



LIGIANE MARIA DE CARVALHO GOMES

**UTILIZAÇÃO DE EXTRATO DE PIMENTA-DA-
JAMAICA (*PIMENTA DIOICA* L.) COMO
ANTIOXIDANTE EM CARNE
MECANICAMENTE SEPARADA (CMS) DE
FRANGO**

LAVRAS – MG

2015

LIGIANE MARIA DE CARVALHO GOMES

UTILIZAÇÃO DE EXTRATO DE PIMENTA-DA-JAMAICA (*PIMENTA DIOICA* L.) COMO ANTIOXIDANTE EM CARNE MECANICAMENTE SEPARADA (CMS) DE FRANGO

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Ciência dos
Alimentos para a obtenção do título de
Mestre.

Orientador

Dr. Eduardo Mendes Ramos

LAVRAS - MG

2015

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Gomes, Ligiane Maria de Carvalho.

Utilização de extrato de pimenta-da-Jamaica (*PIMENTA DIOICA L.*) como antioxidante em carne mecanicamente separada (CMS) de frango / Ligiane Maria de Carvalho Gomes. – Lavras : UFLA, 2015.

81 p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico)–Universidade Federal de Lavras, 2015.

Orientador(a): Eduardo Mendes Ramos.

Bibliografia.

1. antioxidantes. 2. CMS. 3. Mortadela. 4. pimenta dioica (L). I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

LIGIANE MARIA DE CARVALHO GOMES

UTILIZAÇÃO DE EXTRATO DE PIMENTA-DA-JAMAICA (*PIMENTA DIOICA* L.) COMO ANTIOXIDANTE EM CARNE MECANICAMENTE SEPARADA (CMS) DE FRANGO

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Ciência dos
Alimentos para a obtenção do título de
Mestre.

APROVADA em

Dra. Alcinéia de Lemos Souza Ramos UFLA

Dr. Paulo Rogério Fontes UFV

Dr. Eduardo Mendes Ramos

Orientador

LAVRAS – MG

2015

À minha família, e ao meu amor Alessandro, pelo incentivo constante e por não medir esforços para que esse sonho fosse concretizado. Às minhas filhas Maiara e Nicole, o sinônimo de amor incondicional.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, por estar presente em todos os momentos da minha vida, pela força que me concede para superar os desafios, por abençoar minhas escolhas e proporcionar grandes vitórias. Agradeço a Ele ainda pela oportunidade de conviver com pessoas tão especiais.

À minha família, Alessandro, Maiara e Nicole, pelo grande incentivo e por compreenderem a minha ausência. Obrigada pelo apoio em todos os momentos, e por acreditarem em mim. Vocês que são o meu porto seguro.

Aos meus pais Jairo e Sonia, meus irmãos Flávio, Fernanda, Leonardo e Marcus Vinícius. Minha base, meus exemplos.

Aos meus sobrinhos, Vinícius, Gustavo, Hugo e a caçulinha Isadora, pelo sorriso espontâneo e energizante.

Aos familiares, Tio Márcio, Vó Iracema, Jean, Eder, Angélica, Fernanda e Juliana, que sempre estiveram presentes, me incentivando e vibrando comigo a cada conquista. Agradeço de coração.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Eduardo Mendes Ramos, pelo ensinamento, orientação e confiança.

À minha coorientadora, Prof^ª. Dra. Alcinéia de Lemos Souza Ramos, pelo ensinamento, paciência, apoio e colaborações durante toda a execução deste trabalho.

À Fundação de Amparo a Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), respectivamente pelo financiamento do projeto e pela concessão da bolsa.

Ao Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (DCA/UFLA) pela oportunidade concedida.

À professora Dr. Fátima por disponibilizar o seu laboratório para a realização de parte do experimento.

Aos casais Márcia e Arlindo, Sirlene e Faria, Evaldo e Regiane, por todo carinho, e por todas as palavras de conforto que sempre me incentivava a seguir em frente. Para ser da família não precisa ter o mesmo sangue, basta ter amor um pelo outro e companheirismo.

Aos amigos do Laboratório de Carnes, Monalisa, Élide, Maiara, Taís, Ítalo, Douglas, Ana Alice, Carolina, Gabriela, Henrique, Bruna, Robledo, Cristiane, Giselle, Abel, Erika, Cecília, Thainá, e Letícia; agradeço por todo apoio e auxílio durante o decorrer do experimento. Obrigada pela amizade, e pela convivência harmoniosa.

Às minhas amigas Telma, Heloísa Siqueira, Mariana, Patrícia e Tina, por todos os momentos de descontração, e por todos os momentos felizes que passei com vocês.

Por fim, agradeço a todos aqueles que, de alguma forma ou de outra, contribuíram para a concretização deste trabalho.

RESUMO GERAL

O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antioxidante de extrato obtido das folhas de pimenta-da-Jamaica e os efeitos de sua adição em carne mecanicamente separada (CMS) de frango e subsequente uso em um produto cárneo emulsionado. O extrato obtido apresentou alta atividade antioxidante pelos métodos do DPPH, ($051 \pm 0,004 \text{ mg/mL}^{-1}$), ABTS ($25,18 \pm 1,79 \text{ mmol trolox /g de extrato}$) e TBARS ($28,60 \%$ índice antioxidante). A partir do extrato puro foram preparadas outras três misturas, com diferentes proporções de aditivos (M1, M2 e M3) e adicionados na CMS. Uma porção da CMS foi armazenada (4°C) por 9 dias, e uma outra porção cozida e armazenada (4°C) por 3 dias. Na CMS armazenada *in natura*, houve interação do tratamento versus tempo para os valores de pH, índice de peróxido (IP) e índice de TBARS. No tempo final, os maiores valores para TBARS foram observados para o tratamento controle ($2,23 \pm 0,11 \text{ mg MAD/kg}$), sendo que os tratamentos com extrato retardaram a oxidação lipídica na CMS, com o tratamento M1 apresentando o menor valor médio ($0,87 \pm 0,01 \text{ mg MAD/kg}$). Houve efeito significativo ($P < 0,05$) apenas do tempo de armazenamento para todos os índices de cor, sendo que os valores de L^* , a^* , b^* e C^* diminuíram ao decorrer do tempo, enquanto que valores de h^* apresentaram aumento significativo. Para a CMS cozida, houve interação do tratamento versus tempo para os valores de IP e índice de TBARS. Somente os IP do M1 e M2 aumentaram no tempo final, subindo de $40,87 \pm 0,67 \text{ mg CHP/kg}$ para $47,59 \pm 0,28 \text{ mg CHP/kg}$. O índice de TBARS foi maior ($P < 0,05$) para o tratamento controle ($6,30 \pm 0,06 \text{ mg MAD/kg}$) no tempo final, enquanto os tratamentos M1 e M3 apresentaram ($P < 0,05$) os menores valores ($1,43 \pm 0,20 \text{ mg MAD/kg}$). As CMS adicionadas das misturas foram utilizadas na elaboração de mortadelas e estas foram analisadas nos tempos 0 e 30 dias de armazenamento (4°C). Houve interação ($P < 0,05$) do tratamento versus tempo apenas para o índice de TBARS. No tempo final de armazenamento, os valores de TBARS foram maiores ($P < 0,05$) no tratamento controle ($1,69 \pm 0,03 \text{ mg MAD/kg}$), seguida do M2 ($1,57 \pm 0,05 \text{ mg MAD/kg}$) e dos demais tratamentos ($1,40 \pm 0,04 \text{ mg MAD/kg}$). Concluiu-se que o uso do extrato de folhas de pimenta-da-Jamaica tem um alto potencial como antioxidante no armazenamento da CMS e sua subsequente utilização em produto emulsionado, aumentando a sua vida útil quanto à oxidação lipídica, sendo a mistura M1 a mais indicada.

Palavras-chave: antioxidantes; CMS; Mortadela; *pimenta dioica* (L.)

GENERAL ABSTRACT

This work aimed to evaluate the antioxidant activity of extract obtained from allspice leaves and the effects of its addition in mechanically separated poultry meat (MSPM) and subsequent use in an emulsified meat product. The extract has a high antioxidant by the methods of DPPH ($0.051 \pm 0.004 \text{ mg/mL}^{-1}$), ABTS ($25.18 \pm 1.79 \text{ mmol trolox/g de extract}$) and TBARS (28.60% antioxidant content). Three other blends were prepared from the pure extract, with different proportions of additives (M1, M2 and M3), and added to the MSPM. A portion of MSPM was stored ($4 \text{ }^{\circ}\text{C}$) for 9 days, and another portion was cooked and stored ($4 \text{ }^{\circ}\text{C}$) for 3 days. In the fresh MSPM, there was an interaction ($P < 0.05$) of treatment versus time in pH, peroxide index and TBARS index. At the end of storage, the highest TBARS values were observed for the control treatment ($2.23 \pm 0.11 \text{ mg MAD/kg}$). The lipid oxidation was by the treatments, with the M1 treatment presenting the lowest average value ($0.87 \pm 0.01 \text{ mg/kg}$). There was only a significant ($P < 0.05$) effect of storage time for all color indexes, wherein the values of L^* , a^* , b^* and C^* decreased over time and h^* values showed a significant increase. For cooked MSPM, a significant interaction ($P < 0.05$) of treatment versus time was observed for IP and TBARS values. The IP average increased at the end of time only in M1 and M2 treatments, rising from $40.87 \pm 0.67 \text{ mg CHP/kg}$ to $47.59 \pm 0.28 \text{ mg CHP/kg}$. The TBARS values at the end time was higher ($P < 0.05$) for the control ($6.30 \pm 0.06 \text{ mg MAD/kg}$) and lower ($P < 0.05$) for M1 and M3 treatments ($1.43 \pm 0.20 \text{ mg MAD/kg}$). Finally, the MSPM with the treatments were used in the mortadella's preparation its evaluation at 0 and 30 days of storage ($4 \text{ }^{\circ}\text{C}$). There was an interaction ($P < 0.05$) of treatment versus time only for TBARS values. At 30 days of storage, TBARS values were higher ($P < 0.05$) in the control treatment ($1.69 \pm 0.03 \text{ mg MAD/kg}$), followed by M2 ($1.57 \pm 0.05 \text{ mg MAD/kg}$) and by the other treatments ($1.40 \pm 0.04 \text{ mg MAD/kg}$). It was concluded that the use of the extract of allspice leaves has a high potential as an antioxidant in the MSPM storage and its subsequent use in emulsified product, extending its shelf life based on the lipid oxidation, wherein the mixture M1 proved to be the most suitable.

Keywords: antioxidants; MSPM; mortadella; allspice

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Quantidades permitidas de carne mecanicamente separada de aves em produtos cárneos cozido.....	21
Tabela 2	Formulação utilizada na elaboração das mortadelas.....	46
Tabela 3	Triagem fitoquímica do extrato etanólico das folhas de pimenta-da Jamaica (<i>Pimenta dioica</i> L.).....	50
Tabela 4	Teor de polifenóis totais e atividade antioxidante (DPPH, ABTS) do extrato etanólico das folhas de pimenta-da-Jamaica....	52
Tabela 5	Composição centesimal média (\pm desvio padrão) da carne mecanicamente separada de frango.....	55
Tabela 6	Valores (média \pm desvio-padrão) de pH de carne mecanicamente separada (CMS) de frango armazenada por nove dias sob refrigeração (4 °C).....	56
Tabela 7	Valores (média \pm desvio-padrão) dos índices de peróxido (IP) e de TBARS da carne mecanicamente separada de frango armazenada por nove dias sob refrigeração (4 °C).....	59
Tabela 8	Índices (média \pm desvio-padrão) de cor de carne mecanicamente separada (CMS) de frango armazenada por nove dias sob refrigeração (4 °C).....	62
Tabela 9	Valores (média \pm desvio-padrão) de pH de carne mecanicamente separada (CMS) de frango cozida, armazenada por 3 dias sob refrigeração (4 °C).....	64
Tabela 10	Valores (média \pm desvio-padrão) de índices de TBARS (mg MAD/kg) da carne mecanicamente separada (CMS) de frango fresca (<i>in natura</i>) e após cozimento cozida e armazenada por três dias sob refrigeração (4 °C).....	65
Tabela 11	Valores (média \pm desvio-padrão) de índices de peróxido (mg CHP/kg) da carne mecanicamente separada (CMS) de frango cozida e armazenada por três dias sob refrigeração (4 °C).....	66

Tabela 12	Valores (média \pm desvio-padrão) de índice de TBARS (mg MAD/kg) da carne mecanicamente separada (CMS) de frango cozida e armazenada por três dias sob refrigeração (4 °C).....	67
Tabela 13	Média de índice de cor (\pm desvio padrão) da carne mecanicamente separada cozida e armazenada a 4°C.....	68
Tabela 14	Composição centesimal média (\pm desvio padrão) da mortadela elaborada com carne mecanicamente separada de frango.....	70
Tabela 15	Valores (média \pm desvio-padrão) de índice de TBARS (mg MAD/kg) de mortadelas formuladas com 60% de diferentes tipos de carne mecanicamente separada (CMS) de frango e armazenadas por 30 dias sob refrigeração (4 °C).....	71

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Folhas da pimenta-da-Jamaica.....	29
Figura 2	Varição do índice antioxidante (IA) pelo TBARS presente no extrato etanólico das folhas de pimenta-da-Jamaica em diferentes concentrações. Barras representam o erro padrão da média.....	54

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
2.1	Carne mecanicamente separada de frango.....	17
2.1.1	Legislação	18
2.1.2	Utilização em produtos cárneos	20
2.2	Oxidação lipídica.....	21
2.2.1	Oxidação lipídica em produtos cárneos.....	23
2.2.2	Oxidação lipídica da carne mecanicamente separada.....	24
2.3	Antioxidantes.....	26
2.4	Pimenta-da-Jamaica.....	29
2.5	Emulsificante.....	32
3	MATERIAL E MÉTODOS	34
3.1	Etapa 1 Obtenção e caracterização do extrato de folhas da pimenta-da-Jamaica.....	34
3.1.1	Obtenção do extrato	34
3.1.2	Caracterização do extrato.....	35
3.1.2.1	Testes fitoquímicos preliminares	35
3.1.2.2	Polifenóis totais.....	37
3.1.2.3	Atividade antioxidante pelo método de DPPH	38
3.1.2.4	Atividade antioxidante pelo método de ABTS⁺⁺	39
3.1.2.5	Atividade antioxidante pelo método TBARS.....	40
3.2	Etapa 2 Aplicação do extrato de pimenta-da-Jamaica na CMS de frango.....	41
3.2.1	Preparo das misturas.....	41
3.2.2	Obtenção da CMS e adição das misturas	41
3.2.3	Metodologia analítica	42

3.2.3.1	Composição centesimal	42
3.2.3.2	pH.....	43
3.2.3.3	Índice de peróxido	43
3.2.3.4	Índice de TBARS.....	44
3.2.3.5	Cor objetiva	45
3.2.4	Análise estatística	45
3.3	Etapa 3 Utilização das CMS de frango, adicionada das misturas de extrato de folhas de pimentada-Jamaica	46
3.3.1	Formulação e processamento das mortadelas	46
3.3.2	Metodologia analítica	47
3.3.3	Análise estatística	48
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1	Etapa 1 Obtenção e caracterização do extrato de pimenta-da-Jamaica.....	49
4.1.1	Triagem fitoquímica.....	49
4.1.2	Atividade antioxidante	51
4.2	Etapa 2 Avaliação do extrato de pimenta-da-Jamaica na CMS de frango.....	55
4.2.1	Caracterização da CMS	55
4.2.2	Avaliação da CMS <i>in natura</i>	56
4.2.3	Avaliação da CMS cozida.....	64
4.3	Etapa 3 Avaliação das CMS de frango adicionada das misturas de extrato de folhas de pimentada-Jamaica	69
5	CONCLUSÃO	73
	REFERÊNCIAS	74

1 INTRODUÇÃO

A segurança alimentar tem sido um tema recorrente nos dias de hoje, a população cresce em ritmo acelerado e alarmante e a produção de alimentos não consegue acompanhar esse crescimento. A escassez de água fresca, a perda de solo arável e o aumento da temperatura, são alguns dos fatores que prejudicam a produção.

