxidados de diferentes formas, em função do meio e dos agentes catalisadores. Os mecanismos mais conhecidos são a oxidação enzimática, a fotoxidação e a autooxidação (NIKI et al., 2005).

A oxidação catalisada por enzimas ocorre pela ação das enzimas lipoxigenases, que atuam sobre os ácidos graxos poliinsaturados, catalisando a adição do oxigênio à cadeia hidrocarbonada poliinsaturada. O resultado é a formação de peróxidos e hidroperóxidos com duplas ligações conjugadas, que podem envolver-se em diferentes reações degradativas (YUNES, 2010).

O mecanismo de fotoxidação de gorduras insaturadas é promovido essencialmente pela radiação UV em presença de fotosensibilizadores (clorofila, mioglobina, riboflavina e outros), que absorvem o comprimento de onda na faixa do

visível e a transferem para o oxigênio triplete, gerando o estado singleto. O oxigênio singleto reage diretamente com as duplas ligações gerando peróxidos e hidroperóxidos diferentes daqueles observados na ausência de luz e sensibilizadores, e que por degradação posterior originam aldeídos, cetonas e alcoóis (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

A autoxidação é o principal processo de oxidação e é tradicionalmente descrito como uma reação em cadeia, constituída por três fases distintas: início, propagação e término (Figura 1) (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999; YUNES, 2010).

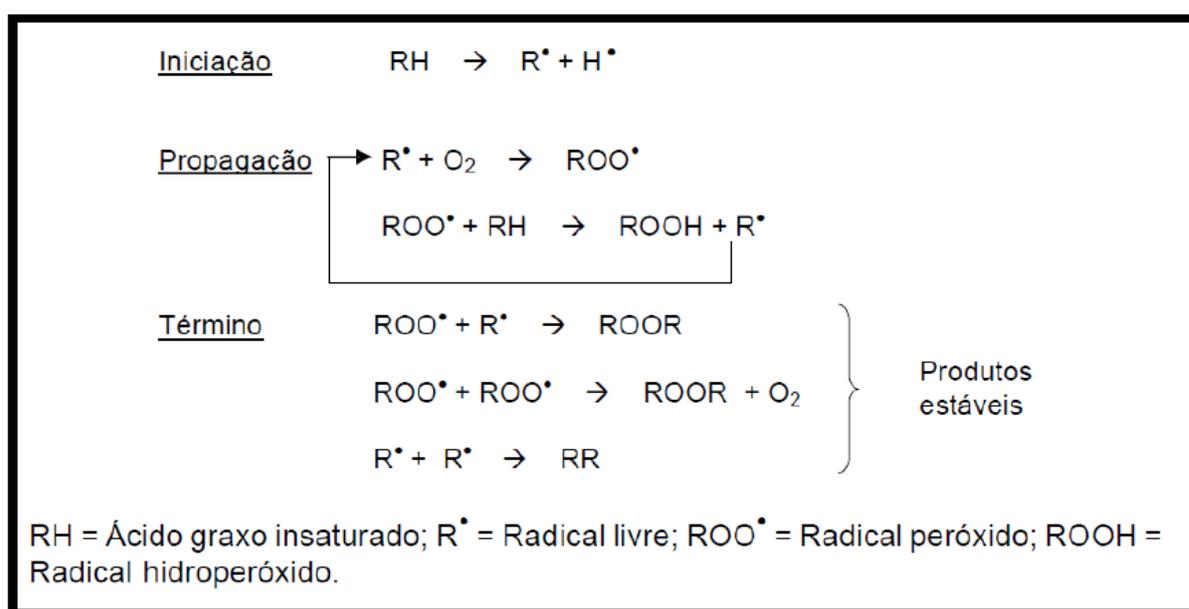


Figura 1 : Mecanismo de reação da oxidação lipídica.

Fonte: Ramalho e Jorge, 2006

Na iniciação, um radical livre, R^{\bullet} , é formado por ação dos agentes oxidantes, que promovem a abstração de um átomo de hidrogênio da molécula de um ácido graxo em condições favorecidas pela luz e calor. Isso ocorre pela interação com o oxigênio na presença de iniciadores, os quais podem ser: luz, calor, radiação, íons metálicos e metalo-proteínas (GUILLÉN-SANS; GUZMÁN-CHOZAS, 1998). Esta fase apresenta um consumo baixo de oxigênio que aumenta lentamente, não ocorrem alterações sensoriais e aumenta a concentração de radicais livres (BOBBIO, 2001).

Na fase de propagação, o radical livre R^{\bullet} , pode reagir com o O_2 formando um radical peróxido. Este, por sua vez, reage com um triglicerídio ou um ácido graxo livre produzindo hidroperóxidos e um novo radical livre, reiniciando todo o processo,

como produtos primários da reação obtêm-se os radicais peróxidos (ROO*) enquanto sua concentração cresce rapidamente (BOBBIO, 2001). Os radicais peróxidos abstraem rapidamente átomos de H dos grupos metilênicos de outros ácidos graxos insaturados formando hidroperóxidos (ROOH) e novos radicais livres. Os novos radicais livres reagem com o oxigênio e a reação se torna cíclica, quando ocorre o aumento dos peróxidos e de produtos de sua degradação. Nesta fase tornam-se perceptíveis o odor e sabor de ranço, os quais tendem a aumentar rapidamente provocado pelos produtos de decomposição dos hidroperóxidos (TRINDADE, 2007).

A propagação só cessa com a reação de terminação. A fase de terminação é o estágio onde os radicais livres começam a reagir entre si formando espécies não-radicaais estáveis (produtos secundários de oxidação) obtidos por cisão e rearranjo de peróxidos (epóxidos, compostos voláteis e não voláteis) (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

A estabilidade oxidativa dos alimentos é dependente do equilíbrio entre a composição e concentração do substrato e a presença de pró-oxidantes. A remoção do oxigênio, inativação de enzimas, proteção contra luz e íons metálicos são importantes para evitar ou minimizar a oxidação lipídica. No entanto, estas medidas nem sempre são aplicáveis. A adição de antioxidantes constitui prática mais comum para aumentar a estabilidade dos lipídios. Portanto, a prevenção destas reações poderá minimizar os seus efeitos adversos, e aumentar a vida-de-prateleira (shelf-life) dos alimentos (KRING; BERGER, 2001).

O método mais usual para acompanhar a oxidação de lipídeos em carnes e produtos cárneos é o teste de TBA, devido à sua simplicidade e rapidez. O teste quantifica o malonaldeído, um dos principais produtos secundários da oxidação lipídica, formado pela decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados, formados durante o processo. A reação envolve o ácido 2-tiobarbitúrico com o malonaldeído, produzindo um composto cromóforo de cor vermelha, que pode ser medido espectrofotometricamente a um comprimento de onda de 532 nm (Figura 2).

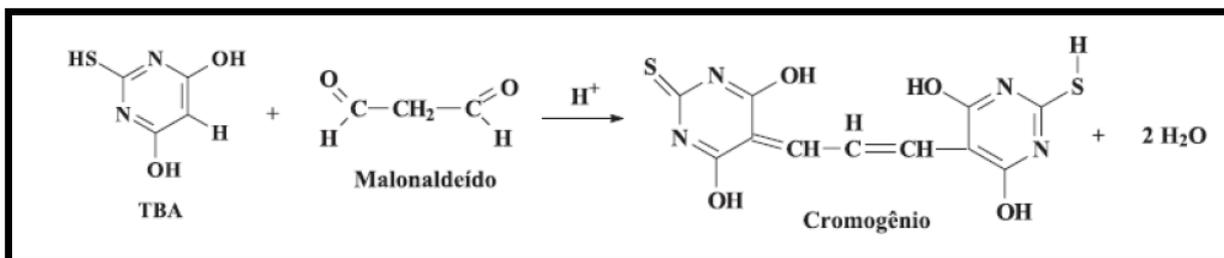


Figura 2: Reação entre o ácido 2-tiobarbitúrico e o malonaldeído, no teste de TBARS, formando o composto colorido medido a 532 nm.

Fonte: OSAWA et al., 2005

Os resultados são expressos em unidades de absorvância por unidade de massa de amostra ou em “valor de TBA” ou “número de TBA”, definidos como a massa, em mg, de malonaldeído por Kg de amostra. O valor de TBARS (substâncias reativas ao TBA) constitui-se numa maneira de expressar o valor obtido no teste de TBA, sendo atualmente mais utilizado e leva em consideração outras substâncias capazes de reagir com o ácido 2-tiobarbitúrico (OSAWA; FELÍCIO; GONÇALVES, 2005).

3.3 Antioxidantes

Antioxidantes são substâncias capazes de sequestrar ou impedir a formação de radicais livres. O mecanismo de ação dos antioxidantes está bem elucidado, isto é, para que um composto seja eficiente na redução das reações da autooxidação é necessário que ele iniba a formação de radicais livres na iniciação da cadeia de oxidação ou interrompa a sua propagação (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Segundo Mehta, Zayas e Yang (1994), antioxidantes são compostos que podem prevenir ou retardar o processo oxidativo causado pelos radicais livres e pelas espécies reativas ao oxigênio (ROS) em alimentos, postergando a deterioração, rancidez e descoloração decorrente da autooxidação.

Atualmente, 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 como triacilgliceróis e/ou lipídeos polares. Para a utilização em alimentos, o antioxidante deve apresentar algumas características: ser efetivo em baixa concentração; ser compatível com o substrato; não conferir odor ou sabores estranhos ao produto; ser efetivo durante o período de estocagem do produto alimentício; ser estável ao processo de aquecimento e ser facilmente incorporado ao alimento (BAILEY, 1996).

A aprovação dos antioxidantes empregados em alimentos requer estudos toxicológicos extensivos. Além disso, a utilização destas substâncias em produtos alimentícios é controlada por organizações internacionais, como a *Food and Agriculture Organization* (FAO) e *World Health Organization* (WHO) (SOUZA, 2006). Estas substâncias podem ser utilizadas de forma individual ou combinada, visando sempre a garantia da qualidade do produto e a segurança alimentar.

Os compostos antioxidantes são classificados segundo sua forma de ação protetora em antioxidantes primários e antioxidantes secundários. Os antioxidantes primários atuam interrompendo a reação em cadeia através da doação de elétrons ou hidrogênio aos radicais livres, formados durante a iniciação ou propagação da reação, convertendo-os em produtos termodinamicamente estáveis. Como exemplos, pode-se citar o butil-hidroxianisol, butil hidroxitolueno, ésteres do ácido gálico, butil hidroquinona, tocoferol e flavanóides (KAHL; HILDEBRANDT, 1986). Já os antioxidantes secundários atuam retardando a etapa de iniciação da autooxidação por diferentes mecanismos que incluem: complexação com metais catalisadores da reação, sequestro de oxigênio, decomposição de hidroperóxidos para formar espécie não radical, absorção da radiação ultravioleta ou desativação de oxigênio singlete (PADILHA, 2007).

Existem duas categorias básicas de antioxidantes denominadas: sintético (como o butilhidroxianisol (BHA) e o butilhidroxitolueno (BHT), largamente empregados pela indústria de alimentos) e natural (substâncias bioativas tais como compostos fenólicos e terpenos, que fazem parte da constituição de diversos alimentos) (MELO; GUERRA, 2002).

A conscientização dos consumidores dos riscos à saúde provocados pelos aditivos sintéticos resultou em indicações às indústrias alimentícias para o uso de aditivos naturais ou métodos alternativos para extensão da vida de prateleira,

aumento da segurança e minimização dos danos da oxidação lipídica (GEORGANTELIS et al., 2007).

3.3.1 Antioxidantes sintéticos

Os principais antioxidantes sintéticos utilizados pela indústria de alimentos são os fenóis com várias substituições no anel (Figura 3), onde pode-se citar: o butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxiquinona (TBHQ) e propil galato (PG) (NASSU, 1999).

São compostos com estrutura fenólica que ao doar um próton a um radical livre regenera a molécula de acilglicerol e interrompe o mecanismo de oxidação e os derivados fenólicos são assim transformados em radicais livres, os quais podem se estabilizar sem promover ou propagar reações de oxidação (BUCK, 1981).

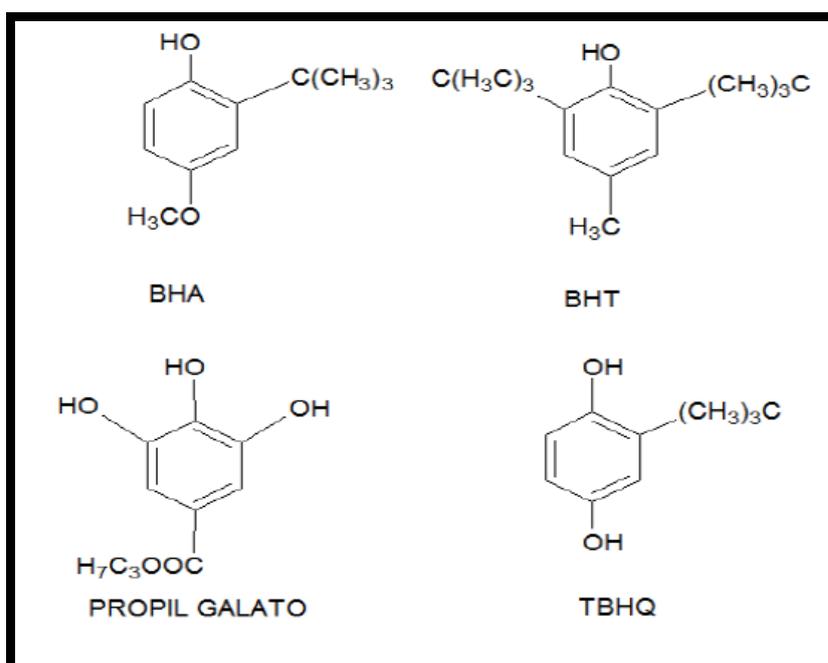


Figura 3: Estrutura fenólica dos antioxidantes sintéticos

Fonte: Ramalho e Jorge, 2006.

O BHA é um antioxidante mais efetivo na supressão da oxidação em gorduras animais que em óleos vegetais. É insolúvel em água e extremamente solúvel em gorduras, apresenta pouca estabilidade frente a elevadas temperaturas, mas é

particularmente efetivo no controle de oxidação de ácidos graxos de cadeia curta (RAMALHO; JORGE, 2006).

O butilhidroxitolueno (BHT) tem propriedades similares ao BHA ambos são sinergistas entre si (RAMALHO; JORGE, 2006). Os antioxidantes chamados sinérgicos são aqueles que quando misturados apresentam uma atividade mais acentuada do que a atividade dos antioxidantes individuais (ARAUJO, 2001).

O Propil-galato (PG) (éster do 3,4,5 ácido triidroxibenzoico) tem ótima atividade como antioxidante para estabilizar alimentos fritos, massas assadas e biscoitos preparados com gorduras (BAILEY, 1996).

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

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 (SOARES, 2002). 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 et al., 2002).

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, que não permite o uso de antioxidantes em carnes frescas e congeladas *in natura* (PEREIRA, 2009).

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 et al., 2002).

3.3.2 Antioxidantes Naturais

O interesse em encontrar antioxidantes naturais para o emprego em produtos alimentícios aumentou consideravelmente a partir do início dos anos 80, 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. 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; GUERRA, 2002).

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. 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 têm sido estudada para tal fim (PEREIRA, 2009).

Segundo Madsen e Bertelsen (1995), as propriedades antioxidantes das especiarias e de outros vegetais, devem-se principalmente a seus compostos fenólicos que se caracterizam pela presença de um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, que conferem propriedades antioxidantes devido a capacidade de quelar metais, inibir a lipoxigenase e sequestrar radicais livres (FERGUSON; HARRIS, 1999). A utilização dos antioxidantes naturais tem como vantagens a aceitação imediata do consumidor e sua utilização não é limitada pela legislação (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). Contudo, mais estudos são fundamentais para melhor entendimento dos mecanismos de ação dos antioxidantes naturais sobre a oxidação lipídica.

3.4 Extração de antioxidantes naturais

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

Algumas etapas preliminares devem ser realizadas para facilitar o processo de extração e conservar os compostos antioxidantes, que são sensíveis à ação da luz, oxigênio e calor (AZIZAH; RUSLAWATTI; TEE, 1999). Os vegetais normalmente são desidratados, liofilizados ou congelados, e ainda peneirados ou moídos antes do processo de extração. Assim, os substratos atingem maior superfície de contato com o solvente de extração e as enzimas lipoxigenase tornam-se inativas. Tais enzimas, naturalmente presentes em vegetais, são responsáveis pela rancidez oxidativa enzimática (JUNTACHOTE; BERGHOFER, 2005).

Existem diversos métodos para a extração dos compostos antioxidantes em vegetais, conhecidos também como substâncias bioativas. Dentre esses, podem ser citados os tradicionais métodos de extração utilizando solventes orgânicos (como água, etanol, éter e metanol) e a extração supercrítica que mediante mudanças na pressão e na temperatura transforma o dióxido de carbono (CO₂) em fluido supercrítico para a extração (REHMAN; HABIB; SHAH, 2004).

Sob o ponto de vista químico não há como selecionar a metodologia mais eficiente para a extração desses compostos que podem sofrer a influência de diversos fatores. Dentre esses, podem ser citados o tempo, a temperatura e o solvente empregado na extração (SHAIKI; NACZK, 1995).

3.4.1 Influência do solvente

A extração com solventes orgânicos é frequentemente utilizada para o isolamento dos compostos bioativos. O rendimento da extração e a determinação da atividade antioxidante dos extratos dependem do tipo de solvente, devido às diferenças nos potenciais antioxidantes e à polaridade dos compostos (MARINOVA; YANISHLIEVA, 1997).

Não existe sistema de extração com solventes que seja satisfatório para o isolamento de todos ou de classe específica de antioxidantes naturais, devido a diversos fatores. A natureza química desses compostos nos alimentos varia do simples ao altamente polarizado, há grande variedade de compostos bioativos nos vegetais (como os ácidos fenólicos, antocianinas e taninos) e diferentes quantidades presentes, além da possibilidade de interação dos compostos antioxidantes com carboidratos, proteínas e outros componentes dos alimentos. Alguns desses complexos, assim como alguns fenólicos com alto peso molecular, são altamente insolúveis em água. Entretanto, os extratos sempre contêm mistura de substâncias fenólicas de diferentes classes que são solubilizadas no solvente do sistema escolhido. Estágios adicionais podem ser necessários para purificar o isolado e remover substâncias fenólicas e não-fenólicas indesejáveis (SHAIDI; NACZK, 1995).

Etanol e água são os solventes mais empregados para a extração de antioxidantes por razões de higiene e de abundância, respectivamente.

