



CRISTIANE DE OLIVEIRA LOPES

**USO DE ESPECIARIAS VIABILIZA A
REDUÇÃO DO TEOR DE SÓDIO EM
MAIONESE E REQUEIJÃO CREMOSO**

LAVRAS - MG

2014

CRISTIANE DE OLIVEIRA LOPES

**USO DE ESPECIARIAS VIABILIZA A REDUÇÃO DO TEOR DE SÓDIO
EM MAIONESE E REQUEIJÃO CREMOSO**

Tese 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 Doutor.

Orientadora

Dra. Maria de Fátima Píccolo Barcelos

LAVRAS - MG

2014

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Coordenadoria de Produtos e
Serviços da Biblioteca Universitária da UFLA**

Lopes, Cristiane de Oliveira.

Uso de especiarias viabiliza a redução do teor de sódio em
maionese e requeijão cremoso / Cristiane de Oliveira Lopes. –
Lavras : UFLA, 2014.

226 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.

Orientador: Maria de Fátima Píccolo Barcelos.

Bibliografia.

1. Alimentos - Análise sensorial. 2. DPPH. 3. β -caroteno/ácido
linoleico. 4. Antioxidantes. 5. Tocoferol. I. Universidade Federal de
Lavras. II. Título.

CDD – 664.5

CRISTIANE DE OLIVEIRA LOPES

**USO DE ESPECIARIAS VIABILIZA A REDUÇÃO DO TEOR DE SÓDIO
EM MAIONESE E REQUEIJÃO CREMOSO**

Tese 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 Doutor.

APROVADA em 25 de julho de 2014.

| | |
|---------------------------------------|--------|
| Dr. Adelson Francisco de Oliveira | EPAMIG |
| Dr. Luiz Ronaldo de Abreu | UFLA |
| Dr. Michel Cardoso de Angelis Pereira | UFLA |
| Dr. Wilson César de Abreu | UFLA |

Dra. Maria de Fátima Pícolo Barcelos
Orientadora

LAVRAS – MG

2014

Dedico este trabalho aos meus pais, Nelma e Cristiano, e aos meus tios, Maria de Ramos e Roberto Rios.

AGRADECIMENTOS

Concluir o doutorado foi um grande desafio, e durante essa jornada diversas pessoas dedicaram seu tempo e esforço, colaborando para o meu crescimento intelectual e pessoal, por isso agradeço, inicialmente, a Deus, pelos ensinamentos diários e por nunca me deixar desamparada.

Aos meus pais, Nelma e Cristiano, que são exemplos de dedicação, fé e humildade. O orgulho que vejo transbordar em vossos olhos só me faz querer crescer cada dia mais, tanto pessoalmente assim como profissionalmente!

Aos meus irmãos queridos, Mandinha e Rogério, meus companheiros que vibram e sofrem junto comigo, obrigada pela torcida!

Ao meu sobrinho afilhado Guigui, que é luz na minha vida!

Aos meus queridíssimos tios, Maria de Ramos e Roberto Rios, impossível expressar a gratidão a carinho que sinto por vocês! Obrigada por zelarem por mim como filha e por me acolherem com tanto carinho e amor durante essa longa jornada que foi o mestrado e o doutorado.

A minha orientadora, Prof.^a Maria de Fátima Píccolo Barcelos, que foi orientadora, amiga e confidente. Levarei para minha vida todos os ensinamentos, obrigada pela confiança, consideração e carinho!

Aos meus amigos e coorientadores Prof. Wilson de Abreu e Prof. Michel Cardoso, tenho grande admiração por vocês. Obrigada pelos conselhos e amizade de sempre!

Aos diversos amigos que conquistei durante estes cinco anos de pós graduação em Lavras, em especial a Nayane e a Ivina pelas longas conversas, pelo ombro amigo, por compartilhar comigo momentos de alegria e de tristeza. Obrigada por tudo meninas, vocês valem ouro!

Aos professores Sandra Pinto e Luiz Ronaldo de Abreu do laboratório de laticínios, por tão gentilmente contribuírem com ensinamentos, matéria prima e equipamentos para produção do requeijão cremoso, possibilitando a realização deste trabalho.

As técnicas administrativas Lucilene, Rhaimá e Adriana, sempre atenciosas e gentis. E as técnicas de laboratório do DCA/UFLA, Tina e Creusa, pelas contribuições com conhecimentos analíticos, pela ajuda nas análises e pelo bate papo nos momentos de descontração.

Ao grande amigo e colega de pós-graduação Renato Leal, sempre prestativo, e mesmo estando assoberbado com suas pesquisas conseguiu encontrar tempo para me ajudar nas análises cromatográficas.

A pós-doutoranda Helosia Siqueira pela amizade e ajuda nas análises químicas.

As estagiárias Cíntia, Bruna e Tairine, que muito colaboraram para realização deste trabalho, a contribuição de vocês foi essencial.

Ao Laboratório de Microbiologia Geral da Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS), Alfenas-MG, pelas análises microbiológicas.