Pesquisas que têm sido realizadas na área de ciência e tecnologia de alimentos buscam por inovações tecnológicas que visam o aproveitamento total de alimentos, e um maior tempo de vida útil, evitando assim, possíveis perdas. Diante da atual realidade, na indústria de carnes, foram encontrados meios para aproveitar as enormes quantidades de dorsos, pescoços, resultantes dos processos de desossa de frango. Uma alternativa encontrada foi o uso desses cortes de frango menos valorizados na obtenção da carne mecanicamente separada (CMS), o que diminui os custos de produção de produtos cárneos, como mortadelas e salsichas, e possibilita agregar valor, pois, aproveita carcaças de aves poedeiras ou de descarte.

A legislação brasileira aprova a adição de até 60% de CMS em produtos emulsionados. No entanto, o processo de obtenção da CMS altera a composição da matéria-prima original, tornando-a altamente susceptível à oxidação e reduzindo a sua vida útil, que varia, principalmente, de acordo com a temperatura em que é conservada. Nesse contexto, estudos envolvendo a adição de antioxidantes, estão sendo conduzidos no intuito de minimizar os efeitos negativos gerados pela adição da CMS em produtos cárneos.

No presente trabalho, usamos o extrato de folhas de pimenta-da-Jamaica (*Pimenta dioica* L.), com o intuito de aumentar a vida útil da CMS de frango. É uma árvore perene cujo fruto seco é bastante usado como especiaria, bem como tem sido bastante empregado na indústria farmacológica por possuir

propriedades anestésicas, analgésicas, anticancerígena, antidiabética, antimicrobianas, antioxidante e antisséptica. O objetivo foi avaliar o potencial antioxidante do extrato de pimenta-da-Jamaica quando incorporado na carne mecanicamente separada de frango (CMS) e avaliar os efeitos da utilização da CMS adicionada do extrato na elaboração de mortadelas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Carne mecanicamente separada de frango

A carne ocupa um lugar de destaque na dieta humana, devido à sua composição nutricional. O desequilíbrio entre a sua produção e seu consumo vem determinando o desenvolvimento das mais variadas estratégias visando o permanente abastecimento do mercado consumidor.

No mercado de carne de frango, o corte mais exportado e mais aceito pelo consumidor é o peito, com e sem osso. Diante da atual realidade, houve a necessidade de se encontrar meios para aproveitar as enormes quantidades de cortes, como dorsos e pescoços, resultantes dos processos de desossa (CAVENAGHI, 2005).

Estima-se que essas partes correspondam a cerca de 24% do peso da carcaça, seu destino final, na maioria dos casos, seria a fabricação de farinha (resíduos), porém, partes destes resíduos podem ser aproveitados para o desenvolvimento de um produto novo para a alimentação humana como ingrediente alternativo para produtos já existentes (TRINDADE; FELÍCIO; CASTILLO, 2004).

Uma alternativa encontrada para aproveitar os cortes de frango menos valorizados foi a obtenção da carne mecanicamente separada (CMS), obtida por processo mecânico de moagem e separação de ossos (BRASIL, 2000a). Essa tecnologia surgiu por volta de 1950, nos Estados Unidos, e é importante, pois aproveita parte da carne (proteína barata e de boa qualidade) que seria provavelmente perdida sem a ajuda do novo processo (TRINDADE; FELÍCIO; CASTILLO, 2004).

Segundo Nunes (2003), a CMS é composta de tecidos musculares, conectivos e adiposos, podendo variar de acordo com a qualidade da matéria

prima, o que influencia diretamente a composição de proteínas, umidade, gordura, teor de cálcio e de ferro, a coloração e seu rendimento (MÓRI et al., 2006).

O processo de desossa mecânica causa considerável ruptura celular, resultando numa carne de composição diferente da matéria prima original. Há um aumento no teor de heme proteínas e de gordura, devido a incorporação de lipídios existentes na gordura subcutânea e na medula óssea, o que facilita a interação dos pro - oxidantes com os ácidos graxos insaturados presentes na própria carne, resultando na geração de radicais livres e na propagação das reações oxidativas (TRINDADE; NUNES, 2008). Em relação à quantidade de cálcio, a CMS possui quantidade acima do permitido para esse mineral, proveniente das partículas ósseas (MÓRI et al., 2006).

Segundo o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, a CMS pode ser utilizada em substituição da carne “*in natura*” como matéria-prima dos produtos emulsionados, cozidos, na proporção máxima de 60%, sendo obrigatória a colocação, no rótulo deste produto, a expressão "Contém carne mecanicamente separada" (BRASIL, 2000a).

2.1.1 Legislação

O MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento), através da Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000, estabeleceu parâmetros de identidade e requisitos mínimos de qualidade da CMS – Carne Mecanicamente Separada (BRASIL, 2000a). Nos termos desses parâmetros e requisitos, poderão ser utilizados somente ossos, carcaças ou partes de carcaças de animais de açougue, que tenham sido aprovados para consumo humano pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF). Não poderão ser utilizadas cabeças, pés e patas, obedecendo ao requisito de que ossos, carcaças e partes da carcaça

conservados em temperatura de até +10 °C ou +4 °C ou 0 °C devem ser separados em um prazo não superior a 5, 24 e 48 horas, respectivamente. Os ossos das carcaças ou partes das carcaças não devem ser acumulados na sala de separação (BRASIL, 2000a).

A sala de separação mecânica deverá ser exclusiva para tal finalidade. A temperatura da sala não deverá ser superior a +10 °C.

Após sua obtenção, a carne mecanicamente separada deverá seguir imediatamente para refrigeração ou congelamento, se não for utilizada diretamente como ingrediente de um produto cárneo. Deverá também ser refrigerada a uma temperatura não superior a + 4° C por 24 horas, máximo; se for armazenada em 0° C máximo, poderá ser utilizada em até 72 horas após sua obtenção; e quando for conservada por congelamento, a CMS deve ser congelada em blocos com espessura máxima de 15 cm e conservada em temperatura de -18 °C no prazo máximo de 90 dias (BRASIL, 2000a).

É proibido o congelamento da CMS resfriada quando vencido o seu prazo de conservação. Em todos os casos, deverão ser rigorosamente observados os padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação brasileira, que define como parâmetro de qualidade microbiológica da CMS, a ausência de *Salmonella* spp. em 25 gramas de amostra e valores máximos de 5×10^3 e 1×10^3 UFC/g para *S. aureus* e *Clostridium perfringens*, respectivamente (BRASIL, 2000a).

Na literatura encontrou-se valores de proteína variando de 9,3% a 14,5% e de gordura variando de 14,4% a 27,2%, sendo, nestes casos, o pescoço e dorso de frango usados como matéria prima (FRONING, 1981). Devido a essas oscilação de valores, tornou-se importante estabelecer requisitos mínimos para a carne mecanicamente separada, com intuito de garantir assim, sua qualidade nutricional. São exigidas as seguintes características físico-químicas (BRASIL, 2000a).

- Mínimo de 12% de proteína;
- Máximo de 30% de gordura;
- Máximo de 1,5% (base seca) de cálcio;
- 98% dos ossos presentes na CMS deverão ter tamanho máximo de 0,5 mm e largura máxima de 0,85 mm; e
- Índice de peróxido (máximo) de 1 mEq KOH por kg de gordura.

2.1.2 Utilização em produtos cárneos

A CMS é considerada uma matéria-prima de baixo custo, porém possui um papel importante para o uso industrial (MÓRI et al., 2006). É muito usada para reduzir custos de formulação e evitar prejuízos, aproveitando, com o processo de separação mecânica, toneladas de matéria-prima que poderiam ser descartadas ou mesmo utilizadas para outros fins menos nobres.

Na fabricação de produtos derivados de carnes, alguns limites devem ser respeitados quanto aos níveis de CMS incorporados ao produto. A legislação brasileira (BRASIL, 2000a, 2000b) permite a utilização dessa matéria-prima apenas em produtos cárneos industrializados cozidos (Tabela 1).

Tabela 1 Quantidades permitidas de carne mecanicamente separada de aves em produtos cárneos cozidos

Denominação	Quantidade de CMS
Mortadela	Máximo 60%
Mortadela Tipo Bologna	Máximo 20%
Mortadela de carne de ave	Máximo 40%
Mortadela Italiana	0% (não é permitido adição)
Linguiça cozida	Máximo 20%
Linguiça Tipo Calabresa	Máximo 20%
Linguiça Tipo Portuguesa	Máximo 20%
Linguiça Toscana	0% (não é permitido adição)
Paio	Máximo 20%
Salsicha	Máximo 60%
Salsicha Tipo Viena	Máximo 40%
Salsicha Tipo Frankfurt	Máximo 40%
Salsicha de Carne de Ave	Máximo 40%
Salsicha Viena	0% (não é permitido adição)
Salsicha Frankfurt	0% (não é permitido adição)
Almôndega cozida	Máximo 30%
Hambúrguer cozido	Máximo 30%
Fiambre	Máximo 10%

Fonte: Brasil (2000a, 2000b)

2.2 Oxidação lipídica

Os lipídios conferem propriedades organolépticas aos alimentos, que os tornam desejáveis (flavor, cor, textura), possuem valor nutritivo e constituem uma fonte de energia metabólica, de ácidos graxos essenciais (ácidos linoleico, linolênico e araquidônico) e de vitaminas lipossolúveis A, D, E e K (BOBBIO; BOBBIO, 2003).

No entanto, a oxidação lipídica é um fenômeno espontâneo e inevitável que constitui a principal causa de deterioração dos corpos graxos (lipídios e matérias graxas). Causa a modificação do flavor original e o aparecimento de odores e gostos característicos do ranço, o qual representa para o consumidor, ou para a indústria, uma importante causa de depreciação ou rejeição. Além disso, diminui o tempo de vida e o valor nutritivo do alimento (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

A presença de cadeias insaturadas dos triglicerídeos torna-as mais predisposta a oxidação, fenômeno que pode ocorrer por várias vias, em função do meio e dos agentes catalisadores (fotooxidação, autooxidação e oxidação enzimática).

O mecanismo de autooxidação é descrito como uma reação em cadeia envolvendo os estágios de iniciação, propagação e terminação (DOMINGUES, 2008). Oxigênio, luz, temperatura, pigmentos, metais e grau de insaturações dos ácidos graxos influenciam o mecanismo de oxidação (POLONIO, 1994; SILVA; BORGES; FERREIRA).

Inicialmente, na reação de oxidação lipídica o átomo de hidrogênio é removido do grupo metileno do ácido graxo insaturado, formando o radical livre. Este, ao reagir com o oxigênio, forma o radical peroxil que é altamente reativo e instável. É capaz de remover átomos de hidrogênio de outros ácidos graxos insaturados, propagando o processo de oxidação (BORGES et al., 2011; MAZALLI, 2006) e formando outras espécies reativas de oxigênio (ROS) (MAZALLI, 2006).

A fase de terminação somente ocorre quando estiverem esgotadas as reservas de ácidos graxos insaturados e oxigênio. À medida que os substratos são consumidos, conseqüentemente, vão se esgotando, e assim cessam as reações de propagação e dão início a formação dos produtos finais (BORGES et al., 2011).

A reação termina (terminação) com a interação de dois radicais livres formando um não radical, finalizando a sua participação na reação e obtendo produtos finais estáveis ou não reativos (MAZALLI, 2006).

A alta incidência de radicais livres no organismo é potencialmente tóxicos para a saúde e é capaz de causar desordens metabólicas como mutageneses e desenvolvimento de células cancerígenas (CAMPAGNOL et al., 2011; SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999), podendo levar à problemas no sistema circulatório, arteroesclerose, esclerose múltipla, envelhecimento e Alzheimer (MAZALLI, 2006; SINHA et al., 2009).

2.2.1 Oxidação lipídica em produtos cárneos

Os alimentos cárneos são produtos susceptíveis a alterações de ordem físico-química e microbiológica devido a sua riqueza na composição química (umidade, proteínas, gorduras e outros nutrientes). Dentre estas alterações, a oxidação lipídica e a oxidação da cor são as difíceis de controlar (SAMPAIO et al., 2012).

Os lipídeos conferem características sensoriais desejáveis à carne, porém, são facilmente oxidados, o que interfere na sua qualidade nutricional e sensorial. A qualidade nutricional é afetada, pois a oxidação promove a destruição de ácidos graxos essenciais; destruição de vitamina A, vitamina C, tocoferol e carotenoides; e formação de compostos capazes de reagir com proteínas diminuindo a absorção destas (CATANIA; BARROS; FERREIRA, 2009). A qualidade sensorial é principalmente afetada devido à degradação de ácidos graxos poliinsaturados, o que provoca a formação de produtos residuais (aldeídos, cetonas, alcoóis, ácidos e hidrocarbonetos) responsáveis pelo odor e gosto característico de ranço (BAGGIO, 2004).

De acordo com Borges et al. (2011) e Domingues (2008), além do oxigênio, da exposição à luz e ao calor, da umidade, da presença de pigmentos heme e de bactérias heterofermentativas, os principais fatores que afetam a deterioração da qualidade da carne pela oxidação lipídica são a composição dos fosfolipídios, o teor de ácidos graxos poliinsaturados presentes na carne e a presença de metais catalisadores da reação como cobre e ferro. Osawa, Felício e Gonçalves (2005) ressaltam ainda que, os processos envolvidos na elaboração de produtos cárneos, que incluam moagem, mistura e cozimento, favorecem a formação do produto malonaldeído, comprometendo, assim, a qualidade e vida útil dos produtos.

2.2.2 Oxidação lipídica da carne mecanicamente separada

Na separação mecânica ocorre uma fina moagem que aumenta a superfície de contato, há um aumento da incorporação de ar e uma elevação da temperatura. Isso facilita a interação do produto com agentes pro oxidante como, pigmentos heme, lipídeos insaturados e metais existentes na gordura subcutânea e na hemoglobina presente na medula óssea; o que resulta na geração de radicais livres e na propagação das reações oxidativas (PEREIRA et al., 2011; SCHEEREN, 2011).

A oxidação é tida como um processo natural da carne e seus derivados que resulta na formação de odores indesejáveis, e que é acentuada na carne mecanicamente separada em função de inúmeros fatores. Isso tem sido uma das principais causas de perda de qualidade em CMS, e afeta diretamente as propriedades sensoriais, como cor e textura, que são importantes para a aceitação do consumidor (BERAQUET, 1994).

Apesar da legislação brasileira atual não permitir a adição de antioxidantes e conservantes na carne mecanicamente separada, muito tem-se

estudado sobre a aplicação e efeitos de antioxidantes sintéticos e naturais nesse produto, visando o aumento de sua vida útil, sem comprometimento da saúde do consumidor.

Trindade e Nunes (2008) adicionaram eritorbato e nitrito, em carne mecanicamente separada e acompanharam a estabilidade físico-química e microbiológica da carne mecanicamente separada (CMS) de diferentes origens e estocada durante 99 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, verificaram que a adição de nitrito juntamente com eritorbato foi efetiva na redução dos problemas de oxidação lipídica na CMS de galinhas matrizes, e em menor grau na CMS de poedeiras.

Trindade et al. (2006) avaliaram a qualidade e a estabilidade de mortadelas elaboradas com CMS com adição de eritorbato como pré-cura, antes da estocagem congelada ou durante o processamento, durante 40 dias a 7°C . A pré-cura da CMS garantiu um produto final com menor rancidez e melhor coloração ao longo de todo o tempo de estocagem.

Pereira (2009) avaliou cinco extratos naturais em relação a sua atividade antioxidante in vitro e na Carne Mecanicamente Separada (CMS) de frango, e verificou que os extratos, principalmente, de marcela tiveram o melhor efeito na inibição da oxidação lipídica, enquanto que o extrato de própolis sem álcool manteve por mais tempo a estabilidade da cor da carne.

Estudos realizados por Milani et al. (2001, 2002) demonstraram que extratos de erva mate apresentam propriedades antioxidantes em carne mecanicamente separada de frango. Por outro lado, Terra et al. (2000) verificaram os efeitos antioxidantes e antimicrobianos do extrato de chá preto (*Camellia sinensis*), extrato de alecrim (comercial, fornecido pela CHR Hansen) e lactato de sódio (comercial, fornecido pela Purac) em carne mecanicamente separada de frango, conservada por 15 dias a 5°C e observaram que o lactato de sódio demonstrou maior ação antioxidante, seguido pelo extrato de chá preto e extrato de alecrim.

Parte da qualidade nutricional e sensorial dos produtos cárneos está relacionada com a presença dos lipídeos e de sua composição. No entanto, para proteger os lipídeos e evitar a sua deterioração sensorial aparente é necessária a utilização de antioxidantes (SANTA, 2008).