Em folhas de ginseng (*Panax ginseng*), o extrato etanólico evidenciou maior ação seqüestradora de radical livre e atividade quelante de íons ferro. Além disso, continha maior quantidade de fenólicos e flavonóides do que os extratos aquoso e metanólico (JUNG et al., 2006).

3.4.2 Influência da temperatura

A estabilidade dos compostos polifenólicos, durante a desidratação e extração, é afetada por degradações químicas e enzimáticas e pela volatilização dos compostos, mas a decomposição térmica tem sido apontada como a maior causadora da redução do conteúdo de polifenóis. Na decomposição térmica, os fenóis podem reagir com outros componentes e impedir sua extração (MOURE et al., 2001).

A extração sob temperaturas brandas é desejável nos casos em que alguns compostos podem ser degradados como, por exemplo, o ácido carnósico presente nos extratos de alecrim (IBÁÑEZ et al., 1999).

Kim et al. (2006) estudaram o efeito do aquecimento e das condições físicas de sementes de uva na atividade antioxidante dos extratos. Afirmaram que o

aquecimento das sementes de uva favoreceu a liberação de compostos fenólicos e, portanto, aumentou a quantidade de compostos ativos em seus extratos.

Tomaino et al. (2005) estudaram a ação antioxidante de óleos essenciais de manjeriço, canela, cravo-da-índia, noz-moscada, orégano e timo em diferentes condições de temperatura. Todos os óleos essenciais testados em temperatura ambiente apresentaram propriedade seqüestradora de radical livre, determinada pelo método espectrofotométrico baseado na redução do radical estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila). Sob aquecimento de 180°C, apenas a noz-moscada apresentou atividade antioxidante mais alta.

3.4.3 Influência do tempo

O tempo de extração também afeta consideravelmente a recuperação dos polifenóis. O período de extração deve variar entre 1 minuto a 24 horas. No entanto, longos períodos de extração aumentam a possibilidade de oxidação dos fenólicos exigindo que agentes redutores sejam adicionados ao solvente do sistema (SHAIDI; NACZK, 1995).

Em estudo realizado com resíduos de frutas vermelhas, os extratos foram preparados com etanol, metanol e água e tempos de extração de 1, 12 e 24 horas. Comparando-se os resultados, o conteúdo de polifenóis diminuiu no extrato aquoso com maior tempo de extração, enquanto nos extratos metanólicos e etanólicos houve acréscimo no conteúdo de fenóis com o aumento do tempo de extração (LAPORNIK; PROSEK ; WONDRA, 2005).

3.5 Chia (*Sálvia hispânica*)

Sálvia hispânica ou chia é nativa da região que se estende do oeste central do México ao norte da Guatemala, e sua cultura foi expandida até a América do Sul. Suas sementes foram amplamente utilizadas por civilizações Maias e Astecas, principalmente como alimento e para a fabricação de tintas. Chia é considerada uma cultura anual, de verão, pertencente a mesma família da menta (Labiatae) (COATES; AYERZA, 1996). Seus grãos são ovalados e tem aproximadamente 2

mm de largura, com coloração preta ou marrom escura, com pontos brancos ou cinzas (Figura 4).



Figura 4: Sementes de chia (*Sálvia hispânica*)

Desde 1991, esta cultura tem sido desenvolvida com sucesso na Argentina, principalmente no norte do país, nas províncias de Salta e Jujuy, onde, hoje em dia, se transformou em uma atividade econômica muito importante. Recentemente, surgiu novamente o interesse por essa semente, por ser considerada um alimento com significativo valor nutricional (JIN et al., 2012).

Embora a chia não seja um alimento muito conhecido, sua produção global está aumentando devido às suas propriedades saudáveis. As sementes de chia são também utilizadas como suplementos alimentares, bem como na fabricação de barras, cereais matinais e biscoitos nos EUA, América Latina e Austrália (DUNN, 2010).

Depois de alguns estudos, foram reveladas notáveis propriedades nutricionais desta pequena semente, por isso se recomenda seu consumo devido a seu alto conteúdo de óleo, proteína, antioxidantes, minerais e fibra alimentar (IXTAINA et al., 2011).

A chia foi estudada, principalmente, devido à qualidade do seu óleo. A semente contém entre 0,25 e 0,38 g de óleo/ g de semente, em que os principais constituintes são triglicerídeos, nos quais os ácidos graxos poli-insaturados linolênico (Ômega-3) e linoléico (Ômega-6) estão presentes em quantidades

elevadas (IXTAINA et al., 2011), sendo estas quantidades significativamente maiores que nos óleos de soja, linhaça e canola (GUNSTONE; PADLEY, 1997). O ácido linolênico tem um papel muito importante na fisiologia, especialmente durante o crescimento fetal e infantil (BOWEN; CLANDININ, 2005) e na prevenção de doenças cardiovasculares, por reduzir os níveis de colesterol no sangue (GALLI; MARANGONI, 2006).

Além disso, a semente de chia contém alguns compostos com potente atividade antioxidante tais como miricetina, quercetina, kaempferol e ácido caféico, que evitam a rancidez dos ácidos graxos insaturados nos alimentos que os contém (IXTAINA et al., 2011). Sabe-se que a oxidação das sementes de chia é mínima ou nula, devido a presença destes compostos antioxidantes, possuindo um grande potencial dentro da indústria de alimentos, se comparada com outras fontes de ácidos graxos poli-insaturados, como as sementes de linhaça, que apresentam rápida decomposição devido a ausência destes compostos antioxidantes.

As sementes de chia também tem um elevado nível de proteínas (0,19 a 0,23 g/ g de semente), quando comparado a cereais tradicionais como o trigo, milho, aveia e cevada (COATES; AYERZA, 1996), embora a chia não seja comercialmente conhecida como uma fonte de proteína. Por outro lado, a chia é fonte de minerais tais como cálcio, fósforo, ferro e magnésio.

A extração do óleo de chia, no entanto, produz uma subfracção com teor de fibra alimentar relativamente elevada (0,339 g/ g de semente) (CRAIG, SONS, 2004), que também contém polifenóis (TAGA; MILLER; PRATT, 1984), possivelmente envolvidos na alta atividade antioxidante e compostos que conferem características funcionais com aplicações de sistemas alimentares. O alto teor de fibras de semente de chia pode melhorar a saciedade, regular o trânsito intestinal, diminuir o consumo de energia e promover perda de peso nos usuários (AYERZA; COATES; LAURIA, 2002).

3.6 Antimicrobianos naturais

Os antimicrobianos constituem um grupo especial de agentes terapêuticos, geralmente produzidos e obtidos de organismos vivos. São substâncias que, em pequenas concentrações, devem possuir atividade letal ou inibitória contra muitas

espécies microbianas, prevenir o desenvolvimento de microrganismos resistentes, a ausência de efeitos indesejáveis ao hospedeiro e estabilidade química (LIMA, 2001).

O conhecimento sobre determinadas espécies vegetais com propriedades antimicrobianas tem sido revisto e ampliado, especialmente por uma tendência mundial quanto ao uso de antimicrobianos naturais na conservação de alimentos (SOUZA; STAMFORD, 2005).

As plantas possuem um vasto número de substâncias naturais com potencial antimicrobiano na tentativa de se adaptarem as agressões do meio ambiente. Estas substâncias podem ser flavonóides, fitoesteróis, polissacarídeos, alcalóides, taninos, cumarinas, vitaminas e minerais, entre outros (LIMA, 2001). Alguns compostos fenólicos tais como os de sálvia, alecrim, tomilho, lúpulo, coentro, cravo e manjeriço são relatados na literatura por possuírem efeitos antimicrobianos contra patógenos alimentares (AHN; GRÜN; MUSTAPHA, 2007).

4. ARTIGO CIENTÍFICOS

4.1 Artigo Científico 1

Configuração conforme normas da Revista Semina: Ciências Agrárias

**CONTEÚDO DE FENÓLICOS, FLAVONÓIDES TOTAIS E ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DE SEMENTES DE CHIA (*Sálvia hispânica*)
OBTIDOS POR DIFERENTES CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO**

**PHENOLIC CONTENT, TOTAL FLAVONOIDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF
CHIA SEEDS EXTRACT (*Sálvia hispânica*) OBTAINED BY DIFFERENT
CONDITIONS OF EXTRACTION**

Gabrielle Scapin¹; Michele Mantelli Schimdt¹; Rosa Cristina Prestes²; Claudia Severo da Rosa^{2*}

¹ Aluna de Mestrado, Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria – UFSM;

² Professora, Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria – UFSM;

*A quem a correspondência deve ser enviada, Av. Roraima n° 1000, Prédio 42, Cidade Universitária, Bairro Camobi, CEP 97105-900, Santa Maria, RS – Brasil, Fone: +55 55 3220 8254, e-mail: claudiasr37@yahoo.com.br

Resumo

Sálvia hispânica ou chia é nativa da região que se estende do oeste central do México ao norte da Guatemala, e suas sementes contém alguns compostos com potente atividade antioxidante tais como miricetina, quercetina, kaempferol e ácido cafeico, que evitam a rancidez dos ácidos graxos insaturados nos alimentos que a contém. Esse estudo teve como objetivo caracterizar quimicamente a semente de chia, através das análises de umidade, proteína, extrato etéreo e fibra alimentar, obter extratos de sementes de chia através de diferentes temperaturas e concentrações de etanol, e posteriormente, analisar nos extratos o conteúdo de compostos fenólicos, flavonóides e atividade antioxidante *in vitro*, através dos

métodos DPPH e FRAP. O extrato com melhores características antioxidantes foi avaliado quanto a sua capacidade antimicrobiana pelo teste de difusão em disco. Os resultados encontrados mostram que a semente de chia tem alto conteúdo de fibra alimentar, lipídios e proteína, e baixa umidade. Observou-se que extratos de sementes de chia possuem atividade antioxidante, sendo que o extrato com melhores características antioxidantes foi obtido através de extração por agitação a 60°C e utilizando solução hidroetanólica 80% como solvente. O mesmo não apresentou atividade antimicrobiana.

Palavras-chave: chia, composição química, antioxidantes naturais, capacidade antioxidante.

Abstract

Sálvia hispânica or Chia is native from central west region of Mexico to the northern of Guatemala, and its seeds contain some compounds with high antioxidant activity such as myricetin, quercetin, kaempferol and caffeic acid,, which avoid rancidity of unsaturated fatty acids in foods containing it. This study had as object characterize chemically chia seeds, through analyzes of moisture, protein, lipids and dietary fiber, obtain extracts of chia seeds through different temperatures and ethanol concentrations, and subsequently, analyze in extracts phenolics content, flavonoids and antioxidant activity in vitro, through the DPPH and FRAP methods. The extract that got the best antioxidant features was evaluated for its antimicrobial capacity by disk diffusion test. The results found show us that chia seeds have high content of dietary fiber, lipids and protein, and low moisture. It was observed that chia seed extracts have antioxidant activity, wherein the extract with the best antioxidant characteristics was obtained through extraction by stirring at 60°C, using hydroethanol 80% solution as a solvent. The same did not present antimicrobial activity.

Keywords: chia, chemical composition, natural antioxidants, antioxidant capacity.

Introdução

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

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), antioxidantes são definidos como substâncias que retardam o aparecimento de alteração oxidativa no alimento (BRASIL, 1997). Todavia, a adição de antioxidantes sintéticos começou a ser restringida nos últimos anos, devido a diminuição da aceitação pelo consumidor e pelos efeitos danosos a saúde humana (MARTHA-ESTRELLA; NIOKHOR; STEVANOVIC, 2007).

Desta forma, uma boa alternativa para prevenir a oxidação lipídica em alimentos é a utilização de antioxidantes naturais, que apresentam uma melhor aceitação por parte dos consumidores. Frutas, vegetais, cereais e especiarias são produtos que tem despertado o interesse de pesquisadores uma vez que apresentam, em sua constituição, compostos com ação antioxidante, dentre os quais se destacam os compostos fenólicos (DIMITRIUS, 2006).

Sálvia hispânica ou chia é nativa da região que se estende do oeste central do México ao norte da Guatemala. É considerada uma cultura anual, de verão, pertencente a mesma família da menta (*Labiatae*). Seus grãos são ovalados e tem aproximadamente 2 mm de largura, com coloração preta ou marrom escura, com pontos brancos ou cinzas (COATES; AYERZA, 1996).

Embora a chia não seja um alimento muito conhecido, sua produção global está aumentando devido às suas propriedades saudáveis. A semente possui alto conteúdo de óleo (0,25 e 0,38 g de óleo/ g de semente) (IXTAINA et al., 2011), além de possuir alto conteúdo de proteína (0,19 a 0,23 g/ g de semente) (COATES; AYERZA, 1996) e fibra alimentar (0,339 g/ g de semente) (CRAIG; SONS, 2004).

Além disso, a semente de chia contém alguns compostos com potente atividade antioxidante tais como miricetina, quercetina, kaempferol e ácido caféico, que evitam a rancidez dos ácidos graxos insaturados nos alimentos que a contém. Sabe-se que a oxidação das sementes de chia é mínima ou nula, devido a presença destes compostos antioxidantes, possuindo um grande potencial dentro da indústria

de alimentos, se comparada com outras fontes de ácidos graxos poliinsaturados, como as sementes de linhaça, que apresentam rápida decomposição devido a ausência destes compostos antioxidantes (IXTAINA et al., 2011).

Sendo assim, este trabalho tem por objetivo analisar quimicamente a semente de chia, bem como avaliar o teor de compostos fenólicos, flavonóides totais e capacidade antioxidante *in vitro* pelos métodos de DPPH (capacidade de sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e FRAP (poder antioxidante de redução do ferro) dos extratos obtidos mediante extração por agitação utilizando diferentes temperaturas e concentrações de etanol, e ainda avaliar o poder antimicrobiano do extrato com as melhores características antioxidantes.

Materiais e Métodos

Amostras

As sementes de chia foram adquiridas em estabelecimento comercial da cidade de Santa Maria. Inicialmente as mesmas foram desidratadas em estufa com ar forçado, a 55 °C, por 24 horas. Em seguida moeu-se a amostra em moinho analítico refrigerado a 4 °C (Quimis, modelo Q 298A21, Brasil) com auxílio de banho ultratermostatizado (Solab, modelo SL-152/10) e depois padronizada em granulometria de 60 mesh (0,25 mm). Após foram acondicionadas em frasco âmbar e armazenadas em freezer até o momento das análises.

A preparação dos extratos e as análises dos mesmos foram realizadas nos Laboratórios do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

Caracterização química das sementes de chia

A determinação de umidade foi feita pela secagem em estufa a 105 °C até peso constante. A determinação do resíduo mineral fixo (cinzas) foi realizada pela incineração em mufla a 550 °C. As proteínas foram determinadas pelo método de Kjeldahl. O extrato etéreo foi obtido com extração da fração etérea em aparelho de Soxhlet. A fração fibra alimentar total foi determinada pelo método gravimétrico enzimático (método 985.28) e os carboidratos foram obtidos por diferença (AOAC, 2005).

Obtenção do extrato das sementes de chia (*Salvia hispânica*)

Para o delineamento experimental da obtenção dos extratos das sementes de chia foi utilizado um Planejamento Fatorial 2^2 com três repetições no Ponto Central, contendo as variáveis independentes concentração de etanol e temperatura, conforme a tabela 1. As concentrações foram definidas com base na metodologia descrita por Caudillo et al. (2008) com modificações.

Tabela 1 - Condições de extração utilizada na extração das sementes de chia por agitação, com base no planejamento fatorial 2^2 com triplicata no ponto central.

Extrato	Concentração de etanol (%)	Temperatura (°C)
	80	60
1	(+1)	(+1)
	50	60
2	(-1)	(+1)
	80	40
3	(+1)	(-1)
	50	40
4	(-1)	(-1)
	65	50
5	(0)	(0)
	65	50
6	(0)	(0)
	65	50
7	(0)	(0)

PC: ponto central corresponde as extrações 5, 6 e 7

Para obtenção do extrato por agitação as sementes de chia foram previamente desidratadas em estufa com ar forçado, a 55 °C, por 24 horas. Em seguida foram moídas em moinho analítico refrigerado a 4 °C (Quimis, modelo Q 298A21, Brasil) com auxílio de banho ultratermostatizado (Solab, modelo SL-152/10) e depois padronizada em granulometria de 60 mesh (0,25 mm), pesadas e adicionada de solvente (solução hidroetanólica 50, 65 e 80%) na proporção 1:10. Após adição do solvente, cada mistura foi levada ao banho ultratermostatizado a temperatura controlada (40, 50 e 60°C) (Solab, modelo SL-152/10) e submetida agitação constante utilizando agitador mecânico (Marconi MA-039) durante 60 minutos. Após os extratos foram filtrados em papel filtro e centrifugados a 3000 rpm por 20 min. Os extratos tiveram seus volumes completados com água destilada,

para que se mantivesse a concentração inicial, acondicionados em frascos âmbar e armazenados em freezer (-18 °C) até o momento das análises.

Determinação de compostos fenólicos totais

A determinação de fenólicos totais foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton (1965) com modificações. Em um balão volumétrico cada extrato foi diluído em etanol 70% na proporção 1:25 (v/v). Posteriormente uma alíquota (0,2 mL) da solução foi misturada a 1 mL de reagente de Folin-Ciocalteu 0,2 N. Após 6 minutos foi adicionado 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), e comparada com uma curva de calibração de ácido gálico $Y=0,081X+0,0218$, $R^2=0,9967$ (faixa de 0 a 70 mg/L). Os resultados foram expressos como miligramas equivalente ácido gálico por grama de amostra seca (mg EAG/g amostra seca).

Determinação do teor de flavonóides totais

O conteúdo total de flavonóides foi determinado usando o método colorimétrico descrito por Zhishen e Mengcheng (1999), com modificações. Resumidamente, 250 μL do extrato foi misturado com 1250 μL de água destilada em um tubo de ensaio, seguido pela adição de 75 μL de uma solução de nitrito de sódio (NaNO_2) 5%. Após 5 minutos, 150 μL de uma solução de tricloreto de alumínio (AlCl_3) a 10% foi adicionada e foi deixada repousando durante mais 5 minutos, e então adicionou-se 500 μL de NaOH 1M e 775 μL água destilada e a mistura foi agitada. A absorbância foi medida imediatamente a 510 nm utilizando espectrofotômetro (SP- 220 marca Biospectro, São Paulo, Brasil) e comparada com uma curva de calibração de quercetina $Y= 0,0082x + 0,0084$, $R^2= 0,9961$ (faixa de 0-80 mg/L). Os resultados foram expressos como miligramas equivalente de quercetina por grama de amostra seca (mg EQ/g amostra seca).