A Universidade Federal de Lavras (UFLA) e Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA) pela oportunidade de desfrutar de ensino de qualidade.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão de bolsa.

Enfim, agradeço a todos aqueles que colaboraram de alguma forma para a realização deste trabalho.

“Porque em verdade vos digo que qualquer que disser a este monte: Ergue-te e lança-te no mar, e não duvidar em seu coração, mas crer que se fará aquilo que diz, tudo o que disser lhe será feito. Por isso vos digo que todas as coisas que pedirdes, orando, crede receber, e tê-las-eis.”

Marcos 11:23-24.

"Deus não escolhe os capacitados, capacita os escolhidos. Fazer ou não fazer algo só depende de nossa vontade e perseverança".

Albert Einstein.

RESUMO

Com o objetivo de avaliar o poder de redução do sódio em alimentos e o potencial antioxidante, diferentes misturas de especiarias foram estudadas para determinar o perfil nutricional e de compostos bioativos e possibilitar a escolha de duas misturas para serem adicionadas em maionese e requeijão cremoso. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) com sete tratamentos e três repetições para as análises químicas. Foram preparadas sete misturas de especiarias, constituídas por três diferentes especiarias de um total de 10 opções. As análises químicas realizadas nestas foram composição centesimal, perfil de ácidos graxos, atividade antioxidante total pelos métodos DPPH e β -caroteno/ácido linoleico, compostos fenólicos totais, carotenoides totais, magnésio, zinco, vitamina C e tocoferóis. Os resultados indicaram que as misturas M6 (pimenta preta, manjerona e limão) e M7 (orégano, tomilho, manjerona) apresentavam o maior teor ($p \leq 0,05$) de fibra alimentar. As misturas que se destacaram com relação à atividade antioxidante total e teor de compostos bioativos (carotenoides, vitamina C e tocoferóis) foram as M7, M1 (limão, manjerona e orégano) e M2 (alho, cebola e orégano). As misturas M1 e a M2 foram selecionadas para adição na maionese e requeijão cremoso, respectivamente, devido às características químicas e sensoriais. O objetivo foi avaliar a contribuição destas misturas na redução do teor de sódio e incremento da atividade antioxidante destes dois produtos, para isso, foram elaboradas sete formulações de maionese e sete formulações de requeijão cremoso, com e sem adição da mistura de especiarias, e níveis de redução de sódio variando de 100 a 0%, com intervalos de 25%. Na análise sensorial foi avaliada a aceitação para as variáveis: aparência, aroma, sabor e impressão global e também a intenção de compra para todas as formulações de maionese e requeijão cremoso. Posteriormente foi feita a caracterização química dos produtos: determinação da composição centesimal, perfil de ácidos graxos, atividade antioxidante total (AAT), compostos fenólicos totais, carotenoides totais, tocoferóis por cromatografia e avaliação da oxidação utilizando o método TBARS. Os resultados da análise sensorial indicaram boa aceitação para o atributo sabor e impressão global da formulação de maionese com 50% de redução do teor de sódio e adição de especiarias e para o requeijão cremoso com 75% de redução do teor de sódio de adição e adição de mistura de especiarias. Os resultados da intenção de compra indicaram que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para intenção de compra entre a maionese com 50% de redução e adição de mistura

de especiarias e a maionese controle (sem redução de sódio e sem adição de mistura de especiarias) e para o requeijão cremoso com redução de 75% do sódio de adição e adição de mistura de especiarias em comparação com o requeijão cremoso controle (sem redução do sódio de adição e sem adição de especiarias), resultados bastante satisfatórios. Houve acréscimo expressivo ($p \leq 0,05$) da atividade antioxidante total mensurada pelo método DPPH para as maioneses e requeijões cremosos com adição de especiarias, maior que 5 e 6 vezes, respectivamente. Os resultados para carotenoides, tocoferóis e TBARS não indicaram diferença entre os produtos com e sem adição de mistura de especiarias. Sendo assim, a adição da mistura de especiarias M1 na maionese e M2 no requeijão cremoso viabilizou a redução de 50% e 75%, respectivamente, do teor de sódio e ainda elevou a atividade antioxidante nos mesmos, que foi relacionada principalmente com os compostos fenólicos.

Palavras-chave: Análise sensorial. DPPH. β -caroteno/ácido linoleico. Antioxidantes. Tocoferóis. TBARS.