2.3 Antioxidantes

Antioxidantes são substâncias adicionadas aos alimentos visando inibir, prevenir ou retardar a oxidação das gorduras, de forma a manter as suas características sensoriais e nutricionais, além de aumentar a vida útil do produto (ESTÉVEZ; VENTANAS; CAVA, 2006; HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ et al., 2009; SAMPAIO et al., 2012).

A utilização de produtos antioxidantes durante a fase de processamento dos produtos cárneos é um importante recurso adotado pela indústria. Para que um composto seja eficiente na redução das reações de oxidação é necessário que ele iniba a formação de radicais livres na iniciação da cadeia de oxidação, ou interrompa a sua propagação (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

Os antioxidantes são classificados em primário ou secundário, conforme o mecanismo de ação, podendo atuar na redução dos radicais livres, ou prevenindo a sua formação (MARIUTTI et al., 2008).

Os primários são compostos fenólicos que promovem a remoção ou inativação dos radicais livres, doando elétrons ou hidrogênio aos radicais livres de forma a convertê-los em produtos estáveis, e evitando suas reações com outras moléculas de lipídios insaturados. Os antioxidantes secundários atuam através de diversos mecanismos como agentes quelantes de íons metálicos, sequestradores de oxigênio, promotores da decomposição de hidroperóxidos em espécies estáveis, absorção da radiação ultravioleta ou desativação do oxigênio

singlete, de forma a retardar a etapa de iniciação da autoxidação lipídica (TERRA et al., 2004).

Existe uma grande quantidade de compostos, tanto naturais quanto sintéticos, com propriedades antioxidantes, embora para seu uso em alimentos devam ser cumpridos certos requisitos, tais como, ser compatível com o substrato, não conferir odor ou sabor desagradável ao produto, ser efetivo durante o período de armazenamento do produto, ser estável ao processo de aquecimento e ser facilmente incorporado ao alimento (PADILHA, 2007).

A incorporação de aditivos com função antioxidante em produtos cárneos, no Brasil, é regulamentada pela legislação (BRASIL, 1998). Estas substâncias podem ser utilizadas de forma individual ou combinadas, visando sempre a garantia de qualidade do produto e a segurança alimentar.

Os antioxidantes comumente utilizados na indústria de alimentos são os sintéticos, butil-hidroxianisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT) e t-butilhidroquinona (TBHQ), os quais estão sendo proibidos em muitos países, devido ao seu potencial carcinogênico (SANTA, 2008). No Brasil, o seu uso é controlado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), por meio da IN nº 51 (BRASIL, 2007), que limita a concentração máxima de 0,01g/100g para BHA e para BHT em produtos cárneos. As indústrias também usam outros fatores, tais como, leis, custo e preferência do consumidor por antioxidantes naturais antes de decidir sobre qual antioxidante usar,

Atualmente, os consumidores preocupam-se em adquirir alimentos mais naturais e saudáveis, o que causa rejeição aos antioxidantes artificiais (PEREIRA, 2009). Neste contexto, pesquisas estão sendo realizadas em busca de antioxidantes naturais que apresentem o mesmo potencial antioxidante e que permitam substituir os sintéticos ou fazer associações entre eles, diminuindo a sua quantidade nos alimentos (SANTA, 2008).

Grande parte dos vegetais são fontes de antioxidantes naturais como tocoferóis, vitamina C, carotenoides e compostos fenólicos. O uso de antioxidantes naturais em produtos cárneos tem sido objeto de estudo em diversas matérias-primas e alguns produtos (SELANI et al., 2011).

Bigolin, Weber e Alfaro (2013) avaliaram o efeito do eritorbato de sódio e ácido ascórbico na inibição da oxidação lipídica em carne de galinha desossada mecanicamente, nos tempos 1, 3 e 5 dias à 0 °C, e verificaram que estes foram eficazes na redução da rancidez oxidativa.

Oliveira et al. (2012) testaram o efeitos antioxidante do óleo essencial *Satureja montana* L. em mortadelas formuladas com diferentes níveis de nitrito de sódio, armazenadas a 25 °C durante 30 dias, e obtiveram resultados que sugerem possíveis benefícios do uso combinado de óleo essencial e quantidades mínimas de nitrito de sódio em produtos cárneos curados.

Mohamed e Mansour (2012) testaram o efeito da adição de óleos essenciais de manjerona e alecrim em CMS armazenada congelada (18 °C), por um período de três meses, e constataram uma redução significativa dos escores de TBARS.

Sampaio et al. (2012), estudaram o efeito da combinação de sálvia, orégano e mel sobre a oxidação lipídica, estes ingredientes melhoraram a estabilidade oxidativa dos lipídios e aumentaram a vida útil da carne de frango cozida após 96 horas de refrigeração a 4 °C.

Viuda-Martos et al. (2010) estudaram o efeito da adição de fibra dietética laranja, óleo essencial de alecrim e óleo essencial de tomilho em mortadelas, armazenadas refrigeradas a 4 °C por 24 dias, e conseguiram um efeitos desejáveis na estabilidade oxidativa e na reduzir o crescimento microbiano.

Mielnik, Aaby e Skrede (2003) avaliaram o efeito de antioxidante comerciais de alecrim na estabilidade oxidativa de carne mecanicamente

separada de peru em comparação vitamina E, ácido ascórbico durante 7 meses, e concluíram ser vantajoso o uso do alecrim em relação à estabilidade lipídica.

Selani et al. (2011) usaram extratos de semente e cascas de uva e avaliaram sua capacidade antioxidante sobre a carne de frango crua e cozida armazenadas a -18 °C durante nove meses, seus resultados sugerem que os extratos são eficazes em retardar a oxidação lipídica da carne de frango cru e cozido durante o armazenamento congelado.

Apesar de haver várias pesquisas sobre antioxidantes naturais em produtos cárneos, não foram encontrados relatos sobre o uso da pimenta-da-Jamaica, que atenda essa finalidade.

2.4 Pimenta-da-Jamaica

O nome científico da pimenta-da-Jamaica (Figura 1) é *Pimenta dioica* (L.), pertencente à família Myrtaceae. É uma árvore perene de 6 a 15 metros de altura, com cor marrom pálido, nativa da região do Caribe, especialmente Jamaica e Cuba, que cresce naturalmente a uma temperatura média de 18 a 24 °C (MONTEIRO, 2008; RAO; NAVINCHANDRA; JAYAVEERA, 2012).



Figura 1 Folhas da pimenta-da-Jamaica

No século 17, os exploradores espanhóis (RAGHAVAN, 2007) encontraram essa especiaria na Jamaica e deram o nome de Pimenta-da-Jamaica devido ao seu sabor picante (RAO; NAVINCHANDRA; JAYAVEERA, 2012), semelhante a uma mistura de canela, cravo e noz-moscada (FOR; SPICES, 1998).

É uma árvore amplamente inserida em regiões quentes de todo mundo, sendo também apreciada como planta ornamental, valorizada por sua fragrância e hábito atraente (RAO; NAVINCHANDRA; JAYAVEERA, 2012). No Brasil, é cultivada na Bahia na faixa litorânea entre Valença e Una, sendo bastante usada como especiaria, e tendo como seu principal produto o fruto seco, que reúne as características de aroma e sabor do cravo, canela e noz-moscada (OLIVEIRA et al., 2009). Seu uso como condimento é regulamentado no país desde 1952, por meio do Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) (BRASIL, 1952).

Nos alimentos, a *Pimenta dioica* (L.) é amplamente utilizada como aromatizador de sabor para peixes, sopas, molhos, bolos e carnes (JIANG et al., 2013).

A maioria das extrações químicas de *P. dioica* relatados na literatura estão relacionados com suas folhas e frutos (CHARLES, 2013), principalmente na forma de óleo essencial, sendo o eugenol, a quercetina e o ácido gálico seus compostos isolados mais conhecidos (ZHANGA; LOKESHWAR, 2012). São utilizados pela indústria de alimentos, na perfumaria e cosméticos (KHANDELWAL et al., 2012), seu óleo essencial é também usado na farmacologia por possuir propriedades terapêuticas, tais como anestésicas, analgésicas, anticancerígena, antidiabética, antimicrobianas (HIRASA; TAKEMASA, 1999), antioxidante (JIROVETZ et al., 2007a) e antisséptica (KHANDELWAL et al., 2012; RAO; NAVINCHANDRA; JAYAVEERA, 2012).

Na literatura são encontrados mais resultados referentes ao óleo essencial de pimenta-da-Jamaica, o qual possui compostos bioativos, sendo o seu principal componente o eugenol. Trata-se de um metabólito secundário que inibe a peroxidação lipídica na fase de iniciação e propagação, sequestrando o O₂ ativo e/ou quelando íons Fe⁺³ (BERKE; SHIEH, 2012; DUKE et al., 2003; JIANG et al., 2013; MONTEIRO, 2008; ZABKA; PAVELA; SLEZAKOVA, 2009).

Oliveira et al. (2009) avaliaram a composição química do óleo essencial das folhas e frutos da pimenta-da-Jamaica, através da análise CG-EM, e identificaram 26 compostos, entre os componentes majoritários destaca-se a presença do eugenol, que variou de 72,87% a 82,56% nas folhas e 75,07% nos frutos. O chavicol foi o segundo componente encontrado em maior quantidade, e o terpinen-4-ol foi encontrado em menores quantidades em todas as variáveis estudadas da *P. dioica*. Estes autores constataram ainda que o maior teor de óleo essencial foi encontrado nas folhas secas em estufa, cerca de 2,01%, e o menor foi no fruto, o qual apresentou um teor de cerca de 0,97%.

Padmakumari, Sasidharan e Sreekumar (2011) relataram que os óleos essenciais obtidos do fruto possuíam elevada atividade de eliminação de radicais, e apresentaram alta capacidade quelante, sugerindo assim a sua utilização como antioxidante natural.

Apesar de ser menos estudado, já é possível encontrar alguns dados referentes ao extrato de pimenta-da-Jamaica. Paula et al. (2010) relataram diversas atividades farmacológicas do extrato da *Pimenta dioica* em sua pesquisa, tais como a atividade antiinflamatória, analgésica, antipirética antimicrobiana, atividade cardiovascular, hipoglicemiante e antioxidante.

Kikuzaki et al. (2000) isolaram quatro novos glicosídeos fenólicos do extrato hidroalcoólico do fruto de pimenta-da-Jamaica, e descobriram que estes possuem uma forte atividade de eliminação de radicais contra os radicais DPPH.

Os antioxidantes estão na fase polar, e o que oxida gordura são apolares, o problema é a solubilidade de um produto no outro. Para isso ser possível foi testado o uso de um emulsificante para facilitar a dispersão do extrato na fase gordurosa, e optou-se pela lecitina, pois é um emulsificante natural (orgânico).

2.5 Emulsificante

Emulsão é um sistema com duas fases em alimentos, água e óleo comestível, que consiste em um líquido imiscível, completamente difuso em outro, na forma de gotículas, que necessitam de energia para manter-se dispersas na fase contínua. Sendo a água a fase contínua o óleo a fase dispersa, a emulsão é do tipo óleo em água (O/A), por exemplo o leite. No caso inverso, a emulsão é do tipo água em óleo (A/O) e um exemplo é a manteiga. A emulsão pode ser estabilizada na presença de emulsificantes, os quais diminuem a tensão superficial (ARAÚJO, 1999; BOBBIO; BOBBIO, 1995).

Um emulsificante ou emulsionante é considerado pela legislação vigente como um aditivo alimentar – ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos sem propósito de nutrir, mas com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a fabricação de um alimento – substância que torna possível a formação ou manutenção de uma mistura uniforme de duas ou mais fases imiscíveis no alimento (BRASIL, 1997).

Os emulsificantes são também diferenciados pela carga, sendo os iônicos responsáveis por estabilizar emulsões do tipo óleo/água. Na interface, o grupo alquila interage com as gotículas de óleo, enquanto os grupos finais carregados projetam-se para a fase aquosa. O envolvimento de íons contrários forma uma camada dupla, que previne a agregação das gotículas do óleo (SANTOS; MING; GONÇALVES, 2014).

Esse sistema multifásico, com diferentes substâncias em diferentes fases, possui um papel fundamental nos efeitos de substâncias pró e antioxidantes, uma vez que alteram a proximidade entre os glóbulos de gordura e os pró-oxidantes, antioxidantes e espécies reativas presentes em um sistema emulsionado. A possível atração ou repulsão entre estes compostos depende da estrutura e da carga elétrica do emulsificante, onde uma superfície carregada eletricamente atrai íons de cargas opostas, que podem ser tanto metais de transição quanto compostos antioxidantes (BRANCO; CASTRO, 2011).

Os emulsionantes mais utilizados são mono ou di-glicéridos, ésteres de glicol, derivados de polióxido-etileno (triesterato de sorbinato, polisorbatos) e os fosfolipídeos, especialmente a lecitina (HASENHUETTL, 1997; O'BRIEN, 2009).

A lecitina de soja é um emulsificante natural proveniente da soja, composta por diversos fosfolipídios dissolvidos em óleo como fosfatidilcolina (lecitina), fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol, outros fosfatídios, carboidratos e esteróis, e triglicéridos (CANÇADO; OLIVEIRA; CASTEJON, 2009).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Tecnologia de Carnes e Derivados (LabCarnes) do Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA), e no Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Química (DQI), ambos da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, Estado de Minas Gerais. Foi conduzido em três etapas:

Etapa 1: Obtenção, caracterização e definição da melhor concentração do extrato de folhas da pimenta-da-Jamaica a ser utilizado em produtos cárneos;

Etapa 2: Aplicação do extrato de pimenta-da-Jamaica, adicionado ou não de lecitina de soja, como agente emulsificante na CMS de frango, com intuito de avaliar seu efeito sobre a estabilidade oxidativa durante estocagem; e

Etapa 3: Utilização das CMS de frango, adicionada às misturas de extrato de folhas de pimentada-Jamaica, proposto na etapa 2, na elaboração de mortadelas e avaliação dos efeitos nas suas características físico-químicas.

3.1 Etapa 1 Obtenção e caracterização do extrato de folhas da pimenta-da-Jamaica

3.1.1 Obtenção do extrato

As folhas frescas de pimenta-da-Jamaica (*Pimenta dioica* L.) foram coletadas no período da manhã, em um sítio situado no município de Ribeirão Vermelho, MG, com as seguintes coordenadas: latitude 21° 11' 26 sul e longitude 45° 03' 43 oeste, e altitude de 808 m. Após a coleta, as folhas foram delicadamente limpas com papel toalha, sendo retiradas as partes imperfeitas. Em seguida foram picadas em pedaços pequenos e uniformes e secas em estufa ventilada a 35 °C por aproximadamente 40 dias.

Foram pesadas 90 g de folhas secas e imersas em 840 mL de etanol. A mistura foi transferida para um balão de fundo redondo com capacidade de 1000 mL e aquecida a 45 °C, em manta aquecedora sob refluxo, por um período de 24 horas.

O extrato obtido foi filtrado a vácuo, em funil de Buchner, e concentrado a 70 °C até 10% do volume inicial, utilizando um evaporador rotatório sob pressão reduzida. Após esse processo, o extrato foi armazenado num frasco âmbar a 4°C para posterior caracterização.

3.1.2 Caracterização do extrato

Foram realizadas duplicatas no teste fotoquímico para cada classe de metabólitos testado, para a determinação de polifenóis totais, DPPH, ABTS e TBARS do extrato de pimenta-da-Jamaica. O teste foi realizado em triplicata.

3.1.2.1 Testes fitoquímicos preliminares

O extrato etanólico das folhas de pimenta-da-Jamaica foi submetido a testes analíticos qualitativos para a detecção das principais classes de metabólitos secundários, por meio de reações químicas que resultam no desenvolvimento de coloração e / ou precipitado característico para cada classe de substância analisada. A metodologia foi realizada conforme descrito por Mattos (1997).