Determinação da atividade antioxidante

DPPH (Capacidade de seqüestro do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil)

A atividade antioxidante dos compostos presentes nos extratos das sementes de chia (*Salvia hispânica*) foram determinados por meio da capacidade de sequestro do radical livre DPPH (2,2 difenil-1-picril-hidrazil) segundo metodologia descrita por Brand-Williams (1995). A técnica consiste na incubação por 30 minutos, de 5 mL de uma solução etanólica (80% v/v) de DPPH 0,1 mM com 5 mL de soluções contendo concentrações crescentes de extrato de chia (0,7; 1,5; 3,0; 6,25; 12,5; 25,0; 50,0 mg/mL).

A solução “controle” consiste 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 517 nm. A porcentagem de atividade antioxidante (AA%) foi calculada através do percentual de captação do radical DPPH, conforme a Equação 1.

Equação 1:

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

Após a avaliação da faixa de concentração ideal, foi calculada a concentração necessária para capturar 50% do radical livre DPPH (IC₅₀).

FRAP (Poder Antioxidante de Redução do Ferro)

Para determinar o poder antioxidante de redução do ferro dos extratos foi utilizado o método descrito por Benzie e Strain (1996).

O reagente FRAP (solução Fe(III)-TPTZ) é obtido a partir da combinação de 25 mL de tampão acetato 0,3 M, 2,5 mL de uma solução de TPTZ (tripiridiltriazina) 10 mM (3,12 g de TPTZ em 1 L de HCl 40 mM) e 2,5 mL de uma solução aquosa de cloreto férrico 20 mM, devendo ser usado imediatamente após sua preparação. Em pH baixo, quando a férrico-tripiridiltriazina (Fe(III)-TPTZ) se reduz para a forma ferroso (Fe(II)), se desenvolve uma cor azul intensa, com um máximo de absorção a 593 nm.

Em tubo de ensaio foi adicionado 200 µL da amostra previamente diluída e 1,8 mL do reagente FRAP e foi mantido em banho-maria a 37 °C durante 30 min.

Após, a absorbância do complexo colorido formado com Fe^{2+} e TPTZ foi medido a 593 nm em espectrofotômetro (SP- 220 marca Biospectro, São Paulo, Brasil). Foi utilizado o reagente FRAP como branco.

O composto trolox (faixa de 0 a $25\mu\text{M}$) foi utilizado como padrão para a curva de calibração $Y = 0,0265x + 0,002$, $R^2 = 0,9968$, e os resultados foram expressos em a milimol de equivalentes trolox por grama amostra seca (mMol ET/g amostra seca)

Determinação da atividade antimicrobiana

O extrato de sementes de chia obtido por agitação a temperatura de 60°C e utilizando etanol 80% como solvente foi testado contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serovar *Enteritidis* ATCC 13076, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC10145 e *Escherichia coli* ATCC 25922. Foi realizado o teste de difusão em disco, conforme os procedimentos descritos pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2003). A partir de culturas recentes dos micro-organismos em teste, foi preparada suspensão em solução fisiológica estéril (NaCl 0,85%), a qual foi padronizada para 0,5 da escala Mac Farland. As suspensões foram semeadas na superfície do Ágar Müller-Hinton, em placas de Petri, com auxílio de swab estéril. Posteriormente, discos de papel, com 6 mm de diâmetro, foram impregnados com 10 μL do extrato e plaqueados no ágar previamente inoculado com o micro-organismo teste. Para controle negativo, os discos de papel foram embebidos em água destilada esterilizada e, para o controle positivo, foram usados discos com 30 μg de cloranfenicol. A atividade antibacteriana dos extratos de chia foi determinada pela medida do halo inibitório formado ao redor dos discos após 24 h de incubação a 37°C .

Análise estatística

As análises foram conduzidas em triplicata. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas entre si através do teste de Tukey, considerando o nível de significância de 95% ($p < 0,05$). Os gráficos e cálculos dos efeitos foram obtidos pelo programa computacional Statistica[®] 8.0 (STATSOFT, INC).

Resultados e Discussão

Caracterização química

A composição química das sementes de chia (*Sálvia hispânica*) está representada na Tabela 2.

Tabela 2: Composição centesimal das sementes de chia (*Sálvia hispânica*)

Frações	(g%)
Umidade	3,27± 0,192
Cinzas	5,45 ± 0,120
Proteína	23,17 ± 0,289
Extrato etéreo	28,35 ± 0,310
Fibra Alimentar	37,44 ± 0,413
Carboidratos	2,32±0,327

Médias ± Desvio Padrão das amostras em triplicata

De acordo com a Tabela 2, o teor de proteína bruta foi de 23,17 g % e o de extrato etéreo foi de 28,35 g %, mostrando que a semente de chia é boa fonte de proteína vegetal e lipídios. Tais resultados estão de acordo com Ayerza (1995) que relata que a semente de chia apresenta de 25-39% de lipídios e 19-27% de proteína.

Pode-se observar também que as sementes de chia tem um teor de fibra alimentar elevado, sendo os valores encontrados por este estudo de 37,44 g %. Os resultados encontrados estão de acordo com estudo realizado por Caudillo et al.(2008), onde foram encontrados valores de 36,97 a 39,94% de fibra alimentar em sementes de chia procedentes dos estados de Jalisco e Sinaloa, no México. O alto conteúdo de fibras de semente de chia pode melhorar a saciedade, regular o trânsito intestinal, diminuir o consumo de energia e promover perda de peso nos usuários (AYERZA; COATES; LAURIA, 2002).

As sementes de chia empregadas no presente trabalho apresentaram conteúdo de umidade baixo, 3,27 %, o que pode contribuir para maior estabilidade química e microbiológica das mesmas, e teores de cinza de 5,45 %. Estes dados diferiram ligeiramente dos resultados encontrados por Sargi et al. (2013), que encontraram 7,86% para umidade e 3,63% para cinzas.

Segundo Rodrigues (2005), a grande variabilidade existente nas características físico-químicas de vegetais pode ser atribuída a muitos fatores, entre eles a região onde o vegetal foi cultivado, diferenças climáticas, fertilidade e pH do solo e índices pluviométricos anuais.

Compostos fenólicos totais

Os resultados encontrados para teor de compostos fenólicos totais dos extratos de sementes de chia utilizando diferentes concentrações de etanol e temperaturas estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Teor de compostos fenólicos totais dos extratos de semente de chia expressos em mg EAG/g de amostra seca

Extrato	Condição de extração	Fenólicos totais
1	60°C, etanol 80%	2,639 ^a ±0,584
2	60°C, etanol 50%	0,860 ^c ±0,239
3	40°C, etanol 80%	2,187 ^{ab} ±0,158
4	40°C, etanol 50%	1,775 ^b ±0,077
5	50°C, etanol 65%	2,264 ^{ab} ±0,262
6	50°C, etanol 65%	2,279 ^{ab} ±0,233
7	50°C, etanol 65%	2,320 ^{ab} ±0,061

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

De acordo com a Tabela 3 pode-se observar que os extratos 1, 3 e os extratos do ponto central (5, 6 e 7) não apresentaram diferença estatística entre si e entre os demais ($p < 0,05$) para o conteúdo de compostos fenólicos totais. No entanto, o extrato 1 foi o que apresentou valor mais alto para teor de compostos fenólicos totais (2,639 mg EAG/g amostra seca).

Por outro lado, o extrato 2 apresentou diferença estatística ($p < 0,05$) em relação os demais, e foi o extrato que apresentou menor valor para conteúdo de compostos fenólicos (0,860 mg EAG/ g amostra seca).

Caudillo et al. (2008), ao analisar o conteúdo de compostos fenólicos de

extratos de semente de chia, encontrou valores de 8,8 mg EAG/g de amostra seca, utilizando extração por agitação com etanol 100% à temperatura ambiente durante 48 horas, sendo este resultado superior ao encontrado neste estudo.

Jimenez, Beltran-Orozco e Vargas (2010) encontraram valores de 1,104 mg EAG/g amostra analisando somente a fração fibrosa de sementes de chia.

O fato de haver diferenças nas metodologias utilizadas para elaboração de extratos dificulta a obtenção de resultados aproximados. 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 (MADSEN; BERTELSE, 1995). Segundo Mata et al.(2006) as variações encontradas nos teores dos compostos fenólicos totais ocorrem, ainda, devido às diferentes variações nas condições da extração, como tipo e concentração de solvente, proporção de amostra-solvente, temperatura e tempo de extração.

Buratto et al. (2011), ao analisar a concentração de compostos fenólicos totais em castanha do Pará encontraram valores de 2,00 mg EAG/g de amostra seca. Estudo realizado por Asolini, Tedesco e Carpes (2006), onde foram analisadas as concentrações de fenólicos de diversas plantas usadas como chás, os extratos etanólicos de sálvia e camomila apresentaram teores de compostos fenólicos em torno de 25 mg EAG/g, valores muito superiores aos encontrados no extrato de semente de chia.

Na Tabela 4, podem ser observados os efeitos das variáveis concentração de etanol e temperatura na variável de resposta conteúdo de compostos fenólicos.

Podem-se observar efeitos significativos ($p < 0,05$) de primeira ordem para as duas variáveis (concentração de etanol e temperatura) e efeitos de interação entre concentração de etanol e temperatura, sendo que a concentração de etanol, temperatura e interações destes influenciaram o teor de compostos fenólicos do extrato. Observa-se ainda que a interação entre concentração de etanol e temperatura influenciou positivamente na extração de compostos fenólicos, ou seja, aumenta a quantidade de compostos fenólicos extraídos.

Tabela 4: Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta conteúdo de compostos fenólicos

	Conteúdo de compostos fenólicos		
	Efeitos	Desvio Padrão	p
Média/Interação	2,047	0,010	<0,05*
(1) concentração de Etanol (%)	1,095	0,027	<0,05*
(2) Temperatura	-0,231	0,027	<0,05*
1X2	0,684	0,027	<0,05*

1x2= interação entre concentração de etanol e temperatura

Através dos cálculos dos efeitos comprovou-se que o aumento na concentração de etanol e a redução na temperatura contribuiu para aumento do teor de compostos fenólicos dos extratos.

Resultados semelhantes foram encontrados por Spagolla et al. (2009), em um estudo onde foram utilizadas diferentes concentrações de etanol e temperatura de 70°C para extração de compostos fenólicos de mirtilo. Os teores de compostos fenólicos totais sofreram aumento significativo quando a concentração de etanol variou de 40 para 60%.

Flavonóides Totais

Os valores encontrados para teor de flavonóides totais dos extratos de semente de chia obtidos por diferentes concentrações de etanol e temperaturas estão dispostos na Tabela 5.

Tabela 5: Teor de flavonóides totais dos extratos de semente de chia, expressos em mg EQ/g amostra seca

Extrato	Condição de extração	Flavonóides totais
1	60°C, etanol 80%	0,162 ^a ±0,003
2	60°C, etanol 50%	0,055 ^b ±0,014
3	40°C, etanol 80%	0,122 ^a ±0,002
4	40°C, etanol 50%	0,110 ^a ±0,027
5	50°C, etanol 65%	0,153 ^a ±0,035
6	50°C, etanol 65%	0,159 ^a ±0,008
7	50°C, etanol 65%	0,142 ^a ±0,013

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

De acordo com a tabela 5 somente o extrato 2 diferiu significativamente dos demais ($p < 0,05$), apresentando os menores valores para teor de flavonóides totais.

Buratto et al. (2011), ao analisar o teor de flavonóides totais em castanha do Pará obteve valores de 0,34 mg EQ/g de amostra seca, valores superiores aos encontrados nos extratos de semente de chia. Em estudo realizado por Lin e Tang (2007), onde foi avaliado o teor de flavonóides totais em vegetais, os valores encontrados foram de 0,075 mg EQ/ g para pimentão verde, 0,041 mg EQ/g para pimentão amarelo, valores mais próximos aos encontrados nos extratos de semente de chia, e 0,306 mg EQ/g para cebola branca.

Na Tabela 6 pode-se observar os efeitos das variáveis concentração de etanol e temperatura na variável de resposta conteúdo de flavonóides. Podem ser observados efeitos significativos ($p < 0,05$) somente de primeira ordem, para a concentração de etanol, que afetou positivamente o teor de flavonóides totais nos extratos.

Tabela 6: Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta conteúdo de flavonóides totais

	Flavonóides totais		
	Efeitos	Desvio Padrão	p
Média/Interação	3,232	0,087	<0,05*
(1) Concentração de etanol (%)	1,679	0,232	<0,05*
(2) Temperatura	0,025	0,232	0,923
1X2	1,000	0,232	0,050

1x2= Interação entre concentração de etanol e temperatura.

Efeitos contrários foram encontrados por Spagolla et al. (2009), onde o aumento na concentração de etanol de 40 para 80% causou redução significativa no teor de flavonóides totais encontrados em mirtilos.

A Tabela 7 apresenta a ANOVA para a resposta conteúdo de flavonóides. O teste-F assegurou a validade do modelo. Assim, utilizando este modelo para construção da superfícies de resposta permite-se a visualização do conteúdo de flavonóides em função das variáveis testadas.

Com os coeficientes de regressão obtidos pela ANOVA é possível testar a significância dos mesmos através da estatística *F* (*Fischer-Snedecor*). A estatística *F* determina a relação significativa entre a variável dependente e o conjunto de variáveis explicativas, testando-se as hipóteses: H0 (hipótese nula) se $1 = 2 = \dots = n = 0$ (não existe relação linear entre a variável dependente e o conjunto de variáveis explicativas), e H1 (hipótese alternativa) se pelo menos um coeficiente de regressão não é igual a zero, existe relação linear. Os valores críticos de *F* são obtidos em tabelas. Se *F* encontrado for maior que o *F* crítico, rejeita-se H0.

O valor de F calculado foi aproximadamente 3,6 vezes maior que o F tabelado (9,28). O teste-F assegurou a validade do modelo, já que o F calculado (33,50) foi maior que o F tabelado (9,28), para um intervalo de confiança de 95 %. Já o F da falta de ajuste (0,1091) foi aproximadamente 169 vezes menor que o F tabelado (18,51).

Tabela 7– Análise de Variância (ANOVA) para a resposta conteúdo de flavonóides

Fonte de variação	Soma quadrática	GL	Média quadrática	F calculado
Regressão	3,820	3	1,273	33,50
Resíduo	0,1142	3	0,038	
Falta de ajuste	0,005907	1	0,005907	0,1091
Erro puro	0,10832	2	0,05416	
total	3,93458	6		

O valor de F também é calculado para Falta de Ajuste para avaliar se o modelo está ou não bem ajustado, ou seja, valores altos de F significam muita falta de ajuste. Neste caso o valor de F calculado para Falta de Ajuste foi menor que o F tabelado, portanto o modelo encontrado para a resposta conteúdo de flavonóides totais foi preditivo e significativo, tornando adequada a sua utilização.

Assim, o modelo (Equação 2) foi utilizado na construção das superfícies de resposta, permitindo a visualização do comportamento do conteúdo de flavonóides em função das variáveis significantes.

Equação 2:

Conteúdo de flavonóides= 3, 233+0,8396 A+ 0,0126 +0,500 AB

Variáveis independentes: A=concentração de etanol, B=temperatura

A Figura 1 representa as superfícies de resposta e curvas de contorno que correlacionam as variáveis independentes concentração de etanol e temperatura com a variável dependente conteúdo de flavonóides totais facilitando a visualização da melhor região para obtenção do maior conteúdo de flavonóides.

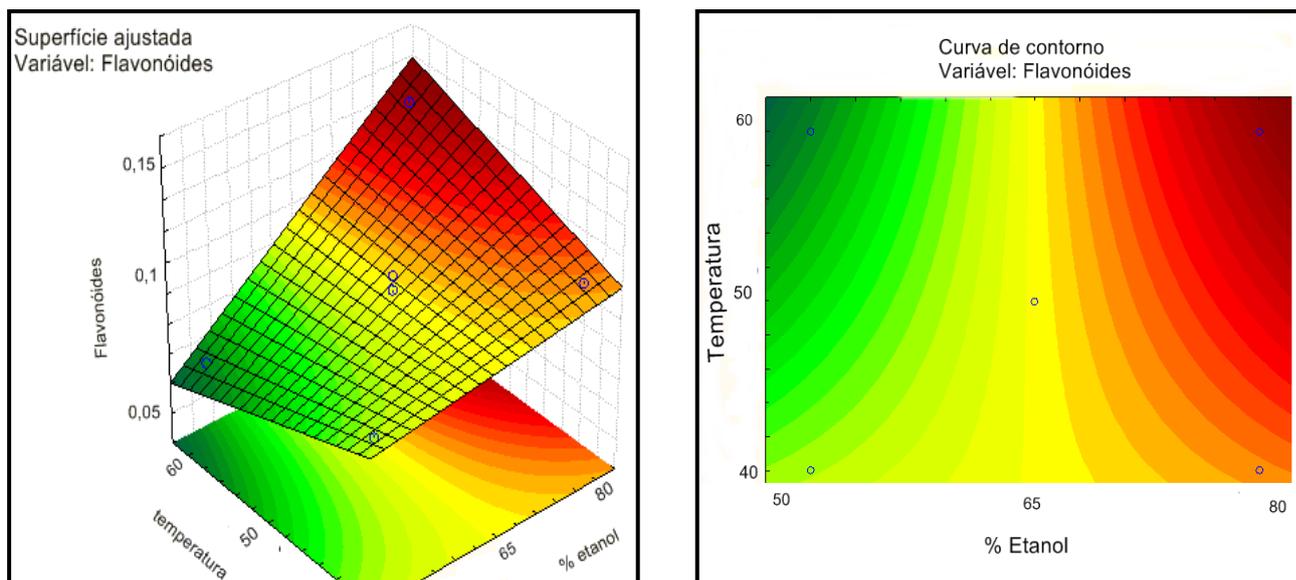


Figura 1 - Superfícies de resposta e curva de contorno considerando a variável conteúdo de flavonóides totais (%) em função das variáveis concentração de etanol e temperatura.

Através da interpretação da superfície de resposta (Figura 1) pode-se observar que quanto maiores as concentrações de etanol utilizadas na extração, maiores foram os teores de flavonóides obtidos. A temperatura não teve influência na variável flavonóides.

Determinação da atividade antioxidante

DPPH (Teste de seqüestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil)

Os resultados obtidos na determinação da atividade antioxidante *in vitro* pelo método de DPPH dos extratos de sementes de chia obtidos por diferentes concentrações de etanol e temperatura estão representados na Tabela 8.

Em relação ao percentual antioxidante, verifica-se que os extratos avaliados apresentaram valores superiores a 90% de seqüestro de radicais livres, exceto para o extrato 2 que apresentou valor 83,427%. Observa-se que o percentual antioxidante foi maior no extrato 1, onde foram utilizadas as maiores concentrações de etanol e temperaturas mais altas, apesar deste não apresentar diferença significativa ($p < 0,05$) em relação aos extratos 3 e 4.