ABSTRACT

With the purpose of evaluating the reducing power of sodium in foods and the antioxidant potential, different mixtures of spices have been studied to determine the nutritional profile and of bioactive compounds and to enable the choice of two mixtures to be added to both mayonnaise and cream cheese curd. The experimental design was completely randomized (CRD) with seven treatments and three replications for the chemical analyses. Seven mixtures of spices were prepared, constituted of three different spices of a total of 10 options. The chemical analyses conducted in these were centesimal composition, fatty acid profile, total antioxidant activity by the DPPH and β -carotene/linoleic acid methods, total phenolic compounds, total carotenoids, magnesium, zinc, vitamin C and tocopherols. The results indicated that both M6 (black pepper, marjoram and lemon) and M7 mixtures (oregano, thyme, marjoram) presented the highest content ($p \leq 0.05$) of dietary fiber. The mixtures which stood out in relation to the total antioxidant activity and content of bioactive compounds (carotenoids, vitamin C and tocopherols) were M7, M1 (lemon, basil and oregano) and M2 (garlic, onion and oregano). Mixtures M1 and M2 were chosen for addition in the mayonnaise and in the cream cheese curd, respectively, due to the chemical and sensorial characteristics. The objective was evaluating the contribution of these mixtures in the reduction of the sodium content and increase of the antioxidant activity of these two products, for such a purpose, seven formulations of mayonnaise and seven formulations of cream cheese curd were made, with and without the addition of the mixture of spices and levels of reduction of sodium ranging from 100 to 0%, with 25% intervals. In the sensorial analysis, the acceptance for the variables: appearance, aroma, taste and overall impression and also the purchase intention for all the formulations of mayonnaise and cream cheese curd were evaluated. Afterwards, the chemical characterization of the products: determination of the centesimal composition, fatty acid profile, total antioxidant activity (TAA), total phenolic compounds, total carotenoids, tocopherols by chromatography and evaluation of oxidation by utilizing the TBARS method, was conducted. The results of the sensorial analysis indicated good acceptance for the attribute taste and global impression of the mayonnaise formulation with 50% of reduction of the sodium content and addition of spices and for the cream cheese curd with 75% of reduction of sodium and addition of mixture of spices. The results of the purchase intention indicated that there was no significant difference ($p > 0.05$) for purchase intention between the mayonnaise with 50% of reduction and addition of mixture of spices and the control mayonnaise (without a reduction of sodium

and without the addition of mixture of spices) and for the cream cheese curd with a reduction of 75% of the addition sodium and addition of mixture of spices as compared with the control cream cheese curd (without a reduction of addition sodium and without the addition of spices), quite satisfactory results. There was an expressive increase ($p \leq 0.05$) of the total antioxidant activity measured by the DPPH method for the mayonnaises and cream cheese curds with the addition of spices, greater than five and six times, respectively. The results for carotenoids, tocopherols and TBARS did not indicate any difference between the products with and without the addition of mixture of spices. Thereby, the addition of mixture of spices M1 in the mayonnaise and M2 in the cream cheese curds made the reduction of 50% and 75%, respectively, of the sodium content viable and further raised the antioxidant activity in them, which was related with the phenolic compounds.

Keywords: Sensorial analysis. DPPH, β -carotene/linoleic acid. Antioxidants. Tocopherols. TBARS.

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1

- Figura 1 Ilustração da separação de éter de petróleo da análise de carotenoides totais em funil de separação. Fonte: Rodriguez-Amaya e Kimura (2004).....91

ARTIGO 2

- Figura 1 Ilustração da separação de éter de petróleo da análise de carotenoides totais em funil de separação. Fonte: Rodriguez-Amaya e Kimura (2004)..... 141
- Figura 2 Análise de componentes principais das formulações de maionese e dos atributos avaliados na análise sensorial. C100: maionese controle com 100% de redução de sódio e isenta de mistura de especiarias; C0: maionese controle com quantidade padrão de sódio (1.04g/100g), 0% de redução, e isenta de especiarias; M100, M75, M50, M25, M0: maionese com 100%, 75%, 50%, 25%, 0% de redução de sódio e adição de 1,5g de mistura de especiarias/100g de maionese..... 149

ARTIGO 3

- Figura 1 Ilustração da separação de éter de petróleo da análise de carotenoides totais em funil de separação. Fonte: Rodriguez-Amaya e Kimura (2004)..... 193
- Figura 2 Análise de componentes principais das sete formulações de requeijão cremoso e dos atributos avaliados na análise sensorial. C100: requeijão cremoso controle com 100% de redução do sódio de adição (0,41mg/100g) e isenta de mistura de especiarias; C0: requeijão cremoso controle com quantidade padrão de sódio, 0% de redução (0,72g de sódio/100g), e isenta de especiarias; R100, R75, R50, R25, R0: requeijão cremoso com 100, 75, 50, 25 e 0% de redução do sódio de adição (0,41g/100g) mais 1,5g de mistura de especiaria /100g de requeijão cremoso 200