Foram realizados os seguintes testes de identificação:

- Ácidos orgânicos: Reativo de Pascová, no qual se a cor descorar indica reação positiva;

- Açúcares redutores: Reativo de Felhing, em que o aparecimento do precipitado vermelho tijolo indica resultado positivo;
- Polissacarídeos: Lugol, no qual a coloração azul indica reação positiva;
- Proteínas e aminoácidos: Teste de Molish, no qual a formação de anel violáceo no contato entre as duas camadas indica reação positiva;
- Catequinas: solução aquosa de vanilina a 1% e ácido clorídrico concentrado, em que o surgimento de uma coloração vermelha intensa indica reação positiva, e a coloração violeta indica reação positiva;
- Derivados de benzoquinonas, naftoquinonas e fenantraquinonas: carbonato de sódio (25%), formaldeído (4%) e α -dinitrobenzeno (5%). Neste teste, a coloração violeta indica reação positiva;
- Glicosídeos cardíacos: Reativo de Kedde, em que a coloração azul ou violeta indicam reação positiva;
- Sesquiterpenos e lactonas: Cloridrato de hidroxilamina e solução metanólica de hidróxido de potássio 10%, nos quais a coloração violeta indica reação positiva;
- Azulenos: Reativo de Kaiser, em que a coloração esverdeada indica reação positiva;
- Carotenóides: Ácido trifluoroacético, no qual a coloração azul indica reação positiva;
- Depsídeos e depsidonas: Éter etílico e cloreto férrico a 1%, nos quais a coloração verde, azul ou cinza indicam reação positiva;
- Taninos: Solução ácida de cloreto férrico a 1%, em que a mudança de coloração ou formação de precipitado indica reação positiva;
- Flavonóides: Ácido clorídrico concentrado e fita de magnésio, em que a coloração rósea indica reação positiva;
- Esteróides e triterpenóides: Reação de Liebermann-Burchard, em que observa-se uma sucessão de cores, do azul evanescente seguido de verde persistente, indicando reação positiva;

- Derivados de cumarina: Teste com luz UV, no qual a fluorescência azul na parte exposta da mancha indica reação positiva;
- Saponina: Teste de formação de espuma, no qual a permanência de uma camada de espuma por mais de meia hora indica reação positiva;
- Alcalóides: Reagente de Bouchardat (precipitado laranja avermelhado), Dragendorff (precipitado vermelho tijolo) e Mayer (precipitado branco), os quais indicam reação positiva.

3.1.2.2 Polifenóis totais

Uma solução de trabalho foi obtida da seguinte forma: 2,5 g do extrato etanólico de folhas de pimenta-da-Jamaica foram diluídos em 20 mL de metanol 50% e 20 mL de acetona 70% (WATERHOUSE, 2002). Em seguida, procederam-se às etapas de repouso (60 minutos) à temperatura ambiente, centrifugação (14000 rpm) durante 15 minutos e filtrado em papel-filtro Whatman n.1, com intuito de obter uma melhor extração. O volume do filtrado foi completado para 50 mL com água destilada. Desta solução promoveu-se uma nova diluição 1:10 (v/v) com água destilada, denominada solução de trabalho.

Os compostos polifenólicos foram determinados utilizando o reagente Folin-Ciocalteu, conforme metodologia proposta por Singleton e Rossi (1965). Em um tubo de ensaio, embrulhado com papel alumínio para diminuir a incidência de luz, 0,5 mL da solução de trabalho foi diluído em 2,5 mL de solução de Folin-Ciocalteu 10% e 2,0 mL de solução de carbonato de sódio 4% (m/v). Procedeu-se à agitação dos tubos para a completa homogeneização, seguido da manutenção em repouso por 2 horas, ao abrigo da luz. Posteriormente, foi feita a leitura da absorvância a 750 nm. Para ajuste do zero, foi utilizado o álcool metílico absoluto como branco.

Para o cálculo do conteúdo de polifenóis totais foi construída uma curva analítica com solução de ácido gálico (EAG) nas concentrações de 5, 10,

15, 20, 30 e 40 $\mu\text{g/mL}$. os resultados foram expressos como equivalentes de ácido gálico (g EAG/100 g do extrato de folhas de pimenta-da-Jamaica)

3.1.2.3 Atividade antioxidante pelo método de DPPH

A determinação da atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical 2,2-dienil-1-picril-hidrazil (DPPH) foi realizada segundo a metodologia descrita por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), e adaptada por Rufino et al. (2007). Para determinar a atividade antioxidante, utilizou-se a solução de trabalho utilizada para a determinação dos polifenóis totais (item 3.1.2.2).

Foi construída uma curva analítica com concentrações de DPPH variando entre 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 60 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Uma alíquota de 100 μL dessa solução foi adicionada a 3,9 mL da solução de DPPH 0,06 mmol L^{-1} , homogeneizando e procedendo à leitura a 515 nm.

Alíquotas de 100 μL de diluições do extrato puro de pimenta, correspondente a concentrações entre 20 mg/L e 100 mg/L , foram adicionadas a 3,9 mL de solução de DPPH 0,06 mmol L^{-1} . A solução foi homogeneizada em agitador de tubos e deixada em repouso por 90 minutos ao abrigo da luz. Para calcular o consumo de DPPH, 100 μL de uma solução controle (metanol 50%, acetona 70% e água destilada na proporção de 4:4:2) foi preparada da mesma maneira. Para ajuste do zero, foi utilizado o álcool metílico como branco. A partir das absorvâncias (a 515 nm) obtidas das diferentes diluições do extrato de pimenta foi construída uma curva analítica cuja equação foi empregada no cálculo do EC_{50} (concentração do extrato, mg/mL , necessário para reduzir 50% do radical DPPH), conforme proposto por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Utilizando a curva analítica de DPPH, o EC_{50} foi também expresso em g de extrato/Kg de DPPH, para expressar o resultado da atividade antioxidante do extrato de folhas de pimenta-da-Jamaica.

3.1.2.4 Atividade antioxidante pelo método de ABTS^{•+}

A determinação da atividade antioxidante pela captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) - ABTS^{•+} foi baseada no método modificado por Rufino et al. (2007). Para determinar a atividade antioxidante, empregou-se a solução de trabalho utilizada para a determinação dos polifenóis totais (item 3.1.2.2).

Para o cálculo da atividade antioxidante, foi utilizado o Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) como padrão de referência. **Através de** uma curva analítica com concentrações variando entre 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 2000 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Uma alíquota de 30 μL da diluição do padrão foi adicionada a 3,0 mL da solução 7 mmol L^{-1} do radical ABTS^{•+}, homogeneizando e, após 6 minutos de repouso (em ambiente escuro) à temperatura ambiente, procedeu-se à leitura a 734 nm. Para o ajuste do zero, foi utilizado o álcool metílico como branco. A equação resultante da curva analítica foi utilizada para calcular o consumo do radical ABTS^{•+} pelo Trolox.

Da mesma maneira, transferiu-se uma alíquota de 30 μL de diferentes diluições do extrato de pimenta-da-Jamaica, correspondente a concentrações entre 20 mg/L e 60 mg/L. Em seguida foi adicionado 3,0 mL do radical ABTS^{•+}. A solução foi homogeneizada em agitador (vortex) e deixada em repouso por 6 minutos ao abrigo da luz. A partir das absorvâncias (a 734 nm) obtidas das diferentes diluições do extrato foi construída uma curva analítica cuja equação resultante foi empregada nos cálculos da atividade antioxidante. Os resultados foram expressos em mmol trolox/g de extrato de folhas de pimenta-da-Jamaica.

3.1.2.5 Atividade antioxidante pelo método TBARS

A avaliação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi usada para medir a capacidade antioxidante do extrato de folhas da pimenta-da-Jamaica e para a definição da concentração a ser trabalhada, tendo sido, o ensaio, conduzido segundo (WONG; HASHIMOTO; SHIBAMOTO, 1995).

Uma suspensão de gema de ovo 10% (m/v) em KCl 1,15% foi utilizada como meio rico em lipídios. A suspensão foi agitada por aproximadamente 30 s e 50 µL do homogenato colocado em um tubo de ensaio, sendo em seguida adicionado 0,1 mL da solução teste (extrato de pimenta-da-Jamaica) e o volume completado para 1 mL com água destilada. Em seguida, foram adicionados, 50 µL da solução de 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride ABAP (0,07 mol/L), 1,5 mL de ácido acético 20% (pH 3,5) e 1,5 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,8% em solução de dodecil sulfato de sódio (SDS) 1,1%. Foi preparado concentrações de 100 mg/L, 500 mg/L 1000 mg/L e 2000 mg/L, do extrato em etanol.

Como controle foi utilizado água destilada, para se observar a completa peroxidação dos lipídeos. A mistura foi agitada e aquecida a 95 °C durante 60 min. Após arrefecimento em banho de gelo, adicionou-se 5 mL de butanol e procedeu-se à centrifugação (Centrifuga modelo UBA 21, Hettich Zentrifugenm Tuttlingen, Alemanha) a 1200 xg por 10 minutos. A absorvância do sobrenadante foi medida a 532 nm, usando um espectrofotômetro Genesys 10 UV (Thermo Scientific Varian, São Paulo, Brasil), e os valores foram expressos como Índice Antioxidante (IA%):

em que

$$IA\% = \left(\frac{A_0 - A_1}{A_0} \right) \cdot 100$$

A_0 = valor da absorvância do controle; e

A_1 = valor da absorvância da amostra.

3.2 Etapa 2 Aplicação do extrato de pimenta-da-Jamaica na CMS de frango

3.2.1 Preparo das misturas

Após a obtenção e caracterização do extrato etanólico das folhas de pimenta-da-Jamaica foram elaborados cinco tratamentos com diferentes proporções de extrato e aditivo alimentar, sendo esse posteriormente aplicado na CMS de frango com intuito de avaliar o seu efeito sobre a estabilidade oxidativa durante a estocagem:

CONT = sem extrato e sem lecitina;

EXT = extrato e lecitina na proporção de 1:0;

M1 = extrato e lecitina na proporção de 1:1;

M2 = extrato e lecitina na proporção de 2:1;

M3 = extrato e lecitina na proporção de 3:1;

A lecitina foi usada como emulsificante, para melhorar a dispersão do extrato na gordura do produto (alimento).

3.2.2 Obtenção da CMS e adição das misturas

Para a produção da CMS, foram utilizados, como matéria-prima, dorsos e pescoços de frango, com pele, adquiridos congelados no comércio

local. Foi utilizado um desossador mecânico tipo rosca sem fim (marca PV e capacidade 100 kg/h) para a obtenção da CMS.

Parte da carne mecanicamente separada foi congelada a -18°C e armazenada para posterior caracterização, por meio da análise de composição centesimal, e o restante foi separado em porções de aproximadamente 300 g para cada tratamento. Imediatamente após a obtenção da CMS, foram adicionados 1000 ppm (concentração definida na Etapa 1 do experimento) dos tratamentos EXT, M1, M2 e M3 na CMS, e homogeneizados manualmente. Uma parte do homogenato foi acondicionado em sacos plásticos com aproximadamente 50 g, identificados e armazenados para serem avaliadas nos tempos 0, 3, 6 e 9 dias a 4°C ; o restante (aproximadamente 50 g) foi embalado em sacos plásticos fechado a vácuo e cozidos por imersão em água quente (85°C) durante 10 minutos. Após o cozimento, os sacos foram mantidos em banho de água e gelo (0°C) por 10 minutos e armazenados em câmara fria (4°C) para serem avaliados após 1 e 3 dias de estocagem. Os tratamentos adicionados à CMS foram analisadas quanto ao pH, índice de peróxido (IP), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e cor objetiva (CIELAB).

3.2.3 Metodologia analítica

3.2.3.1 Composição centesimal

As análises da composição centesimal da CMS foram realizadas em duplicata; seguindo os métodos oficiais propostos pela Association of Official Analytical Chemists - AOAC (2000). A umidade foi obtida por meio da secagem da amostra a 105°C até a obtenção do peso constante (AOAC 950.46); o extrato etéreo (gordura) foi obtido usando o método de Soxhlet (AOAC 960.39); as proteínas, usando a metodologia do micro-Kjeldahl e o fator de

conversão do nitrogênio de 6,25 (AOAC 968.06); e o resíduo mineral fixo (cinzas) foi obtido após incineração da amostra a 550°C (AOAC 950.46).

3.2.3.2 pH

Para a determinação do pH nos tratamentos, foram realizadas leituras, em duplicata, com eletrodo de penetração acoplado a um potenciômetro portátil (Digimed, M DM 20), previamente calibrado com dois padrões (pH 7 e pH 4) a 20 °C pela imersão do eletrodo em solução, sendo a média utilizada na análise estatística.

3.2.3.3 Índice de peróxido

O índice de peróxido (IP) foi avaliado pela determinação de hidroperóxidos, segundo método PCA-FOX, descrito por Gay e Gebicki (2002), com algumas modificações. As avaliações foram realizadas em duplicata.

Seis gramas de amostra foram trituradas em processador Turrax (Turratec Te102) com 25 mL de metanol refrigerado (-18 °C) por aproximadamente 30 segundos. O homogenato obtido foi transferido para tubo centrífuga, lavando-se o frasco e o turrax com 5 mL de metanol a -18 °C e centrifugado em centrífuga Mettich (Zentrifuger EBA21) por 3 minutos a 1400 xg. Quando necessário, o sobrenadante foi recolhido em frasco âmbar e conservado refrigerado (4 °C) até a sua utilização.

Alíquotas de 100 µL e 200 µL do sobrenadante foram transferidas para tubos de ensaio contendo 200 µL de solução analítica (alaranjado de xilenol tetrasódico 2,5 mmol L⁻¹; sulfato ferroso de amônio hexahidratado 2,5 mmol L⁻¹), sendo o volume final ajustado para 2 mL com a adição de água destilada. O branco foi preparado adicionando 1800 µL de água a 200 µL da solução

analítica. Os tubos de ensaio foram tampados e mantidos em incubação à temperatura entre 20 e 25 °C em ambiente escuro, por 30 minutos, quando foram lidas as absorvâncias em espectrofotômetro Genesys 10 UV (Thermo Scientific Varian, São Paulo, Brasil), a 560 nm.

A concentração de hidroperóxidos foi determinada a partir da curva analítica elaborada com hidroperóxido de cumeno (CHP) e os resultados expressos em miligrama de hidroperóxido de cumeno por quilo de produto (mg de CHP/kg).

3.2.3.4 Índice de TBARS

A oxidação lipídica foi avaliada em duplicata, pelo número de substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico (TBARS), segundo Jo, Lee e Ahn (1999), com algumas adaptações.

Cinco gramas de amostra foram trituradas em processador Turrax (Turratec Te102) com 15 mL de água destilada por aproximadamente 30 segundos. Uma alíquota de 1 mL foi transferida para um tubo de centrífuga e adicionado de 50 µL BHT 7,2% (dissolvido em etanol), e 2 mL de solução de TBA 20 mmol L⁻¹ em ácido tricloroacético (TCA) 15%. Os tubos foram agitados e incubados em banho-maria fervente por 15 minutos a 90 °C. Após o resfriamento em banho de gelo por cerca de 10 minutos, os tubos foram centrifugados a 3000 x g por 15 minutos e a leitura da absorvância realizada a 532 nm. No tubo branco, a alíquota de amostra foi substituída por 1 mL de água destilada.

A concentração de malonaldeído (MDA) foi determinada a partir da curva analítica elaborada com 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) e os resultados expressos em miligramas de malonaldeído por quilograma de amostra (mg de

MDA/kg). As análises TBARS foram realizadas no tempo 0, aproximadamente 8 horas após a obtenção dos tratamentos, mantido sobre refrigeração à 4 °C.

3.2.3.5 Cor objetiva

A cor instrumental foi determinada utilizando um espectrofotômetro colorimétrico CM700 (Konica Minolta Sensing Inc. Osaka, Japan), calibrado com o iluminante D65, ângulo do observador de 10° e componente especular excluído (SCE mode). Os componentes, luminosidade (L*), índice de vermelho (a*) e índice de amarelo (b*) foram determinados a partir de cinco leituras (o aparelho foi zerado previamente com o plástico usado para embalar as amostras) realizadas em vários pontos da superfície das amostras (ainda nos sacos), com espessura de aproximadamente 15 mm, contra o fundo preto. Os índices de saturação (C*) e o ângulo de tonalidade (h*) foram também calculados, sendo: $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$; e $h^* = \tan^{-1} (b^*/a^*)$.