Tabela 8: Atividade antioxidante máxima (%) e IC₅₀ (mg/mL) dos extratos de semente de chia

Extrato	Condição de extração	AA%	IC ₅₀
1	60°C, etanol 80%	94,900 ^a ±0,376	3,841 ^c ±0,118
2	60°C, etanol 50%	83,427 ^c ±0,111	8,237 ^a ±0,430
3	40°C, etanol 80%	94,759 ^a ±0,168	4,105 ^{bc} ±0,202
4	40°C, etanol 50%	93,811 ^{ab} ±0,437	4,943 ^b ±0,324
5	50°C, etanol 65%	91,961 ^b ±0,269	3,901 ^c ±0,262
6	50°C, etanol 65%	91,336 ^b ±0,206	4,365 ^{bc} ±0,551
7	50°C, etanol 65%	91,461 ^b ±0,174	5,110 ^b ±0,494

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

O IC₅₀ é um parâmetro usado para determinar o potencial antioxidante das plantas. Ele demonstra a quantidade de extrato da planta que é necessária para capturar em 50% o radical DPPH. Quanto maior o IC₅₀, maior será a quantidade necessária de substância para exercer a atividade antioxidante, dessa forma, um baixo IC₅₀ significa que a planta tem um grande poder antioxidante (NEGRI, 2007).

De acordo com a definição de Sousa et al. (2007), quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será seu IC₅₀ e conseqüentemente maior a sua atividade antioxidante. Portanto, os resultados obtidos para a atividade antioxidante *in vitro*, utilizando-se o método do DPPH, segundo a Tabela 8, mostraram que o extrato 1, apesar de não demonstrar diferença estatística ($p < 0,05$) em relação aos extratos 3, 5 e 6 foi o que apresentou atividade antioxidante superior, apresentando um menor valor de IC₅₀ (3,841 mg/mL), enquanto que no extrato 2, que diferiu significativamente dos demais ($p < 0,05$), foi encontrado o maior valor de IC₅₀ (8,237mg/mL), indicando uma menor atividade antioxidante.

A planta *Ginkgo biloba*, considerada com alta atividade antioxidante, apresentou um IC₅₀ de 0,04072 mg/mL, em experimento conduzido por Mensor et al. (2001). Milani et al. (2011) ao analisarem a atividade antioxidante de extrato bruto de caqui, encontrou valores de IC₅₀ de 0,2467 mg/mL.

O extrato de sementes de chia apresenta atividade antioxidante baixa quando comparada a outros estudos citados acima, no entanto, apresenta melhor ação antioxidante do que extratos de hortelã (*Mentha arvensis*), com IC₅₀ 17,40 mg/mL, obtida em estudo feito por Morais (2009).

Na Tabela 9 pode-se observar os efeitos das variáveis concentração de etanol e temperatura na variável de resposta IC₅₀.

Tabela 9: Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta IC₅₀

	IC ₅₀		
	Efeitos	Desvio Padrão	p
Média/Interação	0,129	0,003	<0,05*
(1) Concentração de Etanol (%)	0,059	0,008	<0,05*
(2) Temperatura	-0,007	0,008	0,47
1X2	0,046	0,008	<0,05*

1x2= interação entre concentração de etanol e temperatura

Podem ser observados efeitos significativos ($p < 0,05$) de primeira ordem somente para concentração de etanol e efeito de interação entre concentração de etanol e temperatura, sendo que a concentração de etanol e a interação entre concentração de etanol e temperatura influenciaram no valor do IC₅₀. Observa-se que a interação entre concentração de etanol e temperatura influenciou positivamente no valor do IC₅₀.

Através do cálculo dos efeitos comprovou-se que o aumento na concentração de etanol aliado a um aumento na temperatura contribuiu positivamente para a variável IC₅₀, indicando uma maior atividade antioxidante.

Efeitos semelhantes foram encontrados em estudo conduzido por Caetano et al. (2009), no qual foram usadas diversas concentrações de etanol para extração de antioxidantes de resíduo de acerola. Os resultados obtidos mostraram que, quanto maior a concentração de etanol usado na extração, maior foi a capacidade de sequestro do radical livre DPPH, e portanto, menores os valores de IC₅₀. Os resultados encontrados não foram dependentes da temperatura, diferindo do

presente estudo, onde a temperatura, assim como a concentração de etanol, influenciou positivamente nos resultados.

FRAP (Poder antioxidante de redução do ferro)

Os valores encontrados para FRAP (poder antioxidante de redução do ferro) dos extratos de semente de chia obtidos por diferentes concentrações de etanol e temperatura estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10: FRAP (Poder antioxidante de redução do ferro) para os extratos de semente de chia expresso em mMol ET/g de amostra seca

Extrato	Condição de extração	FRAP
1	60°C, etanol 80%	0,045 ^a ±0,004
2	60°C, etanol 50%	0,018 ^c ±0,003
3	40°C, etanol 80%	0,035 ^b ±0,003
4	40°C, etanol 50%	0,028 ^b ±0,002
5	50°C, etanol 65%	0,030 ^b ±0,002
6	50°C, etanol 65%	0,032 ^b ±0,001
7	50°C, etanol 65%	0,034 ^b ±0,002

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

Os extratos 1 e 2 apresentaram diferença significativa entre si ($p < 0,05$) e dos demais, e correspondem aos valores máximo e mínimo (0,045 e 0,018 mMol ET/g amostra seca, respectivamente) encontrados para FRAP dos extratos de semente de chia. Já os demais extratos não apresentaram diferença significativa entre si ($p < 0,05$). Desta forma, o extrato 1 apresentou melhores características antioxidantes, segundo o método de FRAP.

Os resultados encontrados neste estudo são inferiores aos encontrados por Sargi et al. (2013), que encontraram valores de 2,86 mMol ET/g de amostra seca para FRAP de extratos de semente de chia. O mesmo estudo encontrou valores de 0,33 e 4,01 mMol ET/g de amostra seca para extratos de sementes de linhaça dourada e perila, respectivamente.

Esta variação nos valores de FRAP de extratos de sementes de chia em diferentes estudos pode ter sido devido a dependência da composição da amostra de fatores como condições climáticas e localização geográfica (MEZADRI et al, 2008). Um fator que limita a comparação de estudos é o procedimento de extração utilizado, uma vez que é um processo crítico para algumas matrizes, em particular quando pode haver componentes insolúveis com capacidade antioxidante, que levam a subestimar os valores de Equivalentes Trolox em alguns casos (SERPEN; GOKMEN; FOGLIANO, 2012).

Em estudo realizado por Bagetti et al. (2009), onde foi analisado a atividade antioxidante de sementes de pitanga roxa, vermelha e laranja, o valor do poder antioxidante de redução do ferro encontrado foi maior para semente de pitanga roxa, 0,262 mMol ET/g de amostra seca, seguido de 0,064 e 0,061 mMol ET/g amostra seca, respectivamente, para as sementes de pitanga laranja e vermelha.

Na Tabela 13 encontram-se os efeitos das variáveis concentração de etanol e temperatura na variável FRAP. Não foram observados efeitos significativos ($p < 0,05$) para nenhuma das variáveis avaliadas.

Tabela 13: Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta FRAP

	FRAP		
	Efeitos	Desvio Padrão	p
Média/Interação	5,024	0,230	<0,05*
(1) Concentração de Etanol (%)	-2,283	0,609	0,064
(2) Temperatura	1,181	0,609	0,192
1X2	-2,112	0,609	0,074

1x2= interação entre concentração de etanol e temperatura

Os resultados encontrados diferem do estudo de Rockenbach et al. (2008), onde foi investigado o poder antioxidante de redução do ferro (FRAP) de extratos de bagaço de uva da variedade *Tannat* utilizando diferentes concentrações de etanol. Os resultados encontrados pelo estudo mostraram que o valor de FRAP aumentou a medida que se aumentou a proporção de etanol nas extrações, chegando a valores máximos de 0,592 mMol ET/g de amostra seca quando utilizado etanol 70%.

Atividade antimicrobiana dos extratos de semente de chia

O extrato de sementes de chia obtido por agitação a 60°C e utilizando etanol 80% como solvente não demonstrou atividade antimicrobiana sobre os micro-organismos *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serovar *Enteritidis* ATCC 13076, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC10145 e *Escherichia coli* ATCC 25922, segundo o teste de difusão em disco (dados não apresentados).

O resultado obtido no teste de difusão em disco sugere ausência de atividade antimicrobiana das substâncias presentes no extrato hidroetanólico 80% de sementes de chia, ou pequena concentração das mesmas, não atingindo a concentração inibitória mínima para os micro-organismos em teste.

Conclusão

As sementes de chia possuem alto teor de óleo, proteínas e fibra alimentar.

O extrato obtido por agitação a 60°C utilizando etanol 80% como solvente foi o que apresentou maior atividade antioxidante, comprovada pelos métodos de DPPH e FRAP, e maior conteúdo de compostos fenólicos e flavonóides totais.

O extrato com melhores características antioxidantes não apresentou atividade antimicrobiana, pelo teste da difusão em disco.

Estudos futuros serão necessários para as etapas de identificação e caracterização dos compostos responsáveis pela atividade antioxidante dos extratos de semente de chia.

Agradecimentos

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de estudos de mestrado ao primeiro autor.

Referências bibliográficas

AOAC. Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists. 18. ed. Gaithersburg, Maryland, 2005.

ASOLINI, F. C.; TEDESCO, A. M.; CARPES, S. T. Antioxidant and Antibacterial Activities of Phenolic Compounds from Extracts of Plants Used as Tea. *Brasilian Journal of food technology*, v.9, n.3, p. 209-215, 2006.

AYERZA, R. Oil content and fatty acid composition of chia (*Salvia hispanica* L.) from five northwestern locations in Argentina. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v.72, n. 9, p.1079–1081, 1995.

AYERZA, R.; COATES, W.; LAURIA, M. Chia seed (*Salvia hispanica* L.) as a omega-3 fatty acid source for broilers: influence on fatty acid composition, cholesterol and fat content of white and dark meats, growth performance, and sensory characteristics. *Poultry Science*, v.81, p.826-837, 2002.

BAGETTI, M.; FACCO, E. M.; RODRIGUES, D. B.; VIZZOTTO, M.; EMANUELLI, T. Antioxidant capacity and composition of pitanga seeds. *Ciência Rural*, v.39, n. 8, p. 2504-2510, 2009.

BENZIE, I. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, v 239, p. 70-76, 1996.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. The phenolic constituents of *Prunus domestica* L.-The quantitative analysis of phenolic constituents. *Lebensm Wiss Technology*, v. 28, p. 25-30, 1995.

BURATTO, A. P.; CARPES, S. T.; VECCHIA, P.; SCHROLL, E. M.; APPELT, P. Determinação da atividade antioxidante e antimicrobiana em castanha-do-pará (*Bertholletia excelsa*). *Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos*, v.2, n.1, p 60-65, 2011.

CAETANO, A. C. S.; MELO, E. A.; LIMA, V. L. G.; ARAÚJO, C. R.; Extração de antioxidantes de resíduos agroindustriais de acerola. *Brazilian Journal Food Technology*, v. 12, n. 2, p. 155-160, 2009.

CAUDILLO, E. R.; TECANTE, A.; VALDIVIA, M. A.; LOPEZ, L. Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *Food Chemistry*, v. 107, p. 656-663, 2008.

COATES, W.; AYERZA, R. Production potential of chia in north-western Argentina. *Industrial Crop Production*, v. 5, p. 229-233, 1996.

CRAIG, R.; SONS, M. Application for approval of whole chia (*Salvia hispanica* L.) seed and ground whole chia as novel food ingredients. Advisory Committee for Novel Foods and Processes, p. 1–29, 2004.

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

IXTAINA, V. Y.; MARTÍNEZ, M. L.; SPOTORNO, V.; MATEO, C. M.; MAESTRI, D. M.; DIEHL, B. W. K.; ET AL. Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. *Journal of Food Composition Analysis*, v. 24, n. 2, p. 166-174, 2011.

JIMENEZ F. E.; BELTRAN-OROZCO M.C.; VARGAS M. G. The antioxidant capacity and phenolic content of chia's (*Salvia hispánica L.*) integral seed and oil. *Journal of Biotechnology*, v. 150, p. 315, 2010.

LIN, J. Y.; TANG, C. Y. Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food Chemistry*, v. 101, n. 1, p. 140–147, 2007.

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

MARTHA-ESTRELLA, G. P.; NIOKHOR, D. P.; STEVANOVIC, T.; Comparative study of antioxidant capacity of yellow birch twigs at ambient and high temperatures. *Food Chemistry*, v. 107, n. 1, p. 344-351, 2007.

MATA, A.T.; PROENÇA, C.; FERREIRA, A.R.; SERRALHEIRO, M.L.M.; NOGUEIRA, J.M.F. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chemistry*, v.103, n.3, p.778-786, 2006.

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

MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; SANTOS, T. C.; CINTIA, S.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy Research*, v. 15, n. 2, p. 127-130, 2001.

MEZADRI, T. et al. Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruits and derivatives. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 21, n.4, p. 282-290, 2008.

MILANI, L. I. G.; TERRA, N. N.; FRIES, L. L. M.; REZER, A. A. S.; CICHOSKI, A. J.; BACKES, A. M. In vitro antioxidant and antimicrobial properties of persimmon (*Diospyros kaki L. cv. Rama Forte*) extracts. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 15, n. 2, p. 118-124, 2012.

MORAIS, S.; Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 19, n. 1, p. 315-320, 2009.

NACIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS - NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. 8. ed. Wayne: NCCLS, 2003. 58 p. NCCLS document M2-A8.

NEGRI, M. L. S. *Secagem das folhas de Espinheira-Santa – Maytenus ilicifolia Mart. Ex Reiss. sob diferentes temperaturas e influência nos teores de polifenóis, na atividade antioxidante e nos aspectos microbiológicos.* 2007. 95.f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

ROCKENBACH, I. I.; SILVA, G. L.; RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades *Tannat* e *Ancelota*. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 28, p. 238-244, 2008.

RODRIGUES, L. J. *O pequi (Caryocar brasiliense Camb.): ciclo vital e agregação de valor pelo processamento mínimo*. 2005. 164 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

SARGI, S. C.; SILVA, B. C.; SANTOS, H. M.; MONTANHER, P. F.; BOEING, J. S.; SANTOS, O., O.; SOUZA, N., E.; VISENTAINER, J., V. Antioxidant capacity and chemical composition in seeds rich in omega-3: chia, flax, and perilla. *Food Science and Technology*, v. 33, n. 3, p. 541-548, 2013.

SERPEN, A.; GÖKMEN, V.; FOGLIANO, V. Total antioxidant capacities of raw and cooked meats. *Meat Science*, v. 90, n.1, p. 60-65, 2012.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

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

SPAGOLLA, L. C.; SANTOS, M. M.; PASSOS, L. M. L.; AGUIAR, C .L. Extração alcoólica de fenólicos e flavonóides totais de mirtilo "Rabbiteye" (*Vaccinium ashei*) e sua atividade antioxidante. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 30, n. 2, p. 187-191, 2009.

ZHISHEN, J., MENGCHENG, T. AND JIANMING, The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, v. 64, n. 4, p. 555-559, 1999.

4.2 Artigo Científico 2

A ser submetido à revista, escrito segundo as normas exigidas pela MDT.

EFEITO DO EXTRATO DE SEMENTES DE CHIA (*Sálvia hispânica*) SOBRE AS CARACTERÍSTICAS DE LINGUIÇA FRESCAL DE CARNE SUINA

EFFECT OF CHIA SEEDS EXTRACT (*Sálvia hispânica*) OVER FRESCAL PORK SAUSAGE CHARACTERISTICS

Gabrielle Scapin¹; Michele Mantelli Schimdt¹; Rosa Cristina Prestes²; Sabrina Ferreira¹; Ariadini Franco Coelho da Silva³; Claudia Severo da Rosa^{2*}

¹ Aluna de Mestrado, Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria – UFSM;

² Professora, Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria – UFSM;

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

*A quem a correspondência deve ser enviada, Av. Roraima n° 1000, Prédio 42, Cidade Universitária, Bairro Camobi, CEP 97105-900, Santa Maria, RS – Brasil, Fone: +55 55 3220 8254, e-mail: claudiasr37@yahoo.com.br

Resumo

O presente estudo teve por objetivo verificar o efeito do extrato de semente de chia (*Sálvia hispânica*) sobre a estabilidade físico-química, microbiológica e sensorial de linguiça frescal de carne suína durante o armazenamento refrigerado a 4°C. Na elaboração das linguiças, o extrato foi utilizado nas concentrações de 0%, 1%, 1,5% e 2,0%. Foram realizadas as análises de umidade, proteínas, cinzas, gordura e carboidratos. As linguiças foram analisadas a cada sete dias em relação ao pH, cor, índice de TBARS e análises microbiológicas. A análise sensorial foi avaliada através do teste de aceitabilidade com escala hedônica de sete pontos e teste de intenção de compra com escala hedônica de cinco pontos. Os resultados obtidos na composição centesimal mostraram que as linguiças estão de acordo com o Padrão de Identidade e Qualidade do Produto. As análises microbiológicas para *Staphylococcus* coagulase positiva, Coliformes a 35 ° C e a 45 ° C, *Samonella* sp e

Clostridium sulfito redutor dos produtos estão de acordo com o exigido pela Resolução RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001. O pH da linguiça apresentou um aumento ao longo do tempo de armazenamento. Com relação à cor do produto, as linguiças apresentaram uma tendência ao escurecimento. Ao fim de 28 dias de armazenamento, os valores de TBARS foram de 1,129 mg de MDA/kg para o tratamento com 2% de extrato de chia e 1,640 mg de MDA/ kg para o tratamento controle. O extrato de semente de chia não apresentou efeito sobre a estabilidade microbiológica ao longo do armazenamento, avaliada pela contagem de microorganismos aeróbios mesófilos totais e psicrotóxicos. As características sensoriais foram mantidas, demonstrando boa aceitabilidade pelo consumidor. O extrato de semente de chia (*Sálvia hispânica*) na concentração de 2% mostrou ser capaz de inibir a oxidação lipídica da linguiça de carne suína nas condições de embalagem permeável ao oxigênio e temperatura de refrigeração (+ 4°C), sendo viável sua aplicação como um antioxidante natural.

Palavras-chave: linguiça suína, chia, estabilidade oxidativa, antioxidante natural.