LISTA DE GRÁFICOS

ARTIGO 1

- Gráfico 1 Valores médios da atividade antioxidante total (AAT) das misturas de especiarias pelo método DPPH em % de inibição de oxidação utilizando extrato na concentração de 2mg/mL. M1 = limão (60%), manjeriço (25%), orégano (15%); M2 = alho (45%), cebola (30%), orégano (25%); M3 = cebolinha verde (75%), manjerona (20%), tomilho (5%); M4 = cebola (60%), cúrcuma (30%), pimenta do reino (10%), M5 = cúrcuma (45%), alho (40%), pimenta do reino (15%); M6 = manjerona (40%), pimenta do reino (35%), limão (25%); M7 = orégano (45%), tomilho (30%), manjerona (25%). Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância.. 100
- Gráfico 2 Valores médios da atividade antioxidante total das misturas de especiarias pelo método β -caroteno/ácido linoleico em % de inibição de oxidação para 5g de amostra. M1 = limão (60%), manjeriço (25%), orégano (15%); M2 = alho (45%), cebola (30%), orégano (25%); M3 = cebolinha verde (75%), manjerona (20%), tomilho (5%); M4 = cebola (60%), cúrcuma (30%), pimenta do reino (10%), M5 = cúrcuma (45%), alho (40%), pimenta do reino (15%); M6 = manjerona (40%), pimenta do reino (35%), limão (25%); M7 = orégano (45%), tomilho (30%), manjerona (25%). Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância..... 103
- Gráfico 3 Valor médio de compostos fenólicos ($\text{mg AGE}/100\text{g}^{-1}$) nos extratos etanólicos das misturas de especiarias. M1 = limão (60%), manjeriço (25%), orégano (15%); M2 = alho (45%), cebola (30%), orégano (25%); M3 = cebolinha verde (75%), manjerona (20%), tomilho (5%); M4 = cebola (60%), cúrcuma (30%), pimenta do reino (10%), M5 = cúrcuma (45%), alho (40%), pimenta do reino (15%); M6 = manjerona (40%), pimenta do reino (35%), limão (25%); M7 = orégano (45%), tomilho (30%), manjerona (25%). Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância.. 105
- Gráfico 4 Valores médios da concentração de carotenoides totais nas sete misturas de especiarias em $\mu\text{g/g}$. M1 = limão (60%), manjeriço (25%), orégano (15%); M2 = alho (45%), cebola (30%), orégano (25%); M3 = cebolinha verde (75%), manjerona (20%),

tomilho (5%); M4 = cebola (60%), cúrcuma (30%), pimenta do reino (10%), M5 = cúrcuma (45%), alho (40%), pimenta do reino (15%); M6 = manjerona (40%), pimenta do reino (35%), limão (25%); M7 = orégano (45%), tomilho (30%), manjerona (25%). Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância 107

ARTIGO 2

- Gráfico 1 Representação dos valores médios da atividade antioxidante pelo método DPPH em % de inibição utilizando extrato na concentração de 48mg/mL. C100: maionese controle com 100% de redução de sódio e isenta de mistura de especiarias; C0: maionese controle com quantidade padrão de sódio (1,04g/100g de maionese), 0% de redução, e isenta de especiarias; M100, M75, M50, M25, M0: maionese com 100, 75, 50, 25 e 0% de redução de sódio e adição de 1,5g de mistura da especiarias/100g de maionese. Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância.. 154
- Gráfico 2 Representação dos valores médios da atividade antioxidante pelo método β -caroteno-ácido/linoleico em % de inibição para 12g de amostra. C100: maionese controle com 100% de redução de sódio e isenta de mistura de especiarias; C0: maionese controle com quantidade padrão de sódio (1,04g/100g), 0% de redução, e isenta de especiarias; M100, M75, M50, M25, M0: maionese com 100, 75, 50, 25 e 0% de redução de sódio e adição de 1,5g de mistura da especiarias/100g de maionese. Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância 155
- Gráfico 3 Valores médios de compostos fenólicos (mg AGE/g⁻¹) nos extratos etanoicos das formulações de maionese. C100: maionese controle com 100% de redução de sódio e isenta de mistura de especiarias; C0: maionese controle com quantidade padrão de sódio (1,04g/100g), 0% de redução, e isenta de especiarias; M100, M75, M50, M25, M0: maionese com 100, 75, 50, 25 e 0% de redução de sódio e adição de 1,5g de mistura da especiarias/100g de maionese. Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância.. 156
- Gráfico 4 Valores médios da concentração de carotenoides totais das formulações de maionese em μ g/g. C100: maionese controle com 100% de redução de sódio e isenta de mistura de especiarias; C0: maionese controle com quantidade padrão de

| | | |
|-----------|---|-----|
| | sódio (1,04g/100g), 0% de redução, e isenta de especiarias; M100, M75,M50, M25, M0: maionese com 100, 75, 50, 25 e 0% de redução de sódio e adição de 1,5g de mistura da especiarias/100g de maionese. Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância.. | 158 |
| Gráfico 5 | Ilustrativo do teor médio de malonaldeído em mg/kg ⁻¹ nas sete formulações de maionese. C100: maionese controle com 100% de redução de sódio e isenta de mistura de especiarias; C0: maionese controle com quantidade padrão de sódio (1,04g/100g), 0% de redução, e isenta de especiarias; M100, M75,M50, M25, M0: maionese com 100, 75, 50, 25 e 0% de redução de sódio e adição de 1,5g de mistura da especiarias/100g de maionese. Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância | 163 |