3.2.4 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística, em delineamento inteiramente casualizado, com os tratamentos dispostos em parcelas subdivididas, sendo 5 (EXT, M1, M2 M3 e Controle) na parcela e 4 tempos (0, 3, 6 e 9 dias de estocagem refrigerada) na subparcela para CMS *in natura* e 2 tempos (0 e 3 dias de estocagem refrigerada) na subparcela para CMS cozida. O experimento foi realizado em três repetições, e as médias comparadas pelo agrupamento pelo teste de Tukey e pelo teste F, a 5% de probabilidade. A análise estatística dos dados foi realizada no programa SAS 9.2 (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE - SAS INSTITUTE, 2010).

3.3 Etapa 3 Utilização das CMS de frango, adicionada das misturas de extrato de folhas de pimentada-Jamaica

3.3.1 Formulação e processamento das mortadelas

Para elaboração das mortadelas foram utilizadas as CMS contendo os tratamentos descritos no item 3.2.1, na mesma concentração utilizada na Etapa 2.

A formulação básica das mortadelas é apresentada na Tabela 2. O toucinho foi cortado em cubos e congelado (0 °C a 1 °C) até o momento da utilização.

Tabela 2 Formulação utilizada na elaboração das mortadelas

Ingredientes	Quantidade (%)
CMS	60,0
Toucinho	9,0
Água/gelo	20,0
Isolado proteico de soja	3,5
Fécula de mandioca	3,2
Sal	1,8
Polifosfatos (Fosmax E-10)*	0,50
Nitrito/nitrato (Curamax C 374)*	0,50
Ascorbato/Eritorbato (Fixamax C-202)*	1,00
Condimento para mortadela (913)*	0,50

* New Max Industrial Ltda

A CMS foi também usada congelada. A CMS e o gelo foram primeiramente trituradas no *cutter* KJ-10 (Indústrias Jamar Ltda.; Tupã, SP, Brasil), em alta velocidade, sendo adicionados na sequência o fosfato, sal, nitrito de sódio e condimentos. Em seguida, a velocidade do *cutter* foi reduzida e

acrescentados o toucinho, a fécula e o ácido ascórbico. Procedeu-se à homogeneização até que a temperatura da massa atingisse 15 °C, a massa foi embutida (gomos de ± 250g) em tripa artificial de poliamida (STARTRIP® Z-R, SCHUR Equipamentos e Embalagens; Barueri, SP, Brasil) de 67 mm de diâmetro e cozidas por imersão em água, de acordo com a seguinte programação: 55 °C/30 minutos, 65 °C/30 minutos, 75 °C/30 minutos e 85 °C até alcançar a temperatura interna de 71 °C (acompanhada pela inserção de um termopar no centro da massa).

Após o cozimento, as mortadelas foram mantidas em banho de água e gelo (0 °C) por 10 minutos e estocadas em câmara fria (4 °C) para posterior análise de pH, índice de peróxido (IP), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e cor objetiva (CIELAB), nos tempos 0 e 30 dias.

3.3.2 Metodologia analítica

As análises de pH, índice de peróxido (IP) e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram realizadas conforme descrito no item 3.2.3.

A cor instrumental foi determinada utilizando um espectrofotômetro colorimétrico CM700 (Konica Minolta Sensing Inc. Osaka, Japan), calibrado com o iluminante D65, ângulo do observador de 10° e componente especular excluído (SCE mode). Os componentes luminosidade (L^*), índice de vermelho (a^*) e índice de amarelo (b^*) foram determinados a partir de cinco leituras realizadas nas mortadelas (cortadas ao meio) em diferentes pontos da superfície interna. Os índices de saturação (C^*) e o ângulo de tonalidade (h^*) foram também calculados, sendo: $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$; e $h^* = \tan^{-1} (b^*/a^*)$.

3.3.3 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística, em delineamento inteiramente casualizado, com o arranjo dos tratamentos em parcelas subdivididas, sendo 5 (EXT, M1, M2, M3 e Controle) na parcela e o 2 tempos (0 e 30 dias) na subparcela. O experimento foi realizado em três repetições, e a comparação de médias pelo teste F, a 5% de probabilidade. A análise estatística dos dados foi realizada no programa SAS 9.2 (SAS INSTITUTE, 2010).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Etapa 1 Obtenção e caracterização do extrato de pimenta-da-Jamaica

As folhas frescas usadas na obtenção do extrato apresentaram uma redução de 50,13 % quando secas. O extrato etanólico obtido das folhas secas de pimenta-da-Jamaica apresentou-se como um resíduo verde escuro e viscoso, com odor característico da planta. O rendimento do extrato das folhas secas em estufa foi de 7,36%. Na literatura, há relatos sobre o rendimento do óleo essencial, o qual apresenta valores menores quando comparado com o rendimento do extrato.

Oliveira et al. (2009) avaliaram o rendimento do óleo essencial do fruto e das folhas (folhas verdes, folhas secas ao sol e folhas frescas em estufa) e verificaram que o maior teor de óleo essencial foi encontrado nas folhas secas em estufa (2,01%), e o rendimento do fruto dessa espécie apresentou um teor menor, 0,97%. Oliveira, Oliveira e Sacramento (2007) obtiveram um rendimento de 1,1% do óleo essencial de *pimenta dioica*.

4.1.1 Triagem fitoquímica

Para verificar a presença de alguns constituintes químicos naturais do extrato de folhas de pimenta-da-Jamaica, foram realizados testes de análise fitoquímica através de técnicas descritas por Mattos (1997). Os resultados encontram-se descritos na tabela 3, os quais foram considerados positivos pela ocorrência da formação de precipitado, surgimento de colorações, formação de espumas e manchas coloridas no extrato.

Foi detectada a presença de diferentes grupos de metabólitos secundários tais como taninos, flavonóides, azulenos, esteróides e triterpenos,

depsídeos e depsídonas, alcalóides, bem como a presença de açúcares redutores, indicando a diversidade de compostos químicos funcionais do extrato da folha da *Pimenta dioica* (L.).

A presença de açúcares redutores é justificável, pois esses açúcares constituem o metabolismo primário das plantas e podem ainda fazer parte da estrutura dos compostos do metabolismo secundário (ANDRADE, 2010).

Tabela 3 Triagem fitoquímica do extrato etanólico das folhas de pimenta-da-Jamaica (*Pimenta dioica* L.)

Metabólitos	Folhas
Ácidos orgânicos	-
Açúcares redutores	+
Polissacarídeos	-
Proteínas e aminoácidos (Molish)	-
Proteínas e aminoácidos (Ninhidrina)	-
Taninos	+
Catequinas	-
Derivados de benzoquinas, naftoquinonas e fenantraquinonas	-
Flavonóides	+
Glicosídeos cardíacos (Kedde)	-
Glicosídeos cardíacos (B)	-
Sesquiterpenlactonas e outras lactonas	-
Azulenos	+
Carotenóides	-
Triterpenóides/esteroides	+
Depsídidos e depsídonas	+
Derivados da cumarina	-
Saponina espumílica	-
Alcalóides (Bouchardat)	+
Alcalóides (Dragendorff)	+
Alcalóides (Mayer)	-

(+) positivo, (-) negativo.

Marzouk et al. (2007) isolaram e identificaram o composto metabólito taninos do extrato da folha de *P. dioica*, e avaliaram a atividade anticancerígena e antioxidante desse composto.

Foram identificados no extrato de pimenta-da-Jamaica a presença de flavonoides, segundo Lobo et al. (2013), os quais possuem função antioxidante e uma possível atividade antifúngica. Beserra et al. (2014) relatam que os compostos depsídidos e depsidonas, presentes no extrato estudado, têm sido reconhecidos por apresentarem atividades antioxidantes, além de atividade antivirais, antitumorais, analgésicas e antipiréticas.

Os alcalóides formam uma classe de metabólitos secundários bastante diversificada, caracterizados por apresentar uma ampla gama de atividades biológicas como anticolinérgica, emética, antimalárica, anti-hipertensivo, hipoanalgésica, amebicida, estimulante do SNC, antiviral, miorelaxante, anestésica, antitumoral, antitussígeno, colinérgica, dentre outras (BESERRA et al., 2014).

Ácidos orgânicos; polissacarídeos; proteínas e aminoácidos; catequinas; derivados de benzoquinas, naftoquinonas e fenantraquinonas; glicosídeos cardíacos; sesquiterpenlactonas e outras lactonas; carotenoides; derivados da cumarina; saponina espumídica não foram encontrados ou a técnica utilizada não foi capaz de detectá-los.

Devido à presença de compostos com potencial antioxidantes como açúcares redutores, taninos, flavonóides, depsídidos e depsidonas, avaliou-se a atividade antioxidante do extrato por diferentes métodos.

4.1.2 Atividade antioxidante

O teor de polifenóis totais e a capacidade do extrato da pimenta-da-Jamaica de sequestrar radicais livres (DPPH e ABTS) são descritos na Tabela 4.

Na quantificação do teor de polifenóis totais, foi encontrado $407,81 \pm 45,54$ mg EAG/g (mg equivalentes de ácido gálico por g da amostra) no extrato etanólico da folha da pimenta-da-Jamaica. Melo et al. (2008) verificaram a

variação dos resultados obtidos para polifenóis totais, expressa em ácido gálico, para diferentes espécies de pimenta, encontrando valores de polifenóis totais de 294,00 mg EAG /100g, para pimenta bode, 347,12 mg EAG /100g para a cumari e 1328,28 mg EAG/100g para a pimenta malagueta.

Foi observada uma boa atividade sequestradora do radical livre DPPH do extrato etanólico de folhas de pimenta-da-Jamaica (EC_{50}), em um estudo feito Mariutti et al. (2008), os quais avaliaram o extrato etanólico do fruto da pimenta-da-Jamaica, e obtiveram $8,3 \pm 0,1$ g de extrato/kg de DPPH, correspondendo a duas vezes mais ao encontrado nas folhas (Tabela 4), indicando uma melhor atividade do extrato obtido da folha.

No mesmo estudo, avaliaram o extrato à base de alecrim ($EC_{50} = 3,86 \pm 0,06$ g de extrato/kg de DPPH), segundo Macedo (2008), o qual destaca-se entre as plantas com propriedade antioxidante mais utilizadas em produtos cárneos, e é usado para prevenir a deterioração oxidativa dos alimentos e reduzir o emprego de antioxidantes sintéticos. Os resultados obtidos para os DPPH no presente estudo ficaram próximos aos valores expressos para o extrato de alecrim.

Tabela 4 Teor de polifenóis totais e atividade antioxidante (DPPH, ABTS) do extrato etanólico das folhas de pimenta-da-Jamaica

Características	Valores
Polifenóis Totais (mg EAG/100g)	$407,81 \pm 45,54$
DPPH EC_{50} (mg/mL ⁻¹)	$0,051 \pm 0,004$
EC_{50} (g de extrato/kg de DPPH)	$4,60 \pm 0,36$
ABTS (mmol trolox /g de extrato)	$25,18 \pm 1,79$

EAG = equivalente de ácido gálico; DPPH = radical 2,2-dienil-1-picril-hidrazil; EC_{50} = concentração do extrato necessário para reduzir 50 % do radical DPPH; ABTS = radical 2,2'-azinobis- 3-etil-benzotiazolina-6-sulfonado).

A planta alecrim é uma planta considerada com alta atividade antioxidante, e apresentou um DPPH $EC_{50} = 0,09667 \text{ mg/mL}^{-1}$, em experimento conduzido por Milani et al. (2012). Tal valor demonstra que o extrato alcoólico de folhas de pimenta-da-Jamaica revela maior atividade antioxidante quando comparada ao extrato comercial oleoso de alecrim (DPPH $EC_{50} = 0,051 \pm 0,004 \text{ mg/mL}^{-1}$). Note-se que, o extrato oleoso de alecrim, está disponível comercialmente para uso como antioxidante natural.

Mariutti et al. (2008), em seus estudos, encontraram valores de ABTS para o extrato do fruto da pimenta-da-Jamaica correspondente a $57,0 \pm 0,3 \text{ mmol trolox/g}$ de extrato. Quando confrontado esse resultado com o obtido no presente estudo ($25,18 \pm 1,79 \text{ mmol trolox/g}$ de extrato), observa-se que o extrato da folha da pimenta apresentou valores 56% menores, possuindo assim, menor efeito de captura do radical com base no método ABTS.

Os métodos utilizados para a determinação da capacidade antioxidante diferem tanto em termos de princípios de ensaio: o método do DPPH aplica-se melhor quando os antioxidantes estão presentes em solventes orgânicos, o método do ABTS abrange tanto os antioxidantes de natureza lipofílica ou hidrofílica, além disso, os diferentes métodos de extração utilizados (aquosa, etanólico ou a partir de solventes orgânicos) podem interferir nos valores obtidos. Baseado nessa afirmativa, justifica-se a diferença dos resultados quando comparados (RIBEIRO et al., 2013).

Os dois métodos (DPPH e ABTS) foram utilizados para avaliar a captura de radical hidroxila. Nisso, observou-se a necessidade de testar um método que quantificasse o produto formado durante a peroxidação de lipídios, conduzido através do teste substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). O extrato foi analisado em 4 concentrações diferentes (100 mg/L, 500 mg/L, 1000 mg/L e 2000 mg/L), sendo o maior percentual de atividade antioxidante

obtido nas concentrações de 500 mg/L (28,09 %) e 1000 mg/L (28,60 %), representado na Figura 2.

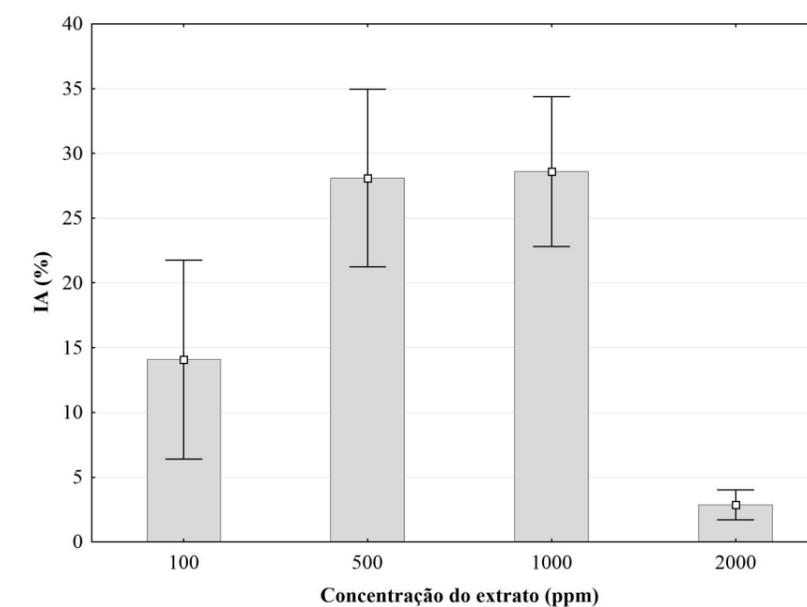


Figura 2 Variação do índice antioxidante (IA) pelo TBARS presente no extrato etanólico das folhas de pimenta-da-Jamaica em diferentes concentrações. Barras representam o erro padrão da média.

Com base nos resultados alcançados na avaliação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Figura 2), definiu-se a concentração de 1000 mg/L como sendo a melhor opção a ser usada na Etapa 2. Essa concentração foi escolhida com o intuito de garantir o efeito antioxidante no produto final.

O potencial antioxidante do extrato da folha da pimenta-da-Jamaica pode supostamente ser atribuído aos componentes eugenol, eugenol metil e β -cariofileno, uma vez que estes compostos já foram identificado em vários

estudos com óleo essencial (obtidos de folhas e frutos) como componentes majoritários (JIANG et al., 2013; KHANDELWAL et al., 2012; RAO; NAVINCHANDRA; JAYAVEERA, 2012; CARDOSO, 2011; PAULA et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2009; REIS, 2009; ZABKA; PAVELA; SLEZAKOVA, 2009; KIKUZAKI et al.; 2000; JIROVETZ et al., 2007b; KIKUZAKI et al., 1999).

4.2 Etapa 2 Avaliação do extrato de pimenta-da-Jamaica na CMS de frango

4.2.1 Caracterização da CMS

O rendimento do processo de desossa mecânica foi de $74,36 \pm 7,26$ %, resultado acima do relatado por Froning (1981), 55 a 70%, o qual afirma ainda que, quanto maior o rendimento maior a quantidade de cinzas e lipídeos, o que pode ser verificado na Tabela 5. Mesmo com rendimento alto, a CMS obtida apresentou uma composição centesimal dentro dos padrões estabelecidos pelo regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de carne mecanicamente separada de aves (BRASIL, 2000a), que define teores de gordura máximo de 30% e de proteína mínima de 12%.