Abstract

The present study had as objective verify the effect of extract of chia seeds (*Sálvia hispânica*) over physico-chemical stability, microbiological and sensorial of frescal pork sausage during refrigerated storage at 4°C. In the sausages elaboration, the extract was used at concentrations of 0%, 1%, 1.5% and 2.0%. Were performed the moisture, proteins, ashes and fat, and carbohydrates. The sausages were analyzed every seven days regarding pH, color, TBARS values and microbiological analyzes. The sensorial analysis was measured through the acceptability test with hedonic scale of seven points and purchase intent test with five-point hedonic scale. The results obtained in the proximate composition showed that the sausages are in agreement with the Identity and Quality Standard. Microbiological tests for positive *Staphylococcus* coagulase, Coliforms 35°C and 45°C, *Salmonella* sp and *Clostridium sulfito* products reducer are in agreement with what is required by RDC Resolution nº 12 of January 2nd, 2001. The pH of the sausage showed an increase throughout time in storage. Regard to the color of the product, the sausages had a tendency to browning. After 28 days of storage, the TBARS values were 1.129 mg MDA/Kg for the treatment with 2% of chia extract and 1.640 mg MDA/kg to the control treatment.

The chia seed extract did not present effects over the microbiological stability along the storage, measured by counting the total mesophilic aerobic microorganisms and psicrotrofigs. The sensorial features were kept, showing good acceptability by consumers. The extract of chia seeds (*Sálvia hispânica*) with 2% of concentration showed us to be able to inhibit lipid oxidation of pork sausage in conditions with permeable packaging to oxygen and refrigeration temperature (+4°C), so it can be applied as a natural antioxidant.

Keywords: pork sausage, chia, oxidative stability, natural antioxidant.

Introdução

Os lipídeos estão sujeitos a reações de oxidação que comprometem a sua qualidade. Uma das principais reações deteriorativas dos produtos cárneos é a oxidação lipídica, que limita a vida de prateleira e a estabilidade comercial destes alimentos, sendo responsável por graves prejuízos na indústria alimentar (TERRA, 2008).

Os produtos desta reação são indesejáveis, não somente pela modificação de características organolépticas (alterações na coloração da carne e da gordura e produção de odores e *flavours* ofensivos), mas também, pela destruição de constituintes essenciais, ocasionando o decréscimo do valor nutricional dos alimentos e a formação de compostos tóxicos para o organismo humano, tornando-o impróprio para o consumo (BRUM, 2009; YUNES, 2010).

A prevenção da oxidação lipídica é uma das principais buscas da indústria cárnea, sendo que um método alternativo para reduzir a oxidação lipídica é incluir antioxidantes, os quais não devem afetar a qualidade sensorial da carne e devem ser eficazes a baixas concentrações (FRANCO et al., 2012). O interesse por antioxidantes naturais recentemente tem aumentado devido a percepção negativa dos consumidores sobre a segurança dos antioxidantes sintéticos, os quais tem sido restringidos devido ao seu potencial de carcinogênese, bem como outros efeitos maléficis a saúde (VELASCO, 2005).

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)

Ixtaina et al. (2011) relata que a semente de chia (*Sálvia hispânica*) contém alguns compostos com potente atividade antioxidante tais como miricetina, quercetina, kaempferol e ácido caféico, que evitam a rancidez dos ácidos graxos insaturados nos alimentos que a contém. Entretanto, a avaliação da atividade antioxidante das sementes de chia aplicadas em produtos cárneos não é bem conhecida, fornecendo, dentre outras, uma importante razão para incorporá-la a linguiça de carne suína.

Sendo assim, o objetivo deste estudo foi determinar o efeito do extrato de sementes de chia (*Sálvia hispânica*) sobre a estabilidade físico-química, microbiológica e sensorial de linguiça frescal de carne suína durante o armazenamento refrigerado a 4°C.

Materiais e Métodos

Matéria prima

A carne suína foi doada pela Cooperativa Aurora Alimentos – Chapecó, SC. Os demais ingredientes utilizados na formulação das linguiças foram adquiridos em estabelecimentos comerciais do município de Santa Maria – RS.

Obtenção do extrato de sementes de chia

O extrato foi obtido por agitação segundo metodologia descrita por Caudillo *et al* (2008) com modificações. O extrato foi preparado a partir das sementes de chia previamente desidratadas em estufa com ar forçado, a 55 °C, por 24 horas. Em seguida foram moídas em moinho analítico refrigerado a 4 °C (Quimis, modelo Q 298A21, Brasil) com auxílio de banho ultratermostatizado (Solab, modelo SL-152/10) e depois padronizada em granulometria de 60 mesh (0,25 mm), pesadas e adicionada de solução hidroetanólica 80% na proporção 1:10. Após adição do solvente, a mistura foi levada ao banho ultratermostatizado a temperatura controlada de 60°C (Solab, modelo SL-152/10) e submetida agitação constante utilizando agitador (Marconi MA-039) durante 60 minutos. Após o extrato foi filtrado em papel filtro e concentrado em rotaevaporador a vácuo (Fisatom 802) utilizando temperatura

de 60°C, para a evaporação do etanol. Em seguida foi completado seu volume com água destilada, para manter a concentração inicial, e acondicionado em frascos âmbar.

Elaboração da linguiça de carne suína

Para elaboração das linguiças de carne suína foi levado em consideração os procedimentos descritos por Terra (1998) (Tabela 1). A linguiça de carne suína foi elaborada a partir da moagem da carne (Moedor Jamar PJ22, Jamar Ltda, São Paulo Brasil) utilizando disco de 10 mm e transportada até a misturadeira (Jamar MJ1 35) para receber os demais ingredientes, incluindo concentrações pré-definidas de extrato de semente de chia, e misturados até a obtenção da liga. Os tratamentos foram os seguintes:

Controle – sem adição de extrato de chia (0% EC);

Tratamento 1 – adição de extrato de chia a 1% (1% EC);

Tratamento 2 – adição de extrato de chia a 1,5% (1,5% EC);

Tratamento 3 – adição de extrato de chia a 2% (2% EC).

Tabela 1: Formulação de linguiça de carne suína

Ingredientes	Quantidade (%)
Carne suína	92-94
Água/gelo	3
Sal comum	2,2
Cura rápida	0,25
Pimenta branca moída	0,1
Alho moído	0,2
Realçador de sabor	0,05
Eritorbato de sódio	0,1
Condimento para linguiça toscana	0,1
Extrato de sementes de chia	0-2

As massas cárneas foram embutidas em tripas suínas higienizadas com ácido acético 1% e atadas em gomos e, em seguida, foram embaladas em sacos plásticos e identificadas. Para armazenamento as linguiças foram conservadas à temperatura de +4 °C (± 1 °C)

Análise do produto

Composição centesimal

Primeiramente as amostras foram trituradas em multiprocessador até formação de uma pasta homogênea. A determinação de umidade foi feita pela secagem em estufa a 105 °C até peso constante. A determinação do resíduo mineral fixo foi realizada pela incineração em mufla a 550 °C. As proteínas foram determinadas pelo método de Kjeldahl. Os carboidratos foram obtidos por diferença das demais frações (AOAC, 2005).

Os lipídios foram determinados através do método butirométrico, o qual se fundamenta no ataque seletivo da matéria orgânica por meio do ácido sulfúrico, com exceção da gordura que é separada por centrifugação, auxiliada pelo álcool amílico que modifica a tensão superficial, segundo Terra e Brum (1988).

Determinação do pH

A medida do pH foi realizada nos 1º, 7º, 14º, 21º, 28º dias de armazenamento das linguças. Foram homogeneizadas dez gramas de amostra com água destilada (1:10 p/v) no liquidificador. O homogeneizado foi submetido aos eletrodos do pHmetro Digimed, e as leituras foram feitas em triplicata (TERRA; BRUM, 1988).

Determinação da cor

A coloração foi determinada utilizando o colorímetro (Minolta Chroma Meter CR-300), medida nos 1º, 7º, 14º, 21º e 28º dias de armazenamento. Os resultados foram expressos como L^* , que representa a porcentagem de luminosidade variando de preto (0%) a branco (100%); 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.

Oxidação lipídica – TBARS

A avaliação da oxidação lipídica das linguças foi conduzida pelo teste das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARs) segundo Raharjo, Sofos e Schimidt (1992).

A técnica consiste em pesar-se 10g de amostra em um tubo de Falcon, após é adicionado 36 mL de ácido tricloroacético (TCA) 5%, 4 ml de sulfonilamida 0,5% e 1 mL do antioxidante sintético butilhidroxitolueno (BHT) 0,15%. A amostra foi agitada por um minuto em vortex e filtrado 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, foi retirado uma alíquota de 2 mL e transferido para tubo de ensaio, onde foi adicionado 2 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 1º, 7º, 14º, 21º, 28º dias de armazenamento e os resultados expressos em mg de malonaldeído/ kg de amostra.

Análises microbiológicas

As análises de *Staphylococcus* coagulase positiva, Contagem de coliformes a 35 °C e a 45 °C, *Salmonella sp* e *Clostridium sulfito* redutor foram realizadas apenas no 1º dia de armazenamento do produto (BRASIL, 2003). Já as análises de microorganismos mesófilos totais e psicrotróficos foram realizadas no 1º, 7º, 14º, 21º, 28º dias de armazenamento do produto a +4 °C (± 1 °C) (APHA, 2001).

Análise sensorial

A análise sensorial foi realizada com 50 provadores não treinados, os quais foram alunos, professores e funcionários do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos. Antes da avaliação os provadores foram instruídos a ler e assinar o termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A) 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.

Para avaliação das linguiças de carne suína foi utilizado o teste de aceitação, através de uma escala hedônica estruturada de sete pontos (onde 7 corresponde a Gostei muitíssimo e 1 corresponde a Desgostei muitíssimo) em relação a cor, odor, sabor e aparência. Em relação à intenção de compra das linguiças, foi utilizado o teste de atitude com avaliação através de escala de cinco pontos (onde 5 corresponde a Decididamente eu compraria e 1 corresponde a Decididamente eu

não compraria) (DUTCOSKY, 2011). A ficha utilizada para a análise sensorial encontra-se no Apêndice B.

A análise ocorreu no 10^o dia após elaboração do produto, no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, em cabines individuais, no período da manhã entre 9 e 11 horas. As amostras de linguças de cada tratamento foram assadas por 45 minutos em temperatura de 180°C, fatiadas e codificadas com 3 dígitos aleatórios e apresentadas de forma monádica aos provadores em pratos descartáveis.

Análise Estatística

As análises foram conduzidas em triplicata. Os resultados submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas entre si através do teste de Tukey, considerando o nível de significância de 95% ($p < 0,05$). Os resultados foram analisados através do programa Statistica 8.0 (STATSOFT, INC).

Resultados e discussão

Composição centesimal

Os resultados encontrados para composição centesimal da linguça de carne suína podem ser visualizados na Tabela 2.

Os resultados encontrados para a composição centesimal, segundo a tabela 2, mostram que os produtos estão de acordo com o Padrão de Identidade e Qualidade do produto (BRASIL, 2000), que estabelece o valor máximo de 70% para umidade, valor máximo de 30% para gordura, valor mínimo de 12% para proteína e máximo de 0,1% para cálcio. A legislação para linguça frescal não define padrão para as cinzas.

Tabela 2: Composição centesimal de linguiça frescal de carne suína adicionada de diferentes concentrações de extrato de semente de chia (*Sálvia hispânica*) armazenada a 4°C por 28 dias.

Tratamentos	Umidade(%)	Proteína(%)	Cinzas(%)	Gordura(%)	Carboidratos(%)
0% EC	56,58±0,26 ^a	12,97±0,09 ^a	3,28±0,01 ^a	24,85±0,14 ^a	2,32±0,40 ^a
1% EC	56,86±0,22 ^a	12,90±0,11 ^a	3,18±0,08 ^{ab}	24,81±0,14 ^a	2,25±0,35 ^a
1,5 % EC	56,98±0,11 ^a	12,55±0,36 ^a	3,06±0,01 ^b	24,88±0,10 ^a	2,53±0,25 ^a
2% EC	56,69±0,23 ^a	12,80±0,18 ^a	3,22±0,056 ^a	24,88±0,14 ^a	2,41±0,38 ^a

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

Médias ± desvio padrão de análises em triplicata.

EC= Extrato de chia

Observa-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) somente para os percentuais de cinzas. Os teores de umidade, proteína, gordura e carboidratos não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos.

Hayes et al. (2011) ao avaliar o efeito de plantas nutracêuticas na qualidade e tempo de prateleira de linguiças de suínas cruas encontraram valores de 22,6 – 24,8% para gordura e 60,9- 62,2% para umidade. Em estudo com pigmentos naturais na estabilidade oxidativa de linguiças suínas mantidas sob refrigeração Mercadante et al. (2010) encontraram valores inferiores a este estudo para proteína (13,5-14,7 %) e superiores para cinzas (3,5-3,7%). Valencia et al. (2008) ao analisar linguiças suínas frescas disponíveis comercialmente encontrou valores de 29,04 a 33,72% para gordura e de 44,69 a 48,68% para umidade.

As diferenças na composição centesimal encontradas entre os trabalhos citados pode ser atribuída a formulação de linguiça utilizada, o tipo de carne, a quantidade de gordura, proteína e umidade da matéria prima utilizada, entre outros fatores.

pH

O pH de um alimento não exerce apenas influência sobre a velocidade de multiplicação dos micro-organismos, mas também interfere na qualidade dos

mesmos, durante o armazenamento, tratamento térmico, dessecação, ou durante qualquer outro tipo de tratamento, sendo também responsável direto pela deterioração de produtos alimentícios (SILVA, 2000).

Os resultados do efeito do extrato hidroetanólico de sementes de chia (*Sálvia hispânica*) no pH de linguiça frescal de carne suína armazenada a 4°C durante 28 dias são apresentados na Tabela 3.

De acordo com a tabela 3 pode-se observar uma tendência de aumento nos valores de pH de todos os tratamentos analisados, em relação ao tempo de armazenamento. Resultados semelhantes foram relatados por Brannam (2008), onde ocorreu aumento no pH em carne de frango refrigerada e por Georgantelis et al. (2007) em um estudo com linguiça de carne suína refrigerada por 20 dias. Tal fato é atribuído a uma elevação nas contagens de micro-organismos psicrotóxicos, produtores de protease. Quando inicia-se a produção de proteases pelas bactérias, estas passam a utilizar aminoácidos como substrato de crescimento, ao invés de utilizarem a glicose. A utilização de aminoácidos leva ao aumento do pH, devido a formação de amoníaco e aminas (TERRA; BRUM, 1988).

Tabela 3: Valores de pH da linguiça frescal de carne suína adicionada de diferentes concentrações de extrato de chia (*Sálvia hispânica*) armazenada a 4°C por 28 dias

Tratamentos	Dia 1	Dia 7	Dia 14	Dia 21	Dia 28
0%EC	5,780±0,376 ^{aA}	6,150±0,256 ^{aA}	6,313±0,185 ^{aA}	6,390±0,199 ^{aA}	6,243±0,372 ^{aA}
1%EC	6,150±0,017 ^{cA}	6,366±0,070 ^{abA}	6,450±0,040 ^{abA}	6,360±0,115 ^{bA}	6,543±0,045 ^{aA}
1,5%EC	6,136±0,089 ^{bA}	6,286±0,030 ^{bA}	6,350±0,174 ^{abA}	6,370±0,062 ^{abA}	6,606±0,066 ^{aA}
2% EC	6,216±0,092 ^{bA}	6,490±0,105 ^{aA}	6,470±0,121 ^{aA}	6,183±0,011 ^{bA}	6,593±0,040 ^{aA}

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

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

Médias ± desvio padrão de análises em triplicata.

EC= Extrato de chia

Os valores de pH ao longo dos 28 dias de armazenamento ficaram na faixa entre 5,78 e 6,60, nos diferentes tratamentos analisados, não apresentando

diferença significativa ($p < 0,05$) entre os mesmos. Resultados semelhantes foram encontrados por Brum (2009), que descreve em seu trabalho a ação antioxidante natural de marcela (*Achyrocline satureioides*) e de erva mate (*Ilex paraguariensis*) na elaboração de linguiça toscana, onde os valores de pH não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre todos os tratamentos analisados.

Cor

Os resultados obtidos para a luminosidade (L^*), cor vermelha (a^*), cor amarelo (b^*), índice de saturação (C^*) e ângulo de tonalidade (h^*) das linguiças de carne suína durante o período de armazenamento são apresentados na Tabela 4.

Em relação ao tempo de armazenamento, todos os tratamentos tiveram uma redução no valor do L^* , se comparado ao início do estudo, indicando o escurecimento do produto ao longo do tempo de armazenamento.

Entre os tratamentos, somente no 28^o dia de armazenamento observa-se valores significativamente inferiores ($p < 0,05$) de L^* (luminosidade) para o tratamento com adição de 2% de extrato de chia em relação ao tratamento controle. Desta forma a linguiça apresentou um escurecimento ao final do armazenamento, pois menores valores de L^* representam um produto mais “escuro”, visto que os valores de L^* (luminosidade) variam de preto (0%) a branco (100%) (RAMOS; GOMIDE, 2007). No entanto durante os períodos 1^o, 7^o, 14^o, 21^o, de armazenamento, os valores de L^* das linguiças adicionadas do extrato de chia (1% 1,5% e 2,0% EC) não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) em relação à linguiça controle (0%EC), o que demonstra que não houve alteração na cor das linguiças devido a adição de extrato de sementes de chia.

Efeitos semelhantes de diminuição do valor de L^* foram registradas por Biswas; Chatli; Sahoo (2012) em embutido cárneo suíno armazenado sob refrigeração com a adição de extratos de folhas de *curry* e hortelã.