ARTIGO 3

| | | |
|-----------|---|-----|
| Gráfico 1 | Valores médios da atividade antioxidante pelo método DPPH em % de inibição de oxidação utilizando extrato na concentração de 48mg/mL. C100: requeijão cremoso controle com 100% de redução do sódio de adição (0,41mg/100g) e isenta de mistura de especiarias; C0: requeijão cremoso controle com quantidade padrão de sódio, 0% de redução (0,72g de sódio/100g), e isenta de mistura de especiarias; R100, R75, R50, R25, R0: requeijão cremoso com 100, 75, 50, 25 e 0% de redução do sódio de adição (0,41g/100g) mais 1,5g de mistura de especiaria/100g de requeijão cremoso. A mistura de especiarias foi composta por cebola, alho e orégano. Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância..... | 208 |
| Gráfico 2 | Valores médios da atividade antioxidante pelo método β-caroteno/ ácido linoleico em % de inibição para 12g de amostra de requeijão cremoso. C100: requeijão cremoso controle com 100% de redução do sódio de adição (0,41mg/100g) e isenta de mistura de especiarias; C0: requeijão cremoso controle com quantidade padrão de sódio, 0% de redução (0,72g de sódio/100g), e isenta de mistura de especiarias; R100, R75, R50, R25, R0: requeijão cremoso com 100, 75, 50, 25 e 0% de redução do sódio de adição (0,41g/100g) mais 1,5g de mistura de especiaria /100g de requeijão cremoso. A mistura de especiarias foi composta por cebola, alho e orégano. Barras com | |

- a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância.....209
- Gráfico 3 Composição média de compostos fenólicos em mg de ácido gálico equivalente/100g de amostra (mg AGE/g⁻¹) nos extratos etanólicos das formulações de requeijão cremoso. C100: requeijão cremoso controle com 100% de redução do sódio de adição (0,41mg/100g) e isenta de mistura de especiarias; C0: requeijão cremoso controle com quantidade padrão de sódio, 0% de redução (0,72g de sódio/100g), e isenta de mistura de especiarias; R100, R75, R50, R25, R0: requeijão cremoso com 100, 75, 50, 25 e 0% de redução do sódio de adição (0,41g/100g) mais 1,5g de mistura de especiaria /100g de requeijão cremoso. Mistura de especiarias= cebola, alho e orégano. Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância211
- Gráfico 4 Valores médios da concentração de carotenoides totais nas formulações de requeijão cremoso em µg/g. C100: requeijão cremoso controle com 100% de redução do sódio de adição (0,41mg/100g) e isenta de mistura de especiarias; C0: requeijão cremoso controle com quantidade padrão de sódio, 0% de redução (0,72g de sódio/100g), e isenta de mistura de especiarias; R100, R75, R50, R25, R0: requeijão cremoso com 100, 75, 50, 25 e 0% de redução do sódio de adição (0,41g/100g) mais 1,5g de mistura de especiaria/100g de requeijão cremoso. A mistura de especiarias foi composta por cebola, alho e orégano. Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância.....214
- Gráfico 5 Valor médio do teor de malonaldeído em mg/kg⁻¹ nas formulações de requeijão cremoso. C100: requeijão cremoso controle com 100% de redução do sódio de adição (0,41mg/100g) e isenta de mistura de especiarias; C0: requeijão cremoso controle com quantidade padrão de sódio, 0% de redução (0,72g de sódio/100g), e isenta de mistura de especiarias; R100, R75, R50, R25, R0: requeijão cremoso com 100, 75, 50, 25 e 0% de redução do sódio de adição (0,41g/100g) mais 1,5g de mistura de especiaria /100g de requeijão cremoso. A mistura de especiarias foi composta por cebola, alho e orégano. Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância.....219

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

| | | |
|----------|--|-----|
| Tabela 1 | Constituição das misturas de especiarias | 83 |
| Tabela 2 | Composição centesimal em matéria seca (MS) e valor energético das sete misturas de especiarias e respectivos coeficientes de variação (CV) | 94 |
| Tabela 3 | Perfil de ácidos graxos das sete misturas de especiarias, expresso em g/100g de lipídios totais | 97 |
| Tabela 4 | Análise de correlação de Pearson entre os resultados para atividade antioxidante total (DPPH e Sistema β -caroteno/ ácido linoleico), compostos fenólicos e carotenoides totais das misturas de especiarias..... | 109 |
| Tabela 5 | Teor médio dos compostos antioxidantes, tocoferóis e vitamina C, nas sete misturas de especiarias | 110 |
| Tabela 6 | Teor de magnésio e zinco nas misturas de especiarias | 112 |

ARTIGO 2

| | | |
|----------|--|-----|
| Tabela 1 | Descrição das sete formulações de maionese com adição de especiarias e redução do teor de sódio | 130 |
| Tabela 2 | Valores médios das notas do Teste de Aceitação (9=gostei muitíssimo e 1=desgostei muitíssimo) e do Teste de Intenção de Compras (5=certamente compraria e 1=certamente não compraria) das formulações de maionese com redução de sódio e adição de especiarias | 146 |
| Tabela 3 | Valores médios da composição físico química das sete formulações de maionese com redução do teor de sódio e adição de mistura de especiarias | 151 |
| Tabela 4 | Perfil de ácidos graxos (g/100g) das sete formulações de maionese com redução de sódio e adição de mistura de especiarias | 152 |
| Tabela 5 | Análise de correlação de Pearson entre resultados para atividade antioxidante total (DPPH e Sistema β -caroteno/acido linoleico), compostos fenólicos e carotenoides das formulações de maionese | 159 |
| Tabela 6 | Teor médio de tocoferóis nas formulações de maionese com redução do teor de sódio e adição de mistura de especiarias | 161 |