Tabela 5 Composição centesimal média (\pm desvio padrão) da carne mecanicamente separada de frango

Composição	%
Umidade	61,60 \pm 0,53
Lipídios	20,02 \pm 0,70
Proteína	16,62 \pm 0,29
Cinza	1,11 \pm 0,10

Os teores de cinza e umidade não possuem valores padrões estabelecidos para CMS na legislação vigente. Porém, os resultados encontrados nesse trabalho foram semelhantes aos encontrados por Gonçalves et al. (2009), 1,18% e 61,46% respectivamente, ao avaliarem a qualidade físico-química da CMS de frango comercializada em dois frigoríficos.

4.2.2 Avaliação da CMS *in natura*

A CMS obtida foi mantida sobre refrigeração à 4 °C e avaliada nos tempos 0, 3, 6 e 9 dias. Houve interação significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos e os tempos de armazenamento refrigerado para os valores de pH (Tabela 6). O pH da CMS é uma variável que depende de vários fatores, dentre os quais o estado de conservação da carne, bem como de suas condições microbiológicas.

Tabela 6 Valores (média \pm desvio-padrão) de pH de carne mecanicamente separada (CMS) de frango armazenada por nove dias sob refrigeração (4 °C)

Tratamento	Tempo de armazenamento (dias)			
	0	3	6	9
Controle	6,53 \pm 0,04 ^{abA}	6,58 \pm 0,01 ^{aA}	6,47 \pm 0,01 ^{aB}	6,57 \pm 0,01 ^{aA}
Extrato	6,48 \pm 0,02 ^{bcB}	6,56 \pm 0,03 ^{aA}	6,48 \pm 0,05 ^{aB}	6,49 \pm 0,05 ^{bB}
M1	6,55 \pm 0,02 ^{aA}	6,55 \pm 0,02 ^{aA}	6,45 \pm 0,02 ^{aB}	6,54 \pm 0,02 ^{abA}
M2	6,48 \pm 0,02 ^{bcB}	6,55 \pm 0,03 ^{aA}	6,46 \pm 0,04 ^{aB}	6,49 \pm 0,02 ^{bAB}
M3	6,45 \pm 0,02 ^{cB}	6,53 \pm 0,04 ^{aA}	6,49 \pm 0,05 ^{aAB}	6,53 \pm 0,02 ^{abA}

Controle = CMS sem adição de antioxidantes; Extrato = CMS adicionadas de extrato de pimenta-da-Jamaica; M1 = CMS adicionada de mistura extrato: lecitina na proporção de 1:1; M2 = CMS adicionada de mistura extrato:lecitina na proporção de 2:1; e M3 = CMS adicionada de mistura extrato:lecitina na proporção de 3:1. Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

O extrato puro usado no trabalho apresentou valores de pH próximos de 4,20, enquanto os valores de pH da lecitina foram em torno de 5. A adição do extrato puro e da lecitina não afetaram os valores de pH quando adicionados à CMS de frango, uma vez que os valores do controle não diferiram dos demais tratamentos.

Os valores iniciais (tempo 0) de pH das amostras controle e M1 não diferiram ($P > 0,05$), apresentaram maiores valores médios do que o extrato, M2 e o M3 ($P < 0,05$). O comportamento dos tratamentos foi similar com o tempo, exceto para o M1, cujo valor médio de pH ($6,55 \pm 0,02$) não se alterou entre os tempos 0 e 3 dias. Todos os tratamentos apresentaram uma queda no tempo 6, seguido de um aumento no final do armazenamento. De forma geral, o pH dos tratamentos nos tempos 0 e 9 dias não diferiram ($P > 0,05$), com exceção do M3 que aumentou significativamente seu valor no tempo final, subindo de $6,45 \pm 0,02$ para $6,53 \pm 0,02$, não diferindo dos valores médios de pH do controle e M1.

Esses resultados corroboram com os obtidos por Pereira (2009), o qual avaliou cinco extratos naturais em relação a sua atividade antioxidante in vitro e na Carne Mecanicamente Separada (CMS) de frango, mantida sob refrigeração a aproximadamente 4 °C durante 10 dias, e encontrou valores médios de pH próximos de 6,4 a 6,5 nos diferentes tratamentos utilizados.

No presente trabalho, foram usados somente o dorço e o pescoço com pele de frango. No entanto, os valores de pH foram próximos aos obtidos por Nunes (2003), no que concerne ao pH da CMS de galinhas matrizes, analisadas ao longo de 99 dias de estocagem congelada a -18 °C, os quais variaram de 6,3 a 6,5 para o controle.

Resultados semelhantes foram obtidos por Trindade e Nunes (2008), ao estudarem diferentes tratamentos (CMS obtida de matrizes de corte e de poedeiras comerciais, adicionados de 150 ppm de nitrito e 150 ppm de nitrito e

500 ppm de eritorbato). Ao longo dos 99 dias de estocagem a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, obtiveram valores de pH entre 6,4 e 6,6, mas sem diferenças estatisticamente significativas ($P > 0,05$).

A CMS apresenta normalmente valores de pH mais elevados, na faixa de 6,5 a 7,0, do que as carnes desossadas manualmente, as quais apresentam valores de pH na faixa de 5,8 a 5,9 para carne de peito e de 6,2 a 6,3 para coxa. Isso deve-se principalmente à incorporação da medula vermelha, a qual apresenta pH na faixa de 6,8 a 7,4 (GONÇALVES et al., 2009; PEREIRA, 2009; SOUSA et al., 2003; TRINDADE; NUNES, 2008). Estes valores de pH elevado favorecem a capacidade de retenção de água, mas, por outro lado, contribuem para o aumento da carga bacteriana, acelerando o processo de deterioração (TRINDADE; FELÍCIO; CASTILLO, 2004). Além disso, favorece a oxidação lipídica (TRINDADE; NUNES, 2008).

Para verificar a oxidação lipídica foram feitos testes de índice de peróxido (IP) e de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), os resultados obtidos estão expressos na Tabela 7, os quais indicam que houve interação significativa entre os tratamentos e os tempos de armazenamento refrigerado ($P < 0,05$). O comportamento do tratamento controle, do extrato e do M2, foi similar, pois, seus valores de índice de peróxido diminuíram no tempo final, comparando com os valores iniciais. Os tratamentos M1 e M3, no entanto, não diferiram no tempo final, comparando com os valores iniciais ($P < 0,05$).

Tabela 7 Valores (média \pm desvio-padrão) dos índices de peróxido (IP) e de TBARS da carne mecanicamente separada de frango armazenada por nove dias sob refrigeração (4 °C)

Característica	Tratamento	Tempo de armazenamento (dias)			
		0	3	6	9
Índice de Peroxido (mg CHP/kg)	Controle	51,25 \pm 1,73 ^{aA}	41,36 \pm 0,53 ^{aC}	46,34 \pm 0,76 ^{aB}	46,50 \pm 1,78 ^{aB}
	Extrato	48,35 \pm 2,23 ^{abA}	41,72 \pm 1,61 ^{aC}	45,39 \pm 2,23 ^{aAB}	44,85 \pm 2,22 ^{abBC}
	M1	41,87 \pm 0,73 ^{dAB}	39,61 \pm 0,85 ^{aB}	43,95 \pm 0,59 ^{aA}	42,01 \pm 0,74 ^{bAB}
	M2	46,81 \pm 4,86 ^{bcA}	40,25 \pm 0,87 ^{aB}	45,41 \pm 2,42 ^{aA}	40,80 \pm 1,34 ^{bB}
	M3	43,52 \pm 1,00 ^{cdA}	39,94 \pm 1,00 ^{aB}	44,08 \pm 0,84 ^{aA}	43,02 \pm 0,85 ^{abAB}
Índice de TBARS (mg MAD/kg)	Controle	1,99 \pm 0,07 ^{aC}	2,06 \pm 0,05 ^{aBC}	2,10 \pm 0,03 ^{aB}	2,23 \pm 0,11 ^{aA}
	Extrato	1,64 \pm 0,04 ^{bA}	1,55 \pm 0,03 ^{bB}	1,46 \pm 0,03 ^{bC}	1,52 \pm 0,01 ^{bBC}
	M1	0,76 \pm 0,03 ^{eC}	0,92 \pm 0,01 ^{dA}	0,81 \pm 0,01 ^{dBC}	0,87 \pm 0,01 ^{dAB}
	M2	1,13 \pm 0,05 ^{dA}	1,05 \pm 0,01 ^{cBC}	0,99 \pm 0,02 ^{cC}	1,06 \pm 0,03 ^{cAB}
	M3	1,34 \pm 0,03 ^{cA}	1,13 \pm 0,06 ^{cB}	1,02 \pm 0,02 ^{cC}	1,08 \pm 0,04 ^{cBC}

Controle = CMS sem adição de antioxidantes; Extrato = CMS adicionadas de extrato de pimenta-da-Jamaica; M1 = CMS adicionada de mistura extrato:lecitina na proporção de 1:1; M2 = CMS adicionada de mistura extrato:lecitina na proporção de 2:1; M3 = CMS adicionada de mistura extrato:lecitina na proporção de 3:1; CHP = hidroperóxido cumeno; e MAD = malonaldeído.

Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

Os peróxidos são os primeiros compostos formados quando uma gordura deteriora, são produtos primários da oxidação; o que justifica os índices altos obtidos no tempo 0. No entanto, são compostos instáveis, sobretudo à temperaturas elevadas ou em presença de metais de transição; o que pode justificar a sua oscilação no decorrer do tempo (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

Os índices de peróxidos dos tratamentos diferiram ao longo do armazenamento ($P < 0,05$), porém, o comportamento foi similar para todos os tratamentos. No tempo final (9 dias), as amostras controle, extrato e M3 apresentaram maiores valores médios de índice de peróxido (IP = $44,79 \pm 1,73$ mg de CHP/kg) do que o M1 e M2 (IP = $41,40 \pm 0,94$ mg de CHP/kg) ($P < 0,05$).

Os valores de peróxidos tendem a diminuir após alcançar uma determinada concentração, onde a taxa de degradação dos peróxidos passa a ser superior à sua taxa de formação, originando compostos secundários no meio (MAZALLI, 2006). Um desses compostos é o malonaldeído (MAD), originado da decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados, formado durante o processo oxidativo.

O teste de TBARS (substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico) é usado para fornecer informações valiosas e essenciais sobre o estado oxidativo, na predição da rancidez (OSAWA; FELÍCIO; GONÇALVES, 2005), por quantificar o MAD presente no alimento. Em relação aos valores médios de TBARS da Tabela 7, observa-se que a aplicação do extrato natural e das misturas proporcionou melhores resultados em relação à estabilidade oxidativa da carne quando comparada com o controle.

A CMS controle apresentou os maiores valores de TBARS, seguido pelo extrato, e este pelas misturas M3, M2 e M1 ($P < 0,05$). Os valores de TBARS do controle aumentaram ao longo do armazenamento, enquanto os índices das amostras adicionadas do extrato e das misturas foram reduzidos ou mantidos

constantes no tempo final, exceto o M1, em que seus valores de TBARS, apesar de continuar menores que os demais tratamentos no tempo final, apresentou um aumento significativo quando comparado com seu valor no tempo inicial ($P < 0,05$).

Entre as misturas, o M1 foi o tratamento que conseguiu a melhor redução da oxidação lipídica quando comparado aos outros, apresentando menor valor médio de TBARS ($0,84 \pm 0,06$ mg MAD/kg) no 9º dia do que o M2 e M3 ($1,10 \pm 0,05$), que não se diferiram ($P > 0,05$).

Segundo Osawa, Felício e Gonçalves (2005), a diferença obtida nos valores iniciais de TBARS pode ser devida a uma interação dos componentes presentes nas misturas com os reagentes de TBA, aumentando ou reduzindo a formação dos pigmentos. Além disso, a análise foi realizada 8 horas após a obtenção dos tratamentos (armazenados refrigerados), o que pode ter contribuído para essa alteração.

Os resultados obtidos para índice de TBARS (Tabela 7) estão de acordo com aqueles relatados por Pereira (2009), que testou cinco extratos naturais (erva mate, marcela, uma mistura de erva mate com marcela; chá verde e o própolis sem álcool), verificando atividade antioxidante na CMS de frango, mantida sob refrigeração à 4 °C durante 10 dias, quando comparado com o controle sem adição de antioxidantes.

Os tratamentos com extrato e com as misturas apresentaram valores de TBARS abaixo de 2,0 mg MAD/kg amostra durante todo o período analisado, sendo que o M1 apresentou valores sempre abaixo de 1,0 mg MAD/kg.

Trindade e Nunes (2008) afirmam que odores de ranço podem ser detectados por provadores treinados e não treinados com TBARS na faixa de 0,5 a 1,0 mg MAD/kg e 0,6 a 2,0 mg MAD/kg amostra, respectivamente. Assim, a adição do extrato e, em especial, das misturas pode contribuir para o retardo na oxidação da CMS, aumentando, provavelmente, a sua vida útil.

Os resultados obtidos para os índices de cor estão apresentados na Tabela 8. Em relação aos valores médios, observa-se que houve efeito significativo ($P < 0,05$) apenas do tempo de armazenamento para todos os índices de cor (L^* , a^* , b^* , C^* e h^*). De forma geral, os índices L^* , a^* , b^* e C^* , diminuíram no decorrer do tempo, enquanto os valores de h^* aumentaram nos dois últimos tempos de análise, provavelmente devido à oxidação. A oxidação dos pigmentos heme é fator determinante na oxidação lipídica da carne mecanicamente separada de frango, sendo altamente correlacionada com a redução do valor a^* (POLLONIO, 1994).

Tabela 8 Índices (média \pm desvio-padrão) de cor de carne mecanicamente separada (CMS) de frango armazenada por nove dias sob refrigeração (4 °C)

Índice	Tempo de armazenamento (dias)			
	0	3	6	9
L^*	59,53 \pm 2,31 ^a	58,21 \pm 2,65 ^b	55,46 \pm 2,19 ^c	55,01 \pm 1,76 ^c
a^*	14,74 \pm 1,42 ^a	11,04 \pm 0,83 ^b	7,84 \pm 0,69 ^c	6,18 \pm 3,57 ^c
b^*	20,22 \pm 2,04 ^a	18,26 \pm 1,07 ^b	17,38 \pm 1,31 ^b	16,62 \pm 0,68 ^c
C^*	25,05 \pm 2,15 ^a	21,35 \pm 1,13 ^b	19,08 \pm 1,3 ^c	18,02 \pm 1,41 ^c
h^*	53,88 \pm 2,90 ^b	58,83 \pm 2,02 ^b	65,67 \pm 2,1 ^a	70,36 \pm 11,05 ^a

L^* = luminosidade; a^* = índice de vermelho; b^* = índice de amarelo; C^* = índice de saturação; e h^* = ângulo de tonalidade.

Médias seguidas de letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

A redução nos valores de L^* indica que as amostras ficaram mais escuras. Além disso, a CMS tem um valor de pH elevado (cerca de 6,45 a 6,58) e, portanto, tem um impacto negativo sobre a tonalidade da cor do produto. Segundo Olivo (2006), existe correlação inversa entre os valores de pH e de L^* , ou seja, quanto menor o pH maior será o valor de L^* e vice-versa.

A aparência mais escura da carne pode ser explicada pela redução do espalhamento de luz global associada com as propriedades de dispersão da gordura, uma vez que a CMS usada nos tratamentos apresentou valores altos de lipídeos (Tabela 5). Segundo Pereira et al. (2011), quanto mais glóbulos de gordura, maior será a dispersão da luz.

Diferenças nos índices de cromaticidade a^* e b^* podem ser melhor analisadas pelos componentes angulares C^* e h^* (RAMOS; GOMIDE, 2007). A redução nos valores de a^* e b^* induziram uma redução nos valores de C^* e aumento nos valores de h^* .

A saturação (C^*) descreve a pureza da cor, de acordo com sua maior ou menor intensidade, permitindo diferenciar cores fortes e fracas (RAMOS; GOMIDE, 2007). Assim, maiores valores de C^* indicam coloração mais forte. A CMS, com o passar do tempo, foi perdendo a cor, e o índice de C^* foi diminuindo (Tabela 8), ficando com aparência mais clara.