Tabela 4: Parâmetros de cor instrumental (L*, a*, b*, C* e h*) de linguiça frescal de carne suína adicionada de diferentes concentrações de extrato de chia (*Sálvia hispânica*) armazenada a 4°C por 28 dias

Tratamentos	Dia 1	Dia 7	Dia 14	Dia 21	Dia 28	
L*	0% EC	62,693±0,55 ^{aA}	60,236±0,91 ^{aA}	61,763±0,33 ^{aA}	61,665±0,70 ^{bA}	59,376±0,36 ^{aBC}
	1% EC	61,950±0,40 ^{bA}	61,020±0,69 ^{abA}	61,973±0,87 ^{aA}	61,053±0,79 ^{abA}	62,206±0,80 ^{aA}
	1,5%EC	62,716±0,31 ^{aA}	61,520±0,74 ^{aA}	62,060±1,04 ^{aA}	61,296±0,42 ^{aA}	60,786±0,97 ^{aAB}
	2%EC	62,220±0,35 ^{aA}	60,196±0,43 ^{bA}	61,333±0,29 ^{bA}	61,020±0,60 ^{bcA}	57,556±0,87 ^{cC}
a*	0% EC	8,830±0,14 ^{cA}	17,226±0,90 ^{bA}	18,690±0,17 ^{aA}	19,356±0,52 ^{aA}	20,003±0,23 ^{aA}
	1% EC	8,486±0,25 ^{dAB}	13,113±0,47 ^{cB}	14,446±1,03 ^{bcC}	17,236±0,59 ^{abB}	16,153±0,63 ^{abB}
	1,5%EC	7,610±0,47 ^{cBC}	18,223±0,92 ^{aA}	15,336±0,56 ^{bBC}	17,060±0,52 ^{abB}	15,543±0,75 ^{bB}
	2%EC	7,343±0,43 ^{dC}	14,370±0,12 ^{cB}	16,776±0,88 ^{bAB}	20,34±0,54 ^{aA}	16,35±0,81 ^{bB}
b*	0% EC	12,293±0,76 ^{abB}	10,986±0,39 ^{abA}	10,856±0,36 ^{bA}	11,973±0,31 ^{abA}	11,973±0,66 ^{abA}
	1% EC	13,660±0,35 ^{aA}	9,973±0,83 ^{cA}	10,930±0,48 ^{bcA}	11,686±0,08 ^{bA}	11,486±0,19 ^{bA}
	1,5%EC	12,196±0,17 ^{abB}	10,786±0,60 ^{bA}	10,730±0,45 ^{bA}	11,816±0,10 ^{abA}	11,393±0,54 ^{abA}
	2%EC	12,203±0,25 ^{abB}	10,196±0,36 ^{cA}	10,820±0,23 ^{bcA}	12,510±0,54 ^{aA}	11,143±0,17 ^{bA}
C*	0% EC	15,136±0,53 ^{dAB}	20,430±0,82 ^{cA}	21,603±0,43 ^{bcA}	22,533±0,60 ^{abAB}	23,380±0,54 ^{aA}
	1% EC	16,076±0,66 ^{cA}	17,723±0,70 ^{bcB}	18,123±0,95 ^{bB}	20,963±0,73 ^{abC}	19,526±0,70 ^{abB}
	1,5%EC	14,373±0,25 ^{cB}	20,033±0,42 ^{abA}	18,470±0,29 ^{bB}	20,750±0,60 ^{aC}	18,846±0,85 ^{abB}
	2%EC	14,260±0,31 ^{eB}	17,786±0,74 ^{dB}	21,393±0,98 ^{bA}	23,783±0,42 ^{aA}	19,640±0,97 ^{cB}
h*	0% EC	55,600±0,26 ^{abB}	32,266±0,87 ^{bC}	30,066±0,65 ^{cC}	32,000±0,72 ^{bB}	31,900±0,52 ^{bC}
	1% EC	58,166±0,66 ^{aA}	36,800±0,70 ^{bcA}	37,766±0,95 ^{bA}	34,166±0,73 ^{dA}	34,933±0,70 ^{cdA}
	1,5%EC	58,466±0,66 ^{aA}	30,500±0,20 ^{dD}	35,133±0,51 ^{bB}	34,666±0,85 ^{bcA}	33,466±0,40 ^{cB}
	2%EC	59,566±0,85 ^{aA}	34,966±0,70 ^{bB}	30,333±0,15 ^{cC}	30,766±0,61 ^{cB}	33,666±0,51 ^{bAB}

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

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

Médias ± desvio padrão de análises em quintuplicata. EC=Extrato de chia

A coloração vermelha de produtos cárneos é um importante componente do apelo visual para consumidores (SHAN et al., 2009), sendo o índice a^* , o parâmetro de cor mais sensível na caracterização da cor vermelha e na sua estabilidade (RAMOS; GOMIDE, 2007).

Em relação ao parâmetro a^* (onde $-a^*$ representa direção ao verde e $+a^*$ direção ao vermelho), nota-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre o controle e os demais tratamentos, onde o tratamento controle apresentou resultados superiores, exceto no 1º dia de armazenamento (tratamento 1%EC), 7º dia de armazenamento (tratamento 1,5% EC), 14º dia de armazenamento (tratamento 2% EC) e no 21º dia (tratamento 2% EC) onde os mesmos apresentaram-se significativamente iguais ao controle ($p < 0,05$).

Ainda, há um aumento nos valores encontrados no final do armazenamento quando comparados ao início, sendo valores altos para o parâmetro a^* relacionados com a concentração de mioglobina e com a formação de nitrosomioglobina durante o processo de cura (PEREZ-ALVAREZ et al., 1998). Nota-se que, no 1º dia de armazenamento, as linguiças se apresentaram com valores de a^* mais baixos, ocorrendo um aumento significativo no 7º dia de armazenamento. Isso se deve ao fato da carne utilizada estar em temperaturas baixas no momento da elaboração das linguiças, retardando a reação de cura, que ocorreu somente após o 1º dia de armazenamento das linguiças.

Viera (2012) encontrou resultados contrários ao deste estudo, onde relata redução nos valores do parâmetro a^* de 16,64 para 11,80 em linguiças adicionadas de 0,5% de extrato de própolis ao fim de 56 dias de armazenamento. Tal fato foi atribuído a diminuição dos pigmentos heme da carne, que é altamente correlacionada com a redução do valor de a^* .

O parâmetro b^* (onde $-b^*$ representa direção ao azul e $+b^*$ direção ao amarelo) não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, exceto no 1º dia de armazenamento, onde o tratamento com 1% de extrato apresentou-se estatisticamente superior ($p < 0,05$) aos demais, provavelmente pela aceleração da oxidação lipídica neste tratamento, que tende a aumentar a cor amarela de produtos cárneos proporcionalmente ao aumento de intensidade desta reação durante o armazenamento. Em relação ao tempo de armazenamento, observa-se uma redução nos valores de b^* , comportamento contrário ao esperado, uma vez que os tratamentos estavam sofrendo oxidação ao longo do armazenamento, e, portanto,

deveriam apresentar aumento nos valores de b^* . Tal fato provavelmente está relacionado com o aumento nos valores do parâmetro a^* dos tratamentos, que mascarou a coloração amarelada das linguças em decorrência da oxidação lipídica.

O grau de saturação (C^*) e o ângulo de tonalidade (h^*) são medidas derivadas de a^* e b^* . A cromaticidade ou croma (C^*) expressa a intensidade da cor, ou seja, a saturação em termos de pigmentos desta cor. Valores de croma próximos de zero representam cores neutras (cinzas), enquanto valores próximos de 60 expressam cores vívidas (MENDONÇA et al., 2003).

De acordo com a Tabela 4, pode-se observar que os valores de C^* sofreram aumento ao longo dos dias de armazenamento, apresentando coloração mais vívida. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) em praticamente todos os tratamentos, e aos 28^o dias de armazenamento, somente o tratamento controle teve diferença significativa ($p < 0,05$), apresentando-se com valores superiores em relação aos demais tratamentos.

O ângulo de tonalidade (h^*) é a grandeza associada aos comprimentos de onda do espectro visível, representando a qualidade da cor (azul, vermelho, amarelo, etc.) e permitindo diferenciá-la (RAMOS; GOMIDE, 2007). Analisando a Tabela 4, observa-se que nos 1^o, 7^o e 28^o dias de armazenamento houve diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao tratamento controle e demais tratamentos, onde o tratamento controle apresentou resultados superiores aos demais. Em relação ao tempo de armazenamento, todos os tratamentos sofreram redução nos valores de h^* .

Oxidação lipídica-TBARS

Durante o processo oxidativo, ocorre a formação de malonaldeído, um dos principais produtos da decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poli-insaturados. O teste de TBARS permite avaliar a oxidação lipídica através da quantificação do malonaldeído formado. Os resultados obtidos para TBARS estão apresentados na Tabela 5.

Observa-se de acordo com a tabela 5, que ao longo dos 28 dias de armazenamento, houve aumento significativo nos valores de TBARS para todos os tratamentos analisados, evidenciando a ocorrência da oxidação lipídica dos mesmos.

Tabela 5: Valores de TBARS (mg MDA/kg de amostra) das amostras de linguiça fresca de carne suína adicionada de diferentes concentrações de extrato de chia (*Sálvia hispânica*) armazenada a 4°C por 28 dias.

Tratamentos	Dia 1	Dia 7	Dia 14	Dia 21	Dia 28
0%EC	0,211±0,067 ^{CD}	0,446±0,029 ^{CC}	1,168±0,024 ^{bA}	1,509±0,092 ^{aA}	1,640±0,106 ^{aA}
1%EC	0,345±0,010 ^{CC}	0,381±0,012 ^{CC}	1,123±0,126 ^{bA}	1,330±0,118 ^{abA}	1,548±0,163 ^{aA}
1,5%EC	0,468±0,032 ^{CB}	0,543±0,055 ^{CB}	1,114±0,159 ^{bA}	1,202±0,003 ^{abAB}	1,400±0,022 ^{aA}
2% EC	0,611±0,021 ^{bA}	0,649±0,027 ^{bA}	1,056±0,023 ^{aA}	1,076±0,047 ^{aB}	1,129±0,030 ^{aB}

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

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

Médias \pm desvio padrão de análises em triplicata.

EC= Extrato de chia

Nota-se ainda que entre o 1º e 7º dias de armazenamento, o valor de TBARS se elevou a medida que aumentou-se a concentração de extrato de chia dos tratamentos. Em contraste com a sua propriedade antioxidante *in vitro*, alguns estudos sugerem que compostos polifenólicos têm propriedades pró-oxidante (MURZAKHMETORA et al., 2008). Entretanto, a margem entre a quantidade funcionalmente necessária para um desempenho antioxidante ótimo e a dose pró-oxidante pode ser pequena e tal fato deve ser considerado quando houver o enriquecimento de alimentos por esses ingredientes (RIETJENS et al., 2002). Futuras pesquisas devem ser feitas utilizando o extrato de semente de chia em sistemas cárneos mais complexos.

A partir do 14º dia até o final dos 28 dias de armazenamento, todos os tratamentos adicionados de extrato de sementes de chia apresentaram valores de TBARS inferiores ao tratamento controle, no entanto só houve diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle no 21º e 28º dias de armazenamento, onde o tratamento com adição de 2% de extrato de chia apresentou valores de TBARS estatisticamente inferiores.

Em produtos cárneos, dados sobre o valores de TBARS são de extrema importância 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; GONCALVES, 2005).

Todas as concentrações adicionadas de extrato de semente de chia conseguiram manter o produto com menor nível de oxidação até os 28 dias de armazenamento quando o controle apresentou 1,640 mg MDA/Kg amostra. Além disso, estudos mostram que valores de TBARS até 1,59 mg MDA/kg de amostra são considerados baixos para serem percebidos por análise sensorial e não causam alarme para saúde do ser humano (TORRES; OKANI, 1997), o que faz das linguiças apropriadas para o consumo até os 28 dias de armazenamento, onde as amostras com extrato de sementes de chia apresentaram valores de TBARS de 1,129 a 1,548 mg MDA/kg.

Bussata (2010), ao analisar o efeito da adição de extrato de orégano e manjerona em linguiça toscana, encontrou valores de 0,806 mg de MDA/ kg ao final de 35 dias de armazenamento, valores inferiores aos encontrados neste trabalho. Da mesma forma, Viera (2012), em estudo sobre o efeito de extrato de própolis na estabilidade lipídica de linguiça toscana, obteve valores de 0,249 a 0,762 mg de MDA/ kg ao final de 56 dias de armazenamento a 4°C.

Cabe ressaltar que o produto formulado é altamente vulnerável a desenvolver oxidação lipídica devido as condições de processamento, embalagem, armazenamento e ainda, pela grande quantidade de gordura de sua formulação. A presença de compostos fenólicos e atividade antioxidante *in vitro* em sementes de chia (*Sálvia hispânica*), já foi estudada e comprovada (SARGI et al., 2013, CAUDILLO et al., 2008), entretanto, não se mostrou tão eficaz como outros extratos quando aplicado a linguiças de carne suína.

Análise microbiológica

Segundo a Resolução RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 (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 (3,47 Log UFC/g), para coliformes a 45 °C é de 5×10^3 UFC/g (3,69 Log UFC/g) e para *Salmonella spp* é ausência em 25 g.

Os resultados para *Staphylococcus coagulase positiva*, *Clostridium sulfito redutor* e coliformes a 45 °C neste trabalho apresentaram resultados inferiores a 1

Log UFC/g e *Salmonella spp* apresentou ausência de em 25 gramas de amostra (dados não apresentados). Desta forma, os resultados obtidos neste estudo mostraram que as linguiças suínas foram consideradas dentro dos limites permitidos pela legislação, demonstrando que o processamento foi realizado em condições adequadas de higiene e respeitando as boas praticas de fabricação.

Para verificar a vida de prateleira das linguiças suínas armazenadas sob refrigeração foram realizadas as contagens de micro-organismos aeróbios mesófilos totais e psicotróficos (Tabela 6), que podem ser utilizados para indicar a qualidade sanitária e a inocuidade de produtos cárneos, fornecendo uma estimativa da população geral de microrganismos presentes num intervalo amplo de temperatura, de forma que altos níveis de contaminação estão associados à baixa qualidade e à aceleração do processo de deterioração (JAY, 2005).

Segundo Terra (1998) uma contagem de até 10^6 UFC/g (6 Log UFC/g) é considerada faixa aceitável de contaminação microbiana em alimentos, o que também indica a qualidade sanitária dos alimentos.

Pode-se observar na tabela 6 que a contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos totais e psicotróficos tiveram um aumento gradativo em todos os tratamentos ao longo do período de armazenamento.

Os resultados mostram que a população microbiana de aeróbios mesófilos nas linguiças de carne suína não apresentaram diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) com a adição do extrato de semente de chia considerando os dias 1º e 14º de armazenamento. Nos 21º e 28º dias de armazenamento o tratamento de maior concentração do extrato adicionado (2,0% EC), apresentou-se com valores estatisticamente superiores ($p < 0,05$) aos demais tratamentos, demonstrando assim não ter efeito antimicrobiano sobre os micro-organismos estudados.

Tabela 6: Contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos totais e psicotróficos (LogUFC/g) em amostras de linguiça frescal de carne suína adicionada de diferentes concentrações de extrato de semente de chia (*Sálvia hispânica*) armazenada a 4°C por 28 dias.

Mesófilos					
Tratamentos	Dia 1	Dia 7	Dia 14	Dia 21	Dia 28
0%EC	3,360±0,053 ^{dA}	5,697±0,049 ^{cA}	6,570±0,074 ^{bA}	6,539±0,200 ^{bAB}	7,819±0,007 ^{aB}
1%EC	2,943±0,138 ^{cA}	4,791±0,039 ^{bAB}	6,472±0,212 ^{aA}	6,579±0,003 ^{aA}	6,898±0,084 ^{aC}
1,5%EC	3,278±0,061 ^{cA}	3,796±0,230 ^{cB}	6,278±0,032 ^{bA}	5,963±0,026 ^{bB}	7,411±0,187 ^{aB}
2% EC	2,979±0,190 ^{dA}	4,536±0,454 ^{cB}	6,204±0,425 ^{bA}	6,976±0,203 ^{bA}	8,892±0,007 ^{aA}
Psicotróficos					
Tratamentos	Dia 1	Dia 7	Dia 14	Dia 21	Dia 28
0%EC	2,834±0,049 ^{dA}	5,583±0,150 ^{cB}	6,589±0,179 ^{bA}	6,891±0,023 ^{abA}	7,287±0,019 ^{aB}
1%EC	2,722±0,155 ^{dA}	5,518±0,018 ^{cB}	5,875±0,056 ^{bBC}	6,522±0,064 ^{aBC}	6,591±0,043 ^{aD}
1,5%EC	2,818±0,046 ^{eA}	5,091±0,059 ^{dC}	5,847±0,129 ^{cC}	6,349±0,068 ^{bC}	6,993±0,003 ^{aC}
2% EC	2,657±0,020 ^{eA}	5,968±0,006 ^{dA}	6,326±0,011 ^{cAB}	6,656±0,047 ^{bB}	7,727±0,028 ^{aA}

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

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

Médias ± desvio padrão de análises em quadruplicata.

ECH= Extrato de chia

Da mesma forma, a contagem de micro-organismos psicotróficos (Tabela 6) oscilou entre todos os tratamentos ao longo dos dias de armazenamento das linguiças de carne suína, não sendo possível observar valores estatisticamente inferiores ($p < 0,05$) nos tratamentos adicionados do extrato de chia em relação ao controle. Nos 7º e 28º dias de armazenamento, o tratamento com maiores concentração de extrato de semente de chia (2% EC) apresentou uma contagem estatisticamente superior ($p < 0,05$) aos demais tratamentos, reforçando que o extrato de semente de chia não tem atividade antimicrobiana.

A partir do 14^o dia de armazenamento, os tratamentos apresentaram contagens de micro-organismos aeróbios mesófilos e psicotróficos acima de 6,0 Log UFC/g (exceto os tratamentos 1% EC e 1,5% EC para micro-organismos psicotróficos) ultrapassando a faixa limite aceitável de contaminação bacteriana (TERRA, 1998).

Stefanello (2013), ao avaliar as alterações microbiológicas em linguiça suína adicionada de extrato de cogumelo do sol estocada a 4^o C, observou que aos 28 dias de armazenamento a contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos totais foi de 7,16 Log UFC/g e de psicotróficos de 6,69 Log UFC/g. Também não foi observado efeito antimicrobiano para o extrato de cogumelo do sol nas condições estudadas.

Análise sensorial

A análise sensorial desenvolvida neste estudo foi conduzida com o intuito de verificar a aceitação do consumidor frente às características gerais das linguiças de carne suína adicionadas de extrato de semente de chia em diferentes concentrações (Tabela 7), uma vez que os extratos vegetais tem a possibilidade de conter substâncias que podem conferir odor e/ou sabor diferente ao produto final.

Tabela 7: Médias das notas atribuídas para as linguiças frescas de carne suína adicionadas de diferentes concentrações de extrato semente de chia (*Sálvia hispânica*) armazenadas a 4°C

Tratamentos	Aparência	Cor	Odor	Sabor
0% EC	5,368±0,997 ^a	5,368±1,024 ^a	5,394±0,886 ^a	5,526±0,992 ^{ab}
1% EC	5,421±1,056 ^a	5,289±1,183 ^a	5,236±1,125 ^a	5,394±1,326 ^{ab}
1,5% EC	4,789±1,017 ^a	5,320±1,291 ^a	5,447±1,082 ^a	5,894±0,831 ^a
2% EC	5,157±1,284 ^a	5,257±1,130 ^a	5,052±1,229 ^a	5,104±1,3108 ^b

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

Médias ± desvio padrão de análises de 50 provadores.

EC= Extrato de chia.

Escores: 1 = desgostei muitíssimo; 2 = desgostei muito; 3 = desgostei moderadamente; 4 = indiferente; 5 = gostei moderadamente; 6 = gostei muito; 7 = gostei muitíssimo.