ARTIGO 3

| | | |
|----------|--|-----|
| Tabela 1 | Descrição das sete formulações de requeijão cremoso com redução de sódio e adição de mistura de especiarias | 181 |
| Tabela 2 | Valores médios das notas do Teste de Aceitação (9=gostei muitíssimo e 1=desgostei muitíssimo) e do Teste de Intenção de Compras (5=certamente compraria e 1=certamente não compraria) das formulações de requeijão cremoso redução de sódio e adição de especiarias..... | 198 |
| Tabela 3 | Valores médios de sódio, pH, composição centesimal e energia das formulações de requeijão cremoso com redução do teor de sódio e adição de mistura de especiarias..... | 203 |
| Tabela 4 | Perfil de ácidos graxos (g/100g) das sete formulações de requeijão cremoso com redução de sódio e adição de mistura de especiarias | 206 |
| Tabela 5 | Análise de correlação de Pearson entre os resultados para atividade antioxidante total, compostos fenólicos totais e carotenoides totais das amostras de requeijão cremoso com redução do teor de sódio e adição de mistura de especiarias | 215 |
| Tabela 6 | Teor médio de tocoferóis nas sete formulações de requeijão cremoso com redução do teor de sódio e adição de mistura de especiarias | 216 |

LISTA DE ABREVIATURAS

Na - sódio

RDA - ingestão dietética recomendada

EAR - necessidade media estimada

AI - ingestão adequada

UL - limite máximo de ingestão tolerado

HA - hipertensão arterial

PA - pressão arterial

WHO - Organização Mundial da Saúde

ABIA - Associação Brasileira de Industrialização de Alimentos

NaCl - cloreto de sódio

EROs - Espécies Reativas ao Oxigênio

BHA - hidroxianisol butilado

BHT - hidroxitolueno butilado

Zn - zinco

Mg - magnésio

SOD - superóxido dismutase

DPPH – 1,1-difenil-2-picrilhidrazila

DMPO – 5,5-dimetil-1-pirrolin-n-óxido

ABTS – ácido 2,2'-azinobis 3-etilbenzotiazolin-6sulfônico

VCEAC – equivalente de vitamina C

DCNTs - doenças crônicas não transmissíveis

AOAC - Official Methods of Analysis

FAT - fibra alimentar total

AGE - ácido gálico equivalente

ENN - extrato não nitrogenado

SUMÁRIO

| | | |
|-----------------|--|-----|
| | PRIMEIRA PARTE | 23 |
| 1 | INTRODUÇÃO GERAL | 23 |
| 2 | OBJETIVOS | 25 |
| 2.1 | Objetivo geral | 25 |
| 2.2 | Objetivos específicos | 25 |
| 3 | REFERENCIAL TEÓRICO | 26 |
| 3.1 | Funções fisiológicas do sódio e recomendações | 26 |
| 3.1.2 | Agravos do excesso de sódio no organismo | 27 |
| 3.2 | Definição e caracterização de maionese e requeijão | 30 |
| 3.3 | Métodos para redução de sódio nos alimentos | 34 |
| 3.4 | Especiarias: definição e propriedades | 35 |
| 3.4.1 | Classificação agrônômica e características químicas de especiarias | 38 |
| 3.4.1.1 | Alho | 38 |
| 3.4.1.2 | Cebola | 39 |
| 3.4.1.3 | Cebolinha verde | 41 |
| 3.4.1.4 | Orégano | 42 |
| 3.4.1.5 | Manjerição | 43 |
| 3.4.1.6 | Tomilho | 44 |
| 3.4.1.7 | Pimenta preta (pimenta do reino) | 45 |
| 3.4.1.8 | Cúrcuma | 46 |
| 3.4.1.9 | Manjerona | 47 |
| 3.4.1.10 | Limão | 48 |
| 3.5 | Mecanismos de ação de compostos antioxidantes | 49 |
| 3.5.1 | Vitamina C | 49 |
| 3.5.2 | Vitamina E | 50 |
| 3.5.3 | Carotenoides | 51 |
| 3.5.4 | Compostos fenólicos | 52 |
| 3.5.5 | Zinco e magnésio | 54 |
| 3.6 | Métodos <i>in vitro</i> para avaliação da atividade antioxidante total de alimentos | 56 |
| | REFERÊNCIAS | 59 |
| | SEGUNDA PARTE | 78 |
| | ARTIGO 1 Caracterização nutricional e antioxidante de misturas de especiarias | 78 |
| | ARTIGO 2 Utilização de mistura de especiarias em maionese visando redução de sódio e incremento de ação antioxidante | 124 |

| | |
|---|------------|
| ARTIGO 3 Requeijão cremoso com adição de mistura de especiarias visando reduzir o sódio e agregar ação antioxidante..... | 175 |
|---|------------|