A intensidade de cor das amostras reduziu, sendo que esta redução pode ter sido devida à alguma alteração na forma química da mioglobina. O pigmento de deoximioglobina é muito instável e suscetível à formação da metamioglobina, de coloração marrom, portanto, indesejável (DUTRA et al., 2011).

Isso justifica-se pelo fato de a desossa mecânica causar considerável ruptura celular, que acarreta um aumento no teor de gordura – devido à incorporação de lipídios insaturados existentes na gordura subcutânea e medula óssea – desnaturação proteica e aumento de hemeproteínas, que levam ao aumento de compostos que induzem à oxidação e modificam as características da CMS (TRINDADE; NUNES, 2008).

A tonalidade do produto é convencionalmente dividida em quadrantes, onde na região do ângulo 0° a 25° encontram-se as tonalidades vermelhas; de 25° a 70° as laranjas; e de 70° a 100° as tonalidades amarelas (RAMOS;

GOMIDE, 2007). Observa-se, então, que as amostras apresentaram tonalidade mais amarelada com o passar dos dias de armazenamento, devido ao aumento do pigmento metamioglobina resultante da oxidação.

De forma geral, todas as misturas conseguiram conter a oxidação lipídica quando adicionadas à CMS. Porém, o tratamento M1 foi o que apresentou os melhores resultados, mantendo os valores de TBARS baixos até o tempo de 9 dias de armazenamento, o que sugere um aumento considerável na vida útil da CMS, uma vez que a legislação permite seu uso quando refrigerada (24 °C) por, no máximo, 24 horas após sua obtenção.

4.2.3 Avaliação da CMS cozida

Os resultados obtidos para pH das CMS cozidas estão apresentados nas Tabela 9. Houve efeito significativo apenas para os tratamentos ($P < 0,05$), em que as CMS após o cozimento apresentaram maiores valores médios de pH ($6,80 \pm 0,06$) do que a CMS *in natura* ($6,50 \pm 0,01$).

Tabela 9 Valores (média \pm desvio-padrão) de pH de carne mecanicamente separada (CMS) de frango cozida, armazenada por 3 dias sob refrigeração (4 °C)

Tratamento	pH
Controle	$6,88 \pm 0,04^A$
Extrato	$6,76 \pm 0,21^{CD}$
M1	$6,72 \pm 0,11^D$
M2	$6,84 \pm 0,04^{AB}$
M3	$6,80 \pm 0,16^{BC}$

Controle = CMS sem adição de antioxidantes; Extrato = CMS adicionadas de extrato de pimenta-da-Jamaica; M1 = CMS adicionada de mistura extrato: lecitina na proporção de 1:1; M2 = CMS adicionada de mistura extrato: lecitina na proporção de 2:1; e M3 = CMS adicionada de mistura extrato: lecitina na proporção de 3:1. Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de F a 5% de significância.

Sampaio et al. (2012) avaliaram o efeito da combinação de sálvia, orégano e mel sobre a oxidação lipídica em carne de frango cozido durante a refrigeração a 4 °C nos tempos 0, 48 e 96 horas e obtiveram valores de pH para a coxa cozido de 6,3 a 6,9.

Gong, Parker e Richards (2010) ressaltam ainda que pH elevado diminui a capacidade de metais e proteínas heme de oxidar lipídios, e pode ter influenciado os resultados de índice de peróxido e TBARS encontrados nesse estudo.

A eficácia do extrato de pimenta-da-Jamaica e das misturas como um antioxidante natural, capaz de reduzir a oxidação de lipídios da CMS *in natura* e cozida, está representada na Tabela 10.

Tabela 10 Valores (média ± desvio-padrão) de índices de TBARS (mg MAD/kg) da carne mecanicamente separada (CMS) de frango fresca (*in natura*) e após cozimento cozida e armazenada por três dias sob refrigeração (4 °C)

Tratamento	CMS	
	Fresca (<i>in natura</i>)	Cozida
Controle	1,99±0,07 ^{aB}	3,27±0,27 ^{aA}
Extrato	1,64±0,04 ^{bA}	1,35±0,08 ^{bA}
M1	0,76±0,03 ^{eB}	1,27±0,07 ^{bA}
M2	1,13±0,05 ^{cA}	1,37±0,11 ^{bA}
M3	1,34±0,03 ^{dA}	1,48±0,12 ^{bA}

Controle = CMS sem adição de antioxidantes; Extrato = CMS adicionadas de extrato de pimenta-da-Jamaica; M1 = CMS adicionada de mistura extrato: lecitina na proporção de 1:1; M2 = CMS adicionada de mistura extrato: lecitina na proporção de 2:1; M3 = CMS adicionada de mistura extrato: lecitina na proporção de 3:1; e MAD = malonaldeído. Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, diferem entre si pelo teste de F a 5% de significância.

Na CMS *in natura*, os valores de TBARS foi maior ($P < 0,05$) para a amostra controle do que os demais tratamentos, sendo menor ($P < 0,05$) nas

amostras adicionadas de misturas do que no extrato puro. No entanto, após o cozimento, as amostras contendo extrato não diferiram ($P > 0,05$) entre si, embora o controle continuou apresentando maiores ($P > 0,05$) valores de TBARS. A formação do malonaldeído é favorecida pelo tempo e temperatura de cozimento (Osawa, Felício e Gonçalves (2005). Esses resultados destacam o efeito antioxidante do extrato e das misturas de pimenta-da-Jamaica frente ao efeito pró-oxidante do calor.

Ambos os índices de oxidação (IP e TBARS) das CMS cozidas foram afetados ($P < 0,05$) pela interação entre os tratamentos e o tempo de armazenamento. De forma geral, os IP dos tratamentos não diferiram em 3 dias de armazenamento (Tabela 11), exceto o M2 e M3 que aumentaram significativamente seu valor no tempo final, de $40,87 \pm 0,67$ mg CHP/kg valores médios, para $47,59 \pm 0,28$ mg CHP/kg, não diferindo da amostra controle ($P > 0,05$).

Tabela 11 Valores (média \pm desvio-padrão) de índices de peróxido (mg CHP/kg) da carne mecanicamente separada (CMS) de frango cozida e armazenada por três dias sob refrigeração (4 °C)

Tratamento	Tempo de armazenamento (dias)	
	0	3
Controle	$48,41 \pm 1,00^{aA}$	$50,64 \pm 0,79^{aA}$
Extrato	$43,91 \pm 0,91^{bcA}$	$44,33 \pm 1,87^{cA}$
M1	$45,76 \pm 0,97^{abA}$	$43,93 \pm 1,45^{cA}$
M2	$40,40 \pm 0,43^{dB}$	$47,80 \pm 0,75^{abA}$
M3	$41,35 \pm 1,90^{cdB}$	$47,39 \pm 0,44^{bA}$

Controle = CMS sem adição de antioxidantes; Extrato = CMS adicionadas de extrato de pimenta-da-Jamaica; M1 = CMS adicionada de mistura extrato: lecitina na proporção de 1:1; M2 = CMS adicionada de mistura extrato: lecitina na proporção de 2:1; M3 = CMS adicionada de mistura extrato: lecitina na proporção de 3:1; e CHP = hidroperóxido cumeno.

Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, diferem entre si pelo teste de F a 5% de significância.

Esse aumento pode ter ocorrido devido às altas temperaturas (85 °C) utilizadas no processamento, que catalisam as reações entre os lipídios e o oxigênio molecular, aumentando a formação de peróxidos (MAZALLI, 2006).

Apesar de não ter se alterado ($P > 0,05$) com o tempo de armazenamento, o índice de TBARS da CMS cozida foi maior para o controle nos dois tempos de análise (Tabela 12). Os valores dos tratamentos com extrato puro e M1 também não se alteraram, apesar do aumento observado nas misturas M2 e M3. Após 3 dias de armazenamento, os valores e TBARS dos tratamentos com extrato puro, M1 e M3 ainda foram menores ($P < 0,05$) do que o controle, mostrando a sua eficiência na redução da oxidação lipídica durante o armazenamento avaliado.

Tabela 12 Valores (média \pm desvio-padrão) de índice de TBARS (mg MAD/kg) da carne mecanicamente separada (CMS) de frango cozida e armazenada por três dias sob refrigeração (4 °C)

Tratamento	Tempo de armazenamento (dias)	
	0	3
Controle	3,27 \pm 0,27 ^{aB}	6,30 \pm 0,06 ^{aA}
Extrato	1,35 \pm 0,08 ^{bB}	1,89 \pm 0,03 ^{bA}
M1	1,27 \pm 0,07 ^{bA}	1,29 \pm 0,04 ^{dA}
M2	1,37 \pm 0,11 ^{bB}	1,68 \pm 0,07 ^{bcA}
M3	1,48 \pm 0,12 ^{bA}	1,57 \pm 0,12 ^{cdA}

Controle = CMS sem adição de antioxidantes; Extrato = CMS adicionadas de extrato de pimenta-da-Jamaica; M1 = CMS adicionada de mistura extrato: lecitina na proporção de 1:1; M2 = CMS adicionada de mistura extrato: lecitina na proporção de 2:1; M3 = CMS adicionada de mistura extrato: lecitina na proporção de 3:1; e MAD = malonaldeído. Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, diferem entre si pelo teste de F a 5% de significância.

Comportamento semelhante ao presente estudo para índice de TBARS foi observado por Sampaio et al. (2012) ao avaliarem a adição de antioxidantes

naturais (sálvia, orégano e mel) na carne de frango cozida (peito e coxa), os quais constataram a redução da oxidação lipídica no tempo 0. As amostras que continham antioxidantes naturais diferiram do controle em todos os tempos analisados (0, 48 e 96 horas/ refrigeração a 4 °C).

Os resultados obtidos para os índices de cor estão apresentados na Tabela 13. Em relação aos valores médios, observa-se que houve efeito significativo apenas do tempo de armazenamento para os índices de cor das amostras cozidas, exceto para a^* (índice de vermelho). Os índices de L^* aumentaram e os índices de b^* e C^* e de h^* diminuíram no tempo final ($P < 0,05$). Os resultados encontrados estão relacionados com o processo de oxidação, principalmente do pigmento da carne cozida (globina-hemicromo), de cor marrom.

Tabela 13 Média de índice de cor (\pm desvio padrão) da carne mecanicamente separada cozida e armazenada a 4°C

Índice	Tempo de armazenamento (dias)		Valor <i>P</i>
	0	3	
L^*	53,17 \pm 2,83	58,58 \pm 2,91	0,004
a^*	9,40 \pm 1,53	9,85 \pm 1,72	0,330
b^*	20,84 \pm 0,91	17,05 \pm 2,52	0,002
C^*	22,89 \pm 1,28	19,85 \pm 1,55	0,002
h^*	65,81 \pm 3,08	59,52 \pm 7,47	0,010

Os valores de a^* não sofreram alteração no tempo final, indicando que o índice de vermelho manteve-se. Os valores de L^* aumentaram, indicando que as amostras ficaram mais claras, possivelmente devido ao extravasamento de gordura causado pelo cozimento, pois, segundo Pereira et al. (2011), quanto mais glóbulos de gordura, maior será a dispersão da luz.

A menor saturação (C^*), foi também verificada no tempo 3, indicando uma menor intensidade da cor (cor mais pálidas). Os valores de tonalidade h^*

diminuíram, indicando que as amostras apresentaram tonalidade mais amarelada tendendo para a cor laranja.

Ramos e Gomide (2007) afirmam que a cor da carne pode ser afetada pelo processamento em que foi submetida, tais como refrigeração, congelamento, forma de embalagem, uso de aditivos, presença e tipo de luz durante o armazenamento, além do cozimento. Estes podem modificar o estado químico dos pigmentos, afetando direta e/ou indiretamente a cor da carne e derivados.

De forma geral, todas as misturas conseguiram reduzir a oxidação lipídica quando adicionado na CMS pelo método de TBARS, antes e depois do processamento térmico (Tabelas 11). Mantiveram seus valores de TBARS mais baixos quando comparado como controle, principalmente o M1, sugerindo um aumento considerável na vida útil da CMS mesmo forçando sua oxidação com processo térmico.

4.3 Etapa 3 Avaliação das CMS de frango adicionada das misturas de extrato de folhas de pimentada-Jamaica

Os valores médios obtidos da composição centesimal das mortadelas adicionadas com os tratamentos estão representados na Tabela 14. Os valores estão de acordo com os padrões estabelecidos pelo regulamento técnico de identidade e qualidade de mortadela (BRASIL, 2000a), que define umidade máxima de 65%, gordura máxima de 30% e proteína mínima de 12%.

As cinzas não possuem valores padrões pré estabelecidos para mortadela na legislação vigente, porém, os valores de umidade e cinzas do presente trabalho foram menores que os encontrados por Dutra (2009), que avaliou a qualidade de mortadelas formuladas com diferentes níveis de nitrito e doses de radiação, e que apresentou valores de umidade e cinzas de

65,73±0,41% e 3,63±0,21% respectivamente. No entanto, os valores obtidos para lipídios foram superiores aos valores obtidos por Dutra (2009), 11,81±0,80%, o que pode ser justificado pela quantidade de CMS usada na formulação.

Tabela 14 Composição centesimal média (\pm desvio padrão) da mortadela elaborada com carne mecanicamente separada de frango

Composição	%
Umidade	60,79±0,26
Lipídios	19,77±0,67
Proteína	14,11±0,88
Cinza	3,38±0,10

O pH das amostras não foi afetado por nenhum dos tratamentos em 30 dias de estocagem, uma vez que não houve efeito significativo dos tratamentos isolados ($P>0,05$).

Pereira et al. (2011) encontraram valores de pH mais elevados (6,2 a 6,5) para salsicha adicionadas de carne mecanicamente separada de aves. O valores de pH das mortadelas variou de 5,78 a 5,99.

Não foi verificado interação significativa entre os tratamentos e os tempos para nenhum dos índices de cor objetiva nem para os índices de peróxido ($P>0,05$), porém, o índice de TBARS apresentou resultados satisfatórios ($P<0,05$), pois conseguiu reduzir a oxidação da mortadela quando comparada com controle (Tabela 15).

A mortadela controle apresentou os maiores valores de TBARS no tempo inicial e final, diferindo dos demais tratamentos. Os valores de TBARS do controle, extrato e M2 aumentaram em 30 dias de armazenamento. O M1 e o M3 mantiveram seus índices de TBARS no tempo final ($P<0,05$).

Tabela 15 Valores (média \pm desvio-padrão) de índice de TBARS (mg MAD/kg) de mortadelas formuladas com 60% de diferentes tipos de carne mecanicamente separada (CMS) de frango e armazenadas por 30 dias sob refrigeração (4 °C)

CMS	Tempo de armazenamento (dias)	
	0	30
Controle	1,57 \pm 0,05 ^{aB}	1,69 \pm 0,03 ^{aA}
Extrato	1,14 \pm 0,09 ^{cB}	1,41 \pm 0,02 ^{cA}
M1	1,29 \pm 0,02 ^{bA}	1,36 \pm 0,04 ^{cA}
M2	1,35 \pm 0,02 ^{bB}	1,57 \pm 0,05 ^{bA}
M3	1,39 \pm 0,07 ^{bA}	1,44 \pm 0,03 ^{cA}

Controle = CMS sem adição de antioxidantes; Extrato = CMS adicionadas de extrato de pimenta-da-Jamaica; M1 = CMS adicionada de mistura extrato: lecitina na proporção de 1:1; M2 = CMS adicionada de mistura extrato: lecitina na proporção de 2:1; M3 = CMS adicionada de mistura extrato: lecitina na proporção de 3:1; e MAD = malonaldeído. Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, diferem (entre si pelo teste de F a 5% de significância).

Em 30 dias de armazenamento, os valores de TBARS ainda eram maiores na amostra controle (1,69 \pm 0,03 mg MAD/kg), seguida do tratamento M2 (1,57 \pm 0,05 mg MAD/kg). As misturas M1, M3 e o extrato foram os tratamentos que melhor retardaram a oxidação lipídica quando comparado aos outros, apresentando menor ($P < 0,05$) valor médio de TBARS (1,40 \pm 0,04 mg MAD/kg), no tempo final de armazenamento.

Todos os valores de TBARS foram menores que 2,0 mg MAD/kg nos 30 dias de análise (meia vida útil do produto). Assim, a adição do extrato e, em especial, das misturas contribuiu para o retardo na oxidação da mortadela de CMS, aumentando, provavelmente, a sua vida útil.