Os valores médios das notas atribuídas para todos os atributos avaliados (Tabela 7) ficaram em torno de 5, classificados como “gostei moderadamente” na escala hedônica estruturada de sete pontos. Os atributos aparência, cor e odor não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos avaliados, demonstrando que não houve interferência da adição das diferentes concentrações de extrato semente de chia nas linguiças de carne suína.

Quanto ao atributo sabor, houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre os tratamentos, onde o tratamento adicionado de 2,0% de extrato de chia apresentou média inferior pelos provadores, demonstrando menor aceitabilidade, uma vez que a adição de substâncias naturais pode alterar o sabor característico destes produtos. No entanto, o tratamento adicionado de 1,5% de extrato de chia foi o que apresentou melhor média para o atributo sabor.

Da mesma forma Viera (2012), ao analisar a aceitação sensorial de linguiças toscanas adicionadas de extrato de própolis, relatou diferença estatística para o atributo sabor em amostras que continham maiores concentrações de extrato de própolis, as quais receberam notas inferiores em relação a amostras que continham menores concentrações do extrato ou ao tratamento controle.

Neste contexto, uma das maiores preocupações ao desenvolver um produto é verificar a intenção de compra pelo consumidor (SANTANA et al., 2006). Os resultados do teste de intenção de compra realizado no 10^o dia de armazenamento das linguiças estão apresentados na tabela 8. Não houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre o tratamento controle e os tratamentos com adição de extrato de chia. Isso demonstra a adição dos extratos de semente de chia não influenciou no comportamento do consumidor em relação a compra do produto.

Tabela 8: Médias das notas atribuídas relativas a intenção de compra para as linguiças frescas de carne suína adicionadas de diferentes concentrações de extrato semente de chia (*Sálvia hispânica*) armazenadas a 4°C utilizando escala hedônica de 5 pontos.

Tratamentos	Intenção de compra
0% EC	3,947±0,992 ^a
1% EC	3,710±0,760 ^a
1,5% EC	3,921±1,092 ^a
2% EC	3,710±0,743 ^a

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

Médias \pm desvio padrão de análises de 50 provadores.

EC= Extrato de chia.

Escores: 1 =Decididamente eu não compraria, 2=Provavelmente eu não compraria, 3= Talvez sim / Talvez não, 4= Provavelmente eu compraria, 5= Decididamente eu compraria

A média de intenção de compra das linguiças ficou equivalente ao termo “Talvez sim/Talvez não” da escala. O teste de intenção de compra evidenciou ainda que linguiça controle foi a que obteve mais provadores que escolheram o termo “decididamente eu compraria” na escala (29%), seguido das linguiças adicionadas de 1,5 e 2% de extrato de semente de chia (21%) e da linguiça com 1% de extrato de semente de chia (16%), conforme mostra a figura 1.

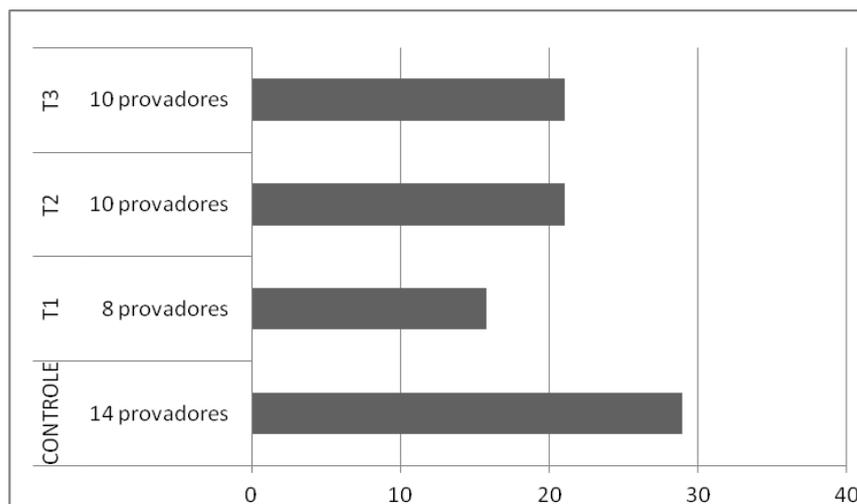


Figura 1: Provadores que escolheram o termo “Decididamente compraria” no teste de intenção de compra para as linguiças frescas de carne suína adicionadas de diferentes concentrações de extrato semente de chia (*Sálvia hispânica*) armazenadas a 4°C.

Monteiro (2013), relatou em seu trabalho que em relação a intenção de compra a linguiça de frango adicionada de 1,0% de extrato da casca de pequi apresentou maior intenção de compra, 34%, equivalendo ao termo “decididamente eu compraria” na escala, seguida da linguiça controle (22%), da linguiça com 0,5% de extrato da casca de pequi (18%) e da linguiça com 1,5% de extrato (16%).

Conclusão

A composição centesimal das linguiças adicionadas dos extratos de semente de chia e o controle apresentaram-se de acordo com os padrões estabelecidos pelo Padrão de Identidade e Qualidade do Produto.

Os valores médios de pH verificados ficaram na faixa entre 5,78 e 6,60 nos diferentes tratamentos analisados com aumento do pH ao longo do período de armazenamento.

No final do armazenamento, todos os tratamentos apresentaram uma queda nos valores para L*, indicando escurecimento no produto.

Os níveis de TBARS tenderam a aumentar ao longo do tempo de armazenamento. O extrato de sementes de chia (*Sálvia hispânica*) mostrou-se eficiente frente a estabilidade oxidativa de linguiça de carne suína, como foi observado aos 14^o dias de armazenamento até o final das análises, onde todos os

tratamentos com adição de extrato de chia tiveram oxidação inferior ao tratamento controle, sendo que o tratamento com 2% de extrato de chia obteve menor oxidação lipídica.

Em relação aos valores obtidos para *Staphylococcus* coagulase positiva; *Samonella*; *Clostridium* sulfito redutor 46 °C, Coliformes a 35°C e a 45°C apresentaram-se dentro dos limites de tolerância estabelecidos pela Legislação brasileira para todos os tratamentos.

Ainda, na contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos, durante o período de armazenamento, foi observado um aumento gradativo em todos os tratamentos, demonstrando que os extratos de semente de chia não exerceram atividade antimicrobiana sobre os micro-organismos estudados.

Para a análise sensorial, os valores médios das notas atribuídas referente aos atributos analisados foram de aproximadamente 5, classificados como “Gostei Moderadamente” na escala hedônica estruturada de sete pontos. A média do teste de intenção de compra das linguiças ficou em torno de 3, equivalente ao termo “Talvez sim/Talvez não” da escala.

Em uma análise geral, foi possível perceber que as linguiças suínas contendo 2% de extrato de semente de chia apresentaram melhores resultados em relação às demais concentrações no que diz respeito a oxidação lipídica.

Referências Bibliográficas

AOAC. Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists. 18. ed. Gaithersburg, Maryland, 2005.

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.

BISWAS, A. K.; CHATLI, M. K.; SAHOO, J. Antioxidant potential of curry (*Murraya koenigii* L.) and mint (*Mentha spicata*) leaf extracts and their effect on colour and oxidativestability of raw ground pork meat during refrigeration storage. **Food Chemistry**, v.133, n.2, p. 467–472, 2012.

BRANNAN, R. G. Effects of grape seeds extract on physicochemical properties of ground, salted, chicken thigh meat during refrigerated storage at different relativehumidity levels. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 1, p. 36-40, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretária da Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 22 de 31 de agosto de 2000. Aprova Regulamentos Técnicos de Identidade de Qualidade de Derivados Cárneos. **Diário Oficial da União**, Brasília, p.15-28, 2000.

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

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

BUSATTA, C. **Caracterização química e atividade antimicrobiana in vitro em alimentos dos extratos de orégano e manjerona**. 2010, 120 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Regional Integrada, Erechim, 2010.

CAUDILLO, E. R.; TECANTE, A.; VALDIVIA, M. A.; LOPEZ, L. A. Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica L.*) seeds. **Food Chemistry**, v 107, p 656–663, 2008.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. 3 ed. Curitiba: Champagnat, 2011. 425p.

FRANCO, D.; GONZÁLEZ, L.; BISPO, E.; LATORRE, A.; MORENO, T.; SINEIRO, J.; SÁNCHEZ, M.; NÚÑEZ. Effects of calf diet, antioxidants, packaging type and storage time on beef steak storage. **Meat Science**, v. 90, n. 4, p. 871–880, 2012.

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

HAYES, J. E.; STEPANYAN, B.; ALLEN, P.; O`GRADY, M. N.; KERRY, J. P. Evaluation of the effects of selected plant-derived nutraceuticals on the quality and shelf life stability of raw and cooked pork sausages. **LWT – Food Science and Technology**, v. 44, n. 1, p. 164-172, 2011.

IXTAINA, V. Y.; MARTÍNEZ, M. L.; SPOTORNO, V.; MATEO, C. M.; MAESTRI, D. M.; DIEHL, B. W. K.; ET AL. Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. **Journal of Food Composition Analysis**, v. 24, n. 2, p. 166-174, 2011.

JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. **Modern food microbiology**. 7. ed. NewYork: Springer, 2005, 790 p.

MENDONÇA, K.; JACOMINO, A. P.; MELHEM, T. X.; KLUGE, R. A. Concentração de etileno e tempo de exposição para desverdecimento de limão 'siciliano'. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, n. 2, p.179-183, 2003.

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

MINOLTA. **Precise color communication**: color control from perception to instrumentation. Sakai, 1998.Encarte.

MONTEIRO, S. S. **Caracterização química da casca de pequi (*caryocar brasiliense* camb.), avaliação de seus extratos e aplicação em linguiça de frango para aumento do *shelf life***. 2013. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos). Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

MURZAKHMETORA, M.; MOLDAKARIMOV, S.; TANCHEVA, L.; ABAROVA, S.; SERKEDJIEVA, J. Antioxidant and prooxidant properties of a polyphenol-rich extract from *Geranium sanguineum* L. in vitro and in vivo. **Phytotherapy Research**, v. 22, p. 746–751, 2008.

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

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.

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

RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da qualidade de carnes: fundamentos e metodologia**. Viçosa: UFV, 2007. 599 p.

RIETJENS, I. M. C. M.; BOERSMA, M. G.; HAAN, L.; SPENKELINK, B.; AWAD, H. M.; CNUBBEN, N. H. P.; ZANDEN, J. J. V.; WOUDE, H. V.; ALINK, G. M.; KOEMAN, J. H. The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 11, p. 321–333, 2002.

SANTANA, L. R. R.; SANTOS, L. C. S.; NATALICIO, M. A.; MANDRAGON-BERNAL, O. L.; ELIAS, E. M.; SILVA, C. B.; ZEPKA, L. Q.; MARTINS, I. S. L.; VERNAZA, M. G.; CASTILLO-PIZARRO, C.; BOLINI, H. M. A. Perfil Sensorial de logurte Light, sabor pêssego. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.3, p. 619-625, 2006.

SARGI, S. C.; SILVA, B. C.; SANTOS, H. M.; MONTANHER, P. F.; BOEING, J. S.; SANTOS, O., O.; , SOUZA, N., E.; VISENTAINER, J., V. Antioxidant capacity and chemical composition in seeds rich in omega-3: chia, flax, and perilla. **Food Science and Technology**. v. 33, n. 3, p. 144-158, 2013.

SHAN, B.; CAI, Y. Z.; BROOKS, J. D.; CORKE, H. Antibacterial and antioxidant effects of five spice and herb extracts as natural preservatives of raw pork. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n.11, p. 1879-1885, 2009.

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**, v.6, n.2, p.239 245, 2005.

SILVA, J.A. **Tópicos da tecnologia de alimentos**. São Paulo: Varela, 2000.

STEFANELLO, F. S. **Avaliação da atividade antioxidante de cogumelo do sol (*Agaricus blazei murrii*) e sua aplicação em lingüiça**. 2013. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos). Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

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

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

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

TORRES, E. A. F. S.; OKANI, E. T. Teste de TBA: ranço em alimentos. **Revista Nacional da Carne**, v. 243, p. 68-76, 1997.

VALENCIA, I.; O'GRADY, M. N.; ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I.; KERRY, J. P. Enhancement of the nutritional status and quality of fresh pork sausages following the addition of linseed oil, fish oil and natural antioxidants. **Meat Science**, v. 80, n.4, p. 1046–1054, 2008.

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

VIERA, V. B. **Obtenção do extrato de própolis assistida por micro-ondas, aplicação em lingüiça toscana e avaliação da sua capacidade antioxidante**.

2012. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos). Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

5. CONCLUSÕES GERAIS

As sementes de chia apresentaram alto teor de óleo, proteínas e fibra alimentar.

Os resultados obtidos nas análises *in vitro* dos extratos de semente de chia demonstraram que o extrato hidroetanólico a 80% e temperatura de 60°C apresentou as melhores características em relação ao conteúdo de compostos fenólicos totais, flavonóides totais e atividade antioxidante pelos métodos de DPPH e FRAP. O mesmo não apresentou atividade antimicrobiana pelo método de difusão em disco.

A composição centesimal das linguiças adicionadas dos extratos de semente de chia e o controle apresentaram-se de acordo com os padrões estabelecidos pelo Padrão de Identidade e Qualidade do Produto.

O pH das linguiças ficaram entre 5,78 e 6,60 nos diferentes tratamentos analisados e apresentaram aumento ao longo do período de armazenamento.

No final do armazenamento, todos os tratamentos apresentaram uma queda nos valores para L*, indicando escurecimento no produto. Em relação ao parâmetro a*, houve um aumento nos valores encontrados no final do armazenamento quando comparados ao início, indicando um produto mais avermelhado. O parâmetro b* não apresentou diferença significativa entre os tratamentos e durante o período de armazenamento todos os tratamentos tiveram redução em seus valores. Os valores de C* aumentaram ao longo do período de armazenamento, apresentando cores mais vívidas. O parâmetro h* apresentou redução ao longo do período de armazenamento, em todos os tratamentos analisados.

Os níveis de TBARS tenderam a aumentar ao longo do tempo de armazenamento. O extrato de sementes de chia (*Sálvia hispanica*) mostrou-se eficiente frente a estabilidade oxidativa de linguiça de carne suína, como foi observado aos 14^o dias de armazenamento até o final das análises, onde todos os tratamentos com adição de extrato de chia tiveram oxidação inferior ao tratamento controle, sendo que o tratamento com 2% de extrato de chia obteve uma menor oxidação lipídica em relação aos demais.

Em relação aos valores obtidos para *Staphylococcus* coagulase positiva; *Samonella*; *Clostridium* sulfito redutor 46 °C, Coliformes a 35°C e a 45°C

apresentaram-se dentro dos limites de tolerância estabelecidos pela Legislação Brasileira para todos os tratamentos.

Ainda, na contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos e psicrotóxicos, durante o período de armazenamento, foi observado um aumento gradativo em todos os tratamentos, demonstrando que os extratos de semente de chia não exerceram atividade antimicrobiana sobre os micro-organismos estudados.

Para a análise sensorial, os valores médios das notas atribuídas referente aos atributos analisados foram de aproximadamente 5, classificados como “Gostei Moderadamente” na escala hedônica estruturada de sete pontos. A média do teste de intenção de compra das linguiças ficou em torno de 3, equivalente ao termo “Talvez sim/Talvez não” da escala.

Em uma análise geral, foi possível perceber que as linguiças suínas contendo 2% de extrato de semente de chia apresentaram melhores resultados em relação às demais concentrações no que diz respeito a oxidação lipídica.

Desta forma, conclui-se que é viável a aplicabilidade de extratos de semente de chia em linguiça de carne suína, como uma fonte antioxidante natural capaz de garantir a manutenção dos atributos de qualidade ao longo da vida de prateleira do produto.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

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

AYERZA, R.; COATES, W.; LAURIA, M. Chia seed (*Salvia hispanica L.*) as a omega-3 fatty acid source for broilers: influence on fatty acid composition, cholesterol and fat content of white and dark meats, growth performance, and sensory characteristics. **Poultry Science**, v.81, n.6, p.826-837, 2002.

AOAC. Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists. 18. ed. Gaithersburg, Maryland, 2005.

ARAUJO, J.M.A. **Química de Alimentos**. 2 Ed. Editora UFV, p 416, 2001.

ASOLINI, F. C.; TEDESCO, A. M.; CARPES, S. T. Antioxidant and Antibacterial Activities of Phenolic Compounds from Extracts of Plants Used as Tea. **Braslian Journal of food technology**, v.9, n.3, p. 209-215, 2006.

AYERZA, R. Oil content and fatty acid composition of chia (*Salvia hispanica L.*) from five northwestern locations in Argentina. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.72, n. 9, p.1079–1081, 1995.

AYERZA, R.; COATES, W.; LAURIA, M. Chia seed (*Salvia hispanica L.*) as a omega-3 fatty acid source for broilers: influence on fatty acid composition, cholesterol and fat content of white and dark meats, growth performance, and sensory characteristics. **Poultry Science**, v.81, p.826-837,2002.

AZIZAH, A. H.; RUSLAWATTI, N. M.; TEE, T. S. Extraction and characterization of antioxidant from cocoa by-products. **Food Chemistry**, v. 64, n. 2, p. 199-202, 1999.

BAGETTI, M.; FACCO, E. M.; RODRIGUES, D. B.; VIZZOTTO, M.; EMANUELLI, T. Antioxidant capacity and composition of pitanga seeds. **Ciência Rural**, v.39, n. 8, p. 2504-2510, 2009.

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

BENZIE, I. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**. v 239, p. 70-76, 1996.

BISWAS, A. K.; CHATLI, M. K.; SAHOO, J. Antioxidant potential of curry (*Murraya koenigii L.*) and mint (*Mentha spicata*) leaf extracts and their effect on colour and

oxidativestability of raw ground pork meat during refrigeration storage. **Food Chemistry**, v.133, n.2, p. 467–472, 2012.

BOWEN, R. A. R.; CLANDININ, M. T. Maternal dietary 22:6n₃ is more effective than 18:3n₃ in increasing content in phospholipids of cells from neonatal rat brain. **British Journal of Nutrition**, v. 93, p. 601-611, 2005.

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

BRANNAN, R. G. Effects of grape seeds extract on physicochemical properties of ground, salted, chicken thigh meat during refrigerated storage at different relativehumidity levels. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 1, p. 36-40, 2008.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. The phenolic constituents of *Prunus domestica* L.-The quantitative analysis of phenolic constituents. **Lebensm Wiss Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretária da Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 22 de 31 de agosto de 2000. Aprova Regulamentos Técnicos de Identidade de Qualidade de Derivados Cárneos. **Diário Oficial da União**, Brasília, p.15-28, 2000.