PRIMEIRA PARTE

Aspectos fisiológicos do sódio e uso de especiarias em maionese e requeijão cremoso para redução do teor de sódio e incremento de atividade antioxidante

1 INTRODUÇÃO GERAL

O sódio (Na) é um elemento químico essencial para o funcionamento adequado do organismo humano, o equilíbrio homeostático é uma das diversas funções que ele desempenha. Contudo, o consumo excessivo de sódio é associado ao desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis, tais como a hipertensão arterial, doenças cardiovasculares, câncer de estômago, doenças renais, osteoporose, dentre outras. A maior parte do sódio consumido pela população é derivado dos alimentos industrializados ou do sal de mesa (NaCl) adicionado nos alimentos durante o preparo.

Visando melhorias na dieta e a prevenção de doenças não transmissíveis associadas ao consumo excessivo de sódio o ministério da saúde brasileiro vem estabelecendo metas para redução do teor de sódio em diversas categorias de alimentos processados, dentre os quais a maionese e o requeijão cremoso.

A diminuição do sódio nos alimentos industrializados por meio da redução da adição do cloreto de sódio (NaCl) é um processo de difícil realização visto que, mudanças nas quantidades dos ingredientes acarreta grande rejeição desses produtos pelos consumidores. Uma das alternativas que vem sendo utilizada neste caso é a adição de especiarias no produto combinada à retirada do NaCl, dessa forma é possível realçar as propriedades sensoriais do produto e garantir boa adesão mesmo com a restrição do sódio.

Além de agregar sabor e aroma aos alimentos as especiarias contêm vitaminas e minerais com características antioxidantes, a exemplo da vitamina

C, E e A, dos minerais zinco e magnésio, e ainda os compostos fenólicos, que são uma mistura complexa de substâncias não consideradas nutrientes mas com capacidade antioxidante. Os compostos antioxidantes contribuem para proteção dos sistemas biológicos contra os efeitos nocivos das reações de oxidação que podem causar o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis, a exemplo de cânceres, diabetes, cardiopatias, além de melhorar o valor nutricional dos alimentos. Sendo assim, as especiarias e seus respectivos extratos são de interesse cada vez maior da indústria alimentícia.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar química, nutricional e sensorialmente maionese e requeijão cremoso com adição de mistura de especiarias visando a redução do teor de sódio e incremento de atividade antioxidante total.

2.2 Objetivos específicos

- a) caracterizar quimicamente misturas de especiarias e avaliar a atividade antioxidante total e componentes antioxidantes;
- b) desenvolver maioneses com redução gradativa do sódio (Na) derivado do sal de mesa (NaCl) e com acréscimo de mistura de especiarias;
- c) desenvolver requeijões cremosos com redução gradativa do sódio (Na) derivado do sal de mesa (NaCl) de adição e com acréscimo de mistura de especiarias;
- d) realizar análise sensorial de aceitação e intenção de compra dos produtos desenvolvidos;
- e) caracterizar quimicamente e avaliar a atividade antioxidante dos produtos desenvolvidos.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Funções fisiológicas do sódio e recomendações

O sódio (Na) é o principal cátion do fluido extracelular e, assim como o cloro e potássio, exerce papel importante na manutenção da pressão osmótica, equilíbrio hídrico e ácido-básico do organismo, além disso, ele é necessário para transmitir os impulsos nervosos, estimular a ação muscular e transportar substâncias por meio das membranas celulares, sendo reconhecida a sua participação na absorção da glicose no intestino delgado (TRAMONTE; CALLOU; COZZOLINO, 2012; MAHAN; ESCOTT-STUMP; RAYMOND, 2013).

A absorção do sódio, aproximadamente 98% da quantidade consumida, ocorre principalmente no intestino delgado, e a sua excreção nos indivíduos saudáveis ocorre por meio dos rins, além das perdas variáveis por meio da pele (suor) e das fezes (TRAMONTE; CALLOU; COZZOLINO, 2012).

Os níveis de sódio do organismo são controlados por processos fisiológicos, se a ingestão de sódio for baixa, o hormônio aldosterona age sobre os rins diminuindo a sua excreção urinária. Quando os níveis de sódio no sangue aumentam, os receptores no hipotálamo estimulam a sensação da sede e o excesso deste é excretado na urina. Portanto, para manter a homeostase hidroeletrólítica é importante ter uma ingestão de sódio equilibrada (ALDERMAN; COHEN; MADHAVAN, 1998; MCARDLE; KATHC; KATCH, 1998).

A necessidade média estimada (EAR) do sódio ainda não foi definida em decorrência da insuficiência de dados de pesquisas dose resposta, portanto, a ingestão dietética recomendada (RDA) ainda não pode ser determinada para esse

elemento. A ingestão adequada (AI) de sódio foi então estabelecida em 1,5g/dia para adultos jovens (3,8 g de cloreto de sódio), salientando que o limite máximo de ingestão tolerado (UL) de sódio é de 2,3g/dia (INSTITUTE OF MEDICINE, FOOD AND NUTRITION BOARD, 2004). A Organização Mundial da Saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2003) recomenda que a ingestão diária de sódio não ultrapasse 2000 mg (equivalente a 5000 mg de cloreto de sódio).

O sódio encontra-se presente naturalmente em diversos alimentos na forma intrínseca (WILLETTI, 2001), contudo, a maior parte do sódio consumido é proveniente do sal de mesa (NaCl) e dos compostos sódicos adicionados no processamento dos alimentos, a exemplo do glutamato monossódico, fosfato de sódio, carbonato de sódio e benzoato de sódio (LIEM et al., 2011; TRAMONTE; CALLOU; COZZOLINO, 2012).

A Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) realizada em 2008-2009 (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2011), indicou que as principais fontes de sódio na dieta dos brasileiros foi o sal e os temperos à base de sal (76,2%), os alimentos processados com adição de sal (15,8%), os alimentos *in natura* ou processados sem adição de sal (6,6%) e as refeições prontas (1,4%). Sendo maior o consumo de alimentos processados nos domicílios urbanos e nas faixas de maior poder aquisitivo. Estudos epidemiológicos indicam que os brasileiros apresentam média de ingestão de 15,09 gramas diários de NaCl, mais que o triplo da quantidade recomendada pela WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2003), e por isso estão entre os maiores consumidores de sódio do mundo (MARTELLI, 2014).

3.1.2 Agravos do excesso de sódio no organismo

O consumo excessivo de sódio tem sido considerado o fator ambiental crucial da hipertensão arterial (HA), que é reconhecidamente fator de risco para

doenças cardiovasculares e renais, além de vários outros efeitos negativos para a saúde, que incluem o câncer gástrico, diminuição da densidade mineral óssea e, possivelmente, a obesidade (LIEM et al., 2011; TRAMONTE; CALLOU; COZZOLINO, 2012).

A HA afeta aproximadamente 25% da população mundial adulta e, prevê-se que em 2025 a prevalência será de 60% da população adulta. Cerca de 1,56 bilhões de indivíduos adultos poderão ser afetadas por esta patologia que é o principal fator de risco para doença cardiovascular, sendo esta a principal causa de mortalidade a nível mundial (SANTOS, 2009). Estudos mostram que sete dias de ingestão de dieta hipersalina (14,6 g NaCl/dia) é suficiente para elevar a pressão arterial (PA) média em pelo menos 10%, por comparação a pressão arterial média obtida com uma dieta hipossalina (585 mg NaCl/dia) (KAWASAKI et al., 1978).

A influência do sódio sobre a resposta pressora às substâncias vasoativas pode ser a provável explicação para a elevação da PA durante a sobrecarga de sódio na dieta (RANKIN et al., 1981). Estes mecanismos fisiopatológicos ainda não foram elucidados, mas, sabe-se que as alterações no metabolismo do sódio e no volume de líquido extracelular têm respostas heterogêneas nos indivíduos. Os principais grupos de indivíduos com sensibilidade aumentada ao sódio são idosos, diabéticos, pacientes com insuficiência renal e indivíduos com aumento da atividade simpática. Autores também sugerem que a sensibilidade ao sódio pode ter uma base genética (KURTZ; AL-BANDER; JÚNIOR MORRIS, 1987).

Estudos sugerem que os indivíduos sensíveis ao sódio têm aumento na atividade do sistema nervoso simpático (SNS), que é responsável por promover a constrição de vasos sanguíneos e aumento da pressão arterial (CAMPESE et al., 1982).

Apesar de ainda não estar esclarecido o mecanismo da elevação da PA devido ao consumo excessivo de sódio, os efeitos benéficos de uma dieta

saudável sobre o comportamento dos níveis pressóricos já são bem conhecidos (MARTELLI, 2014). A restrição da ingestão de sal é uma das mais eficientes ferramentas terapêuticas no controle da PA das populações. Estudos realizados comprovam que a redução de apenas 1,3g na quantidade de sódio consumida diariamente acarreta uma redução em torno de 5 mmHg na pressão arterial sistólica, resultando em redução de 20% na prevalência de hipertensão arterial. Estima-se ainda que se o consumo de sódio for reduzido para a recomendação diária da Organização Mundial da Saúde, World Health Organization (WHO), 2000mg/dia, os óbitos por acidentes vasculares cerebrais podem diminuir em 15%, e as mortes por infarto em 10%, além disso, 1,5 milhões de brasileiros não precisariam de medicação para hipertensão e a expectativa de vida seria aumentada em até quatro anos (ELLIOT et al., 1996; SARNO et al., 2007).

No Brasil o Ministério da Saúde tem coordenado estratégias nacionais que visam à redução do consumo de sódio, tomando como eixos a promoção da alimentação saudável (particularmente no que tange ao uso racional do sal), a realização de ações educativas e informativas para profissionais de saúde, manipuladores e fabricantes de alimentos e população e a reformulação dos alimentos processados objetivando a