Os resultados de TBARS (Tabela 15) foram parecidos com os de Trindade et al. (2006), que adicionaram eritorbato (1000 ppm) e nitrito (150 ppm) em carne mecanicamente separada e conseguiram retardar a oxidação da

mortadela após 40 dias de estocagem a 7 °C, garantindo um produto final com menor rancidez quando comparado com o controle.

Trindade, Contreras e Felício (2005) testaram mortadela formuladas com diferentes concentrações de CMS 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, e 100%, e concluíram que o índice de TBARS não é afetado com o aumento das concentrações.

Os índices de cor não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos ($P > 0,05$), o que implica na possibilidade do uso do extrato e das misturas pela indústria de alimento, uma vez que a cor da mortadela não foi afetada pelos mesmos. Além disso, as mortadelas acrescidas dos extratos e das misturas apresentaram um efeito positivo na redução da oxidação lipídica.

De forma geral, o extrato e todas as misturas pôde reduzir a oxidação lipídica quando adicionados às mortadelas, mantendo seus valores baixos ($P < 0,05$) durante a meia vida do produto, e o extrato foi o tratamento que apresentou o menor valor no tempo inicial e no tempo final.

5 CONCLUSÃO

O potencial de uso do extrato de folhas de pimenta-da-Jamaica como antioxidante na conservação da carne mecanicamente separada (CMS) é alta, sendo que a mistura que apresentou o melhor efeito foi a do tratamento M1.

O uso da CMS adicionada de extrato na produção da mortadela não alterou as suas características principais, e retardou a oxidação lipídica, aumentando a sua meia vida, o que reforça o seu potencial de uso.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, J. DE. **Quantificação fenólica, avaliação biológica e antioxidante dos extratos das folhas e frutos da aceroleira (Malpighia emarginata DC.)**. [s.l.] Universidade Federal de Lavras, 2010.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists: In: GAILB. MD: ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY (Ed.). . **Official methods of analysis**. 17th. ed. [s.l: s.n.].
- BAGGIO, S. R. **Óxidos de colesterol, colesterol, lipídios totais e ácidos graxos em produtos cárneos processados**. [s.l.] Universidade Estadual de Campinas, 2004.
- BERAQUET, N. . Vida-de- prateleira de carne mecanicamente separada de frango estocada sob refrigeração. **Coletanea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 1, p. 91–104, 1994.
- BERKE, T. G.; SHIEH, S. C. **Capsicum cultivars**. 2. ed. USA: [s.n.]. v. 2p. 607
- BESERRA, F. P. et al. Jatropha curcas L . (Euphorbiácea) como novo bioinseticida : análise fitoquímica preliminar e atividade larvívica contra Aedes aegypti (Diptera : culicidae). **Revista Amazônia Science & Health**, v. 2(3), p. 17–25, 2014.
- BIGOLIN, J.; WEBER, C. I.; ALFARO, A. D. T. Lipid Oxidation in Mechanically Deboned Chicken Meat: Effect of the Addition of Different Agents. **Food and Nutrition Sciences**, v. 04, n. August, p. 219–223, 2013.
- BORGES, L. L. et al. Uma abordagem sobre Métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais. **Enciclopédia Biosfera**, v. 7, n. 12, p. 1–20, 2011.
- BRANCO, G. F.; CASTRO, I. A. Optimization of Oil Oxidation by Response Surface Methodology and the Application of this Model to Evaluate Antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 88, p. 1747–1758, 2011.

BRASIL. Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal - RIISPOA. **Publicado no Diário Oficial da União de 29/03/1952**, p. 154, 1952.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares - definições, classificação e emprego. **Publicado no Diário Oficial da União de 28/10/1997.**, p. 7, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Linguiça e de Salsicha. **Publicado no Diário Oficial da União de 05/04/2000 , Seção 1 , Página 6**, 2000a.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 20, de 31 de julho 2000. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de hamburger,almôndega e fiambre. **Publicado no Diário Oficial da União de 31/07/2000**, p. 9–11, 2000b.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 51, de 29 de dezembro de 2006. Aprova Regulamento Técnico Mercosul de Atribuição de Aditivos, e seus Limites das seguintes categorias de Alimentos 8: Carne e Produtos Cárneos. **Publicado no Diário Oficial da União de 04/01/2007**, 2006.

CAMPAGNOL, P. C. B. et al. The influence of achyrocline satureioides (“ Marcela”) extract on the lipid oxidation of salami. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 2009, n. 003938, p. 101–105, 2011.

CANÇADO, L. F. A.; OLIVEIRA, P. B.; CASTEJON, L. V. Estudo do comportamento dos emulsificantes lecitina de soja e emustab (monoglicérido e diglicérido) em diferentes concentrações. **Artigos científicos – engenharia de alimentos VIII JORNADA CIENTÍFICA DA FAZU 19 a 24 de outubro de 2009**, n. 56-59, p. 183, 2009.

CARDOSO, G. Revestimentos comestíveis à base de gelatina, glicerina, quitosana e óleos essenciais para conservação de carne bovina refrigerada. p. 221, 2011.

CARDOSO, G. P. et al. Allspice essential oil as a potential antioxidant and antimicrobial source for use in meat products. p. 1–17, 2015.

CATANIA, A.; BARROS, C.; FERREIRA, S. Vitaminas e minerais com propriedades antioxidantes e risco cardiometabólico: controvérsias e perspectivas. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 53, n. 5, p. 550–559, 2009.

CAVENAGHI, A. Elaboração de embutidos fermentados cozidos com carne de coxa de frango. p. 182, 2005.

CHARLES, D. J. Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources. **Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources**, v. 1, n. 589, p. 145–150, 2013.

DOMINGUES, M. A. F. **Qualidade lipídica da carne de frangos alimentados com ração contendo farelo de coco**. [s.l.] UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, 2008.

DUKE, J. A. et al. **CRC Handbook of Medicinal Spices**. [s.l.: s.n.]. v. 88p. 299

DUTRA, M. **Qualidade de mortadelas formuladas com diferentes níveis de nitrito e doses de radiação**. [s.l.] Universidade Federal de Lavras, 2009.

DUTRA, M. P. et al. **Radiação gama e tempo de armazenamento sobre a oxidação lipídica, cor objetiva, pigmentos heme e nitrito residual de mortadelas elaboradas com diferentes níveis de nitrito** *Ciência Rural*, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v41n12/a18411cr4908.pdf>>. Acesso em: 30 nov. 2014

ESTÉVEZ, M.; VENTANAS, S.; CAVA, R. Effect of natural and synthetic antioxidants on protein oxidation and colour and texture changes in refrigerated stored porcine liver pâté. **Meat science**, v. 74, n. 2, p. 396–403, out. 2006.

FOR, I. P.; SPICES, U. The Patterning Theory of Spice Use. **Synthesis**, p. 85–140, 1998.

FRONING, G. W. Mechanical deboning of poultry and fish. Advances in food Research. In: **ADVANCES IN FOOD RESEARCH**. [s.l.] Elsevier Science, 1981. p. 109–147.

GONÇALVES, R. M. et al. Avaliação físico-química e conteúdo de metais pesados em carne mecanicamente separada (CMS) de frango e de bovino produzidas no Estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, p. 553–559, 2009.

HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, E. et al. Antioxidant effect rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) extracts on TBARS and colour of model raw pork batters. **Meat science**, v. 81, n. 2, p. 410–7, fev. 2009.

HIRASA, K.; TAKEMASA, M. Antimicrobial and Antioxidant Properties of Spices. In: PRESS, C. (Ed.). . **Spice science and technology**. [s.l.] Taylor & Francis, 1999. p. 163–200.

JIANG, Z.-T. et al. Composition Comparison of Essential Oils Extracted by Classical Hydro distillation and Microwave-assisted Hydrodistillation from *Pimenta dioica*. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 16, n. 1, p. 45–50, fev. 2013.

JIROVETZ, L. et al. Spice plants : Chemical composition and antioxidant properties of *Pimenta Lindl.* essential oils , part 2 : *Pimenta racemosa* (Mill .) J . W . Moore leaf oil from Jamaica *. In: **Ernährung/Nutrition**. [s.l.: s.n.]. v. 31p. 55–62.

JIROVETZ, L. et al. Spice plants: chemical composition and antioxidant properties of *Pimenta Lindl.* essential oils, Part 1: *Pimenta dioica* (L.) Merr leaf oil from Jamaica. In: **Ernährung/Nutrition**. [s.l.: s.n.]. v. 31p. 55–62.

KHANDELWAL, P. et al. Assessment of biotherapeutic potential of *pimenta dioica* (allspice) leaf extract. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 3, n. 9, p. 3379–3383, 2012.

KIKUZAKI, H. et al. Antioxidative phenylpropanoids from berries of *Pimenta dioica*. **Phytochemistry**, v. 52, n. 7, p. 1307–1312, dez. 1999.

KIKUZAKI, H. et al. Phenolic glycosides from berries of *Pimenta dioica*. **Journal of Natural Products**, v. 71, n. 5, p. 861–865, 2000.

LOBO, M. A. et al. Avaliação da atividade antifúngica in vitro de frações semi-purificadas obtidas a partir do rizoma *Typha Domingensis* Pers (Typhaceae). **UNISANTA BioScience**, v. 2, n. 1, p. 42–51, 2013.

MACEDO, R. E. F. DE. **Utilização de culturas lácticas probióticas no processamento de produto cárneo fermentado.** [s.l: s.n.].

MARIUTTI, L. R. B. et al. Free radical scavenging activity of ethanolic extracts from herbs and spices commercialized in Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n. 6, p. 1225–1232, 2008.

MARZOUK, M. S. A et al. Anticancer and antioxidant tannins from Pimenta dioica leaves. **Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences**, v. 62, p. 526–536, 2007.

MAZALLI, M. **Efeito do processamento térmico e tempo de estocagem na formação de óxidos de colesterol e na alteração da composição de ácidos graxos em ovos.** [s.l.] Universidade Estadual de Campinas, 2006.

MELO, C. M. T. et al. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de pimentas. v. 7, p. 2–7, 2011.

MIELNIK, M. B.; AABY, K.; SKREDE, G. Commercial antioxidants control lipid oxidation in mechanically deboned turkey meat. **Meat science**, v. 65, n. 3, p. 1147–55, nov. 2003.

MILANI, L. I. G. et al. Atividade antioxidante e antimicrobiana in vitro de extratos de caqui (*Diospyros kaki* L.) cultivar Rama Forte. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, p. 118–124, 2012.

MIRANDA, A. et al. Atividade Seqüestradora de Radical Livre. **Practical Studies for Medicinal Chemistry**, n. December, p. 1–14, 2006.

MOHAMED, H. M. H.; MANSOUR, H. A. Incorporating essential oils of marjoram and rosemary in the formulation of beef patties manufactured with mechanically deboned poultry meat to improve the lipid stability and sensory attributes. **LWT - Food Science and Technology**, v. 45, p. 79–87, 2012.

MONTEIRO, O. D. S. **Caracterização do óleo essencial da Pimenta dioica Lindl e sua aplicação como atrativo de abelhas Euglossina.** [s.l: s.n.].

MÓRI, C. et al. Carne de aves separada mecanicamente (mechanical separated poultry meat). **Revista Electrónica de Veterinária REDVET**, v. 4, p. 1–6, 2006.

NUNES, T. P. **EFEITO DA PRÉ-CURA NA ESTABILIDADE MICROBIOLÓGICA DE CARNE MECANICAMENTE SEPARADA E ELABORAÇÃO DE UM PRODUTO REESTRUTURADO COM FILÉS DE PEITO DE GALINHAS DE DESCARTE.** [s.l.: s.n.].

OLIVEIRA, R. A. DE et al. Constituintes químicos voláteis de especiarias ricas em eugenol. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19(3), n. Jul./Set., p. 771–775, 2009.

OLIVEIRA, T. L. C. DE et al. Antioxidant effects of *Satureja montana* L. essential oil on TBARS and color of mortadella-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite. **LWT-Food Science and ...**, v. 45, p. 204–212, 2012.

OLIVEIRA, R.; OLIVEIRA, F.; SACRAMENTO, C. Óleos essenciais: perspectivas para o agronegócio de especiarias na Bahia. **Bahia Agrícola**, p. 46–48, 2007.

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

PADILHA, A. **Antioxidante natural de erva mate na conservação da carne de frango in vivo.** [s.l.] UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA, 2007.

PAULA, J. A. M. et al. Gênero Pimenta: aspectos botânicos, composição química e potencial farmacológico. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, n. 3, p. 363–379, 2010.

PEREIRA, A. G. T. et al. Effects of the addition of mechanically deboned poultry meat and collagen fibers on quality characteristics of frankfurter-type sausages. **Meat Science**, v. 89, p. 519–525, 2011.

PEREIRA, M. M. G. **Aplicação de antioxidantes naturais em carne mecanicamente separada (CMS) de ave.** [s.l.] Universidade Federal de Santa Maria, 2009.

POLONIO, M. A. R. **Estudo das propriedades funcionais das proteínas miofibrilares e oxidação lipídica de carne de frango mecanicamente desossada.** [s.l.: s.n.].

RAGHAVAN, S. **Handbook of spices, seasoning, and flavorings**. [s.l.: s.n.]. v. 54p. 352

RAO, P. S.; NAVINCHANDRA, S.; JAYAVEERA, K. An important spice, Pimenta dioica (Linn.) Merrill: A Review. **International Current Pharmaceutical Journal**, v. 1, n. 8, p. 221–225, 2012.

RUFINO, M. DO S. M. et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Embrapa ...**, p. 0–3, 2007.

SAMPAIO, G. R. et al. Effect of natural antioxidant combinations on lipid oxidation in cooked chicken meat during refrigerated storage. **Food chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1383–90, 1 dez. 2012.

SANTA, O. R. D. **Avaliação da qualidade de salames artesanais e seleção de culturas starter para a produção de salame tipo italiano**. [s.l.] Universidade Federal do Paraná, 2008.

SANTOS, C. A. DOS; MING, C. C.; GONÇALVES, L. A. G. Emulsificantes : atuação como modificadores do processo de cristalização de gorduras. **Ciência Rural**, v. 44, n. 3, p. 567–574, 2014.

SCHEEREN, M. B. **Desenvolvimento de pickles de frango com adição de diferentes antioxidantes e avaliação da qualidade e aceitabilidade dos produtos**. [s.l.] Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), 2011.

SELANI, M. M. et al. Wine industry residues extracts as natural antioxidants in raw and cooked chicken meat during frozen storage. **Meat science**, v. 88, n. 3, p. 397–403, jul. 2011.

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

SINHA, R. et al. Meat Intake and Mortality. v. 169, n. 6, p. 562–571, 2009.

SOUSA, E. A. DE et al. Aplicação de redes neurais para avaliação do teor de carne mecanicamente separada em salsicha de frango. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 3, p. 307–311, 2003.

TRINDADE, M. A. et al. Mortadella sausage formulations with mechanically separated layer hen meat preblended with antioxidants. **Scientia Agricola**, v. 63, n. 3, p. 240–245, jun. 2006.

TRINDADE, M. A.; CONTRERAS, C. C.; FELÍCIO, P. E. DE. Sensory and Nutritive Qualities of Food-Mortadella Sausage Formulations with Partial and Total Replacement of Beef and Pork Backfat with Mechanically. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 3, p. 236–241, 2005.

TRINDADE, M.; FELÍCIO, P.; CASTILLO, C. Mechanically separated meat of broiler breeder and white layer spent hens. **Scientia Agricola**, p. 234–239, 2004.

TRINDADE, M.; NUNES, T. Estabilidade oxidativa e microbiológica em carne de galinha mecanicamente separada e adicionada de antioxidantes durante período de armazenamento a–. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 160–168, 2008.

VIUDA-MARTOS, M. et al. Effect of added citrus fibre and spice essential oils on quality characteristics and shelf-life of mortadella. **Meat science**, v. 85, n. 3, p. 568–76, jul. 2010.

ZABKA, M.; PAVELA, R.; SLEZAKOVA, L. Antifungal effect of Pimenta dioica essential oil against dangerous pathogenic and toxinogenic fungi. **Industrial Crops and Products**, v. 30, n. 2, p. 250–253, set. 2009.

ZHANGA, L.; LOKESHWAR, B. L. Medicinal Properties of the Jamaican Pepper Plant Pimenta dioica and Allspice. **NIH Public Access**, v. 29, n. 14, p. 997–1003, 2012.