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

BRASIL. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Instrução Normativa nº. 51/2006. Regulamento técnico de atribuição de aditivos e seus limites das seguintes categorias de alimentos: grupo 8 – carnes e produtos cárneos. **Diário oficial da União**, Brasília, 2007.

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

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

BURATTO, A. P.; CARPES, S. T.; VECCHIA, P.; SCHROLL, E. M.; APPELT, P. Determinação da atividade antioxidante e antimicrobiana em castanha-do-pará (*Bertholletia excelsa*). **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, v.2, n.1, p 60-65, 2011.

BUSATTA, C. **Caracterização química e atividade antimicrobiana in vitro em alimentos dos extratos de orégano e manjerona**. 2010, 120 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Regional Integrada, Erechim, 2010.

CAETANO, A. C. S.; MELO, E. A.; LIMA, V. L. G.; ARAÚJO, C. R.; Extração de antioxidantes de resíduos agroindustriais de acerola. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 12, n. 2, p. 155-160, 2009.

CAUDILLO, E. R.; TECANTE, A.; VALDIVIA, M. A.; LOPEZ, L. Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. **Food Chemistry**, v. 107, p. 656-663, 2008.

CHAVES, G. M. C. et al. Avaliação bacteriológica de linguiça frescal suína comercializada no município do Rio de Janeiro, RJ. **Revista Higiene Alimentar**, v. 14, n. 13, p. 48-52, 2000.

COATES, W.; AYERZA, R. Production potential of chia in north-western Argentina. **Industrial Crop Production**, v. 5, p. 229-233, 1996.

CRAIG, R.; SONS, M. (Application for approval of whole chia (*Salvia hispanica* L.) seed and ground whole chia as novel food ingredients. **Advisory Committee for Novel Foods and Processes**, p. 1–29, 2004.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. Porto Alegre:Artmed, 2010. 900p.

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

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

DUNN, J., 2010. The Chia Company Seeks Entry into European Market. Disponível em: <<http://www.ausfoodnews.com.au/2010/02/08/the-chia-companyseeks-entry-into-european-market.html>> Acesso em 30/01/2014.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. 3 ed. Curitiba: Champagnat, 2011. 425p.

FERGUSON, L.R.; HARRIS, P.J. Protection against cancer by wheat bran: role of dietary fibre and phytochemicals. **European Journal of Cancer Prevention**, v.8, n.1, p.17-25, 1999.

FRANCO, D.; GONZÁLEZ, L.; BISPO, E.; LATORRE, A.; MORENO, T.; SINEIRO, J.; SÁNCHEZ, M.; NÚÑEZ. Effects of calf diet, antioxidants, packaging type and storage time on beef steak storage. **Meat Science**, v. 90, n. 4, p. 871–880, 2012.

FRANKEL, E, N. Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. **Food Chemistry**. V.57, n. 1, p. 51-55, 1996.

GALLI, C.; MARANGONI, F. N-3 fatty acids in the Mediterranean diet. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 75, n. 3, p.129-133, 2006.

GEORGANTELIS, D. et al. Effect of Rosemary extract, chitosan and alfa-tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4°C. **Meat Science**, v. 76, n. 1, p. 172-181, 2007.

GHIRETTI G.P. ZANARDI E. NOVELLI E., CAMPANINI G., DAZZI G., MADARENA G., CHIZZOLINI R. Comparative evaluation of some antioxidants in salame Milano and mortadella production. **Meat Science**,v. 47, n 1-2, p. 167-176, 1997.

GULLÉN-SANS, R.; GUZMÁN-CHOZAS, M. The thiobarbituric acid (TBA) reaction in food: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. v.38, n.4, p.315–330, 1998.

GUNSTONE, F. D.; PADLEY, F. B. **Lipid technologies and applications**. New York: Marcel Decker, Inc., 1997.

HAYES, J. E.; STEPANYAN, B.; ALLEN, P.; O`GRADY, M. N.; KERRY, J. P. Evaluation of the effects of selected plant-derived nutraceuticals on the quality and shelf life stability of raw and cooked pork sausages. **LWT – Food Science and Technology**, v. 44, n. 1, p. 164-172, 2011.

HUDSON, B. J. F. **Food Antioxidants**. London, New York: Elsevier Applied Science. p. 169–78, 1990.

IBÁÑEZ, E. et al. Supercritical fluid extraction and fractionation of different preprocessed rosemary plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 47, n. 4, p. 1400-1404, 1999.

IXTAINA, V. Y.; MARTÍNEZ, M. L.; SPOTORNO, V.; MATEO, C. M.; MAESTRI, D. M.; DIEHL, B. W. K.; ET AL. Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. **Journal of Food Composition Analysis**, v. 24, n. 2, p. 166-174, 2011.

JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. **Modern food microbiology**. 7. ed. NewYork: Springer, 2005, 790 p.

JIMENEZ F. E.; BELTRAN-OROZCO M.C.; VARGAS M. G. The antioxidant capacity and phenolic content of chia's (*Salvia hispánica L.*). integral seed and oil. **Journal of Biotechnology**, v. 150, p. 315, 2010.

JIN, F.; NIEMAN, D.C.; SHA, W.; XIE, G.; QIU, Y.; JIA, W. Supplementation of Milled Chia Seeds Increases Plasma ALA and EPA in Postmenopausal Women. **Plants Foods for Human Nutrition**, v. 67, n. 2, p. 105–110, 2012.

JUNG, C. H. et al. Antioxidant properties of various solvent extracts from wild ginseng leaves. **LWT - Food Science and Technology**, v. 36, n. 3, p. 266-274, 2006.

JUNTACHOTE, T.; BERGHOFER, E. Antioxidant properties and stability of ethanolic extracts of Holy basil and Galangal. **Food Chemistry**, v. 92, n. 2, p. 193-202, 2005.

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

KIM, S. Y. et al. Effect of heating conditions of grape seeds on the antioxidant activity of grapes seed extracts. **Food Chemistry**, v. 97, n. 3, p. 472-479, 2006.

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

KRING, U.; BERGER, R. G. Antioxidant activity of some roasted foods. **Food Chemistry**. v. 72, n.2, p.223-229, 2001.

LAPORNIK, B.; PROSEK, M.; WONDRA, A. G. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. **Journal of Food Engineering**, v. 71, n. 2, p. 214-222, 2005.

LIMA, E. O. **Plantas e suas propriedades antimicrobianas: uma breve análise histórica**. In: YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. Chapecó: Argos, 2001.

LIN, J. Y.; TANG, C. Y. Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 140–147, 2007.

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

MARTHA-ESTRELLA, G. P.; NIOKHOR, D. P.; STEVANOVIC, T.; Comparative study of antioxidant capacity of yellow birch twigs at ambient and high temperatures. **Food Chemistry**, v. 107, n. 1, p. 344-351, 2007.

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

MARINOVA, E. M.; YANISHLIEVA, N. V. I. Antioxidant activity of extracts from selected species of the family *Lamiaceae* in sunflower oil. **Food Chemistry**, v. 58, n. 3, p. 245- 248, 1997.

MATA, A.T.; PROENÇA, C.; FERREIRA, A.R.; SERRALHEIRO, M.L.M.; NOGUEIRA, J.M.F. Antioxidant and antiacetylchoalonerase activities of Five plants used as portuguese food spices. **Food Chemistry Barking**, v.103, n.3, p.778-786, 2006.

MEHTA, R. L.; ZAYAS, J. F.; YANG, S.S. Ajowan as a source of natural lipid antioxidant. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**; v.42, n.7, p. 1420-1422, 1994.

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

MENDONÇA, K.; JACOMINO, A. P.; MELHEM, T. X.; KLUGE, R. A. Concentração de etileno e tempo de exposição para desverdecimento de limão 'siciliano'. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, n. 2, p.179-183, 2003.

MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; SANTOS, T. C.; CINTIA, S.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, v. 15, n. 2, p. 127-130, 2001.

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

MEZADRI, T. et al. Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruits and derivatives. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n.4, p. 282-290, 2008.

MILANI, L. I. G.; TERRA, N. N.; FRIES, L. L. M.; REZER, A. A. S.; CICHOSKI, A. J.; BACKES, A. M. In vitro antioxidant and antimicrobial properties of persimmon (*Diospyros kaki* L. cv. Rama Forte) extracts. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 2, p. 118-124, 2012.

MINOLTA. **Precise color communication**: color control from perception to instrumentation. Sakai, 1998. Encarte.

MONTEIRO, S. S. **Caracterização química da casca de pequi (*caryocar brasiliense* camb.), avaliação de seus extratos e aplicação em linguiça de frango para aumento do *shelf life***. 2013. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos). Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

MORAIS, S.; Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1, p. 315-320, 2009.

MOROT-BIZOT, S. C.; LEROY, S.; TALON, R. Staphylococcal community of a small unit manufacturing traditional dry fermented sausages. **International Journal of Food Microbiology**, v. 108, n. 2, p. 210-210, 2006.

MOURE, A. et al. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, v. 72, n. 2, p. 145-171, 2001.

MURZAKHMETORA, M.; MOLDAKARIMOV, S.; TANCHEVA, L.; ABAROVA, S.;

SERKEDJIEVA, J. Antioxidant and prooxidant properties of a polyphenol-rich extract from *Geranium sanguineum* L. in vitro and in vivo. **Phytotherapy Research**, v. 22, p. 746–751, 2008.

NACIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS - NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. 8. ed. Wayne: NCCLS, 2003. 58 p. NCCLS document M2-A8.

NASSU, R. T. **Utilização de carne de caprinos no processamento de embutido fermentado, tipo salame**. Campinas, 1999. 154p. Tese (Doutorado em Tecnologia dos Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

NEGRI, M. L. S. **Secagem das folhas de Espinheira-Santa – *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss. sob diferentes temperaturas e influência nos teores de polifenóis, na atividade antioxidante e nos aspectos microbiológicos**. 2007. 95.f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

NIKI, E. Lipid peroxidation: mechanisms, inhibition and biological effects. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 338, p. 668-676, 2005.

OLIVO, R. **Fatores que Influenciam as Características das Matéria Primas Cárneas e suas Implicações Tecnológicas**. 2001. Disponível em: < <http://www.globalfood.com.br/site/site/arquivos/03.pdf>>. Acesso em: 30/01/2014

OSAWA, C. C.; FELÍCIO, P. E.; GONÇALVES, L. A. G. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 655-663, 2005.

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

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.

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.

RAHARJO, S.; SOFOS, N. J.; SCHMIDT, R. G. Improved speed, specificity, and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C18 method for

measuring lipid peroxidation in beef. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 40, p.2182 – 2185, 1992.

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

RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da qualidade de carnes: fundamentos e metodologia**. Viçosa: UFV, 2007. 599 p.

REHMAN, Z.; HABIB, F.; SHAH, W. H. Utilization of potato peels extract as a natural antioxidant in soy bean oil. **Food Chemistry**, v. 85, n. 2, p. 215-220, 2004.

RIETJENS, I. M. C. M.; BOERSMA, M. G.; HAAN, L.; SPENKELINK, B.; AWAD, H. M.; CNUBBEN, N. H. P.; ZANDEN, J. J. V.; WOUDE, H. V.; ALINK, G. M.; KOEMAN, J. H. The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 11, p. 321–333, 2002.

ROCKENBACH, I. I.; SILVA, G. L.; RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades *Tannat* e *Ancelota*. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 238-244, 2008.

RODRIGUES, L. J. **O pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*): ciclo vital e agregação de valor pelo processamento mínimo**. 2005. 164 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

SANTANA, L. R. R.; SANTOS, L. C. S.; NATALICIO, M. A.; MANDRAGON-BERNAL, O. L.; ELIAS, E. M.; SILVA, C. B.; ZEPKA, L. Q.; MARTINS, I. S. L.; VERNAZA, M. G.; CASTILLO-PIZARRO, C.; BOLINI, H. M. A. Perfil Sensorial de logurte Light, sabor pêssego. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.3, p. 619-625, 2006.

SARGI, S. C.; SILVA, B. C.; SANTOS, H. M.; MONTANHER, P. F.; BOEING, J. S.; SANTOS, O., O.; SOUZA, N., E.; VISENTAINER, J., V. Antioxidant capacity and chemical composition in seeds rich in omega-3: chia, flax, and perilla. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 3, p. 541-548, 2013.

SERPEN, A.; GÖKMEN, V.; FOGLIANO, V. Total antioxidant capacities of raw and cooked meats. **Meat Science**, v. 90, n.1, p. 60-65, 2012.

SHAIJI, F; NACZK, M. Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications. **Lancaster: Technomic Publishing**, p. 281-319, 1995.

SHAN, B.; CAI, Y. Z.; BROOKS, J. D.; CORKE, H. Antibacterial and antioxidant effects of five spice and herb extracts as natural preservatives of raw pork. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n.11, p. 1879-1885, 2009.

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**, v.6, n.2, p.239-245, 2005.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para a avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n.1, p.94-103, 1999.

SILVA, J.A. **Tópicos da tecnologia de alimentos**. São Paulo: Varela, 2000.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**. v.15, n.1, p. 71-81, 2002.

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

SOUZA, E. L.; STAMFORD, T. L.M. Orégano: uma especiaria como potencial fonte de agentes antimicrobianos. **Revista higiene alimentar**, v.19, n.132, p.40-45, 2005.

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

SPAGOLLA, L. C.; SANTOS, M. M.; PASSOS, L. M. L.; AGUIAR, C. L. Extração alcoólica de fenólicos e flavonóides totais de mirtilo “Rabbiteye” (*Vaccinium ashei*) e sua atividade antioxidante. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30, n. 2, p. 187-191, 2009.

STEFANELLO, F. S. **Avaliação da atividade antioxidante de cogumelo do sol (*Agaricus blazei murill*) e sua aplicação em lingüiça**. 2013. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos). Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

TAGA, M. S.; MILLER, E. E.; PRATT, D. E. Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. **Journal of the American Oil Chemist’s Society**, v. 61, n.5, p. 928–931, 1984.

TAKAHASHI, G. Ingredientes e suas funções na fabricação de produtos cárneos. **Revista Nacional da Carne**, v. 199, p. 14-18, 1993.

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

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

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

TOMAINO, A. et al. Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. **Food Chemistry**, v.89, n. 4, p. 549-554, 2005.

TORRES, E. A. F. S.; OKANI, E. T. Teste de TBA: ranço em alimentos. **Revista Nacional da Carne**, v. 243, p. 68-76, 1997.

TRINDADE, Reginaldo Almeida da. **Influência de antioxidantes naturais sobre perfil lipídico de hambúrgueres bovinos submetidos à irradiação por Co60 e aceleradores de elétrons**. 2007. 112 f.. Tese (Mestrado em Ciência – Tecnologia nuclear) – Universidade de São Paulo. São Paulo.

VALENCIA, I.; O'GRADY, M. N.; ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I.; KERRY, J. P. Enhancement of the nutritional status and quality of fresh pork sausages following the addition of linseed oil, fish oil and natural antioxidants. **Meat Science**, v. 80, n.4, p. 1046–1054, 2008.

VARNAN, A.H.; SUTHERLAND, J.P. **Carne y productos carnicos – Tecnologia, Química y Microbiologia**. Zaragoza: Acribia, p.423, 1998.

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

VIEIRA, P. Pesquisa e desenvolvimento driblam os defeitos mais comuns em embutidos, **Rev. Nacional da Carne**, v. 273, p. 80-84, 1999.

VIERA, V. B. **Obtenção do extrato de própolis assistida por micro-ondas, aplicação em linguiça toscana e avaliação da sua capacidade antioxidante**. 2012. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos). Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

YUNES, J. F. F. **Avaliação dos efeitos da adição de óleos vegetais como substitutos de gordura animal em mortadela**. 2010. 103f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

ZHISHEN, J., MENGCHENG, T. AND JIANMING, The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, n. 4, p. 555–559, 1999.

APÊNDICES

Apêndice A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado a participar de um estudo intitulado “ AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE SEMENTES DE CHIA E SUA APLICAÇÃO EM LINGUIÇA FRESCAL” que tem como objetivo a extração dos fenólicos da semente de chia e posterior aplicação em linguiças suínas.

Procedimentos a serem realizados

Serão oferecidas a você amostras de linguiças suínas e solicitado que você verifique as características sensoriais quanto à cor, odor, sabor e aparência do produto oferecido.

Riscos possíveis e benéficos esperados

Fica claro que você não é obrigado a participar do projeto. No caso de recusa você não terá nenhum tipo de prejuízo. A qualquer momento da pesquisa você é livre para retirar-se da mesma. No caso de aceite, fica claro que os produtos oferecidos são seguros e de boa qualidade, não havendo prejuízos ou riscos à saúde. Não haverá benefício financeiro pela sua participação e nenhum custo para você. Você não terá benefícios diretos, entretanto, ajudará a comunidade científica na construção do conhecimento sobre as características sensoriais de um novo produto com maior prazo de validade.

Confidencialidade

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

Utilização dos dados obtidos

O material coletado e os seus dados serão utilizados somente para esta pesquisa e ficarão guardados com o pesquisador por cinco anos, após o qual serão destruídos. Os pesquisadores responsáveis pelo estudo são a Prof^a. Dr^a. Claudia Severo da Rosa e Gabrielle Scapin, aluna do Programa de Pós-Graduação e Ciência e Tecnologia dos Alimentos da UFSM. Em qualquer etapa do estudo você terá acesso aos pesquisadores responsáveis pelo estudo para esclarecimento de eventuais dúvidas. Este estudo obteve aprovação junto ao Comitê de ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria, com o protocolo nº xxxxxxxxxxxxxxxx.

Telefones para contato com os pesquisadores

- Prof^a. Dr^a. Claudia Severo da Rosa (55) 3220-8254;
- Gabrielle Scapin (55) 99454156

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim. Ficaram claros para mim quais são os objetivos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades e prejuízos.

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

Assinatura do participante

Assinatura do responsável pelo estudo

Apêndice B

Ficha utilizada na avaliação sensorial

Iniciais do seu nome: _____ **Data:** ____/____/____**Gênero:** M() F() **Idade:** 17-30() 31-50() +de 51()**AMOSTRA:** _____

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

ESCALA	ATRIBUTOS			
	APARÊNCIA	COR	ODOR	SABOR
Gostei muitíssimo				
Gostei muito				
Gostei				
Indiferente				
Desgostei				
Desgostei muito				
Desgostei muitíssimo				

Agora avalie segundo a sua intenção de compra utilizando a escala de atitude abaixo marcando um (x) ao lado da opção pretendida:

Escala de Atitude

- () Decididamente eu não compraria
- () Provavelmente eu não compraria
- () Talvez sim/Talvez não
- () Provavelmente eu compraria
- () Decididamente eu compraria

Obrigada pela participação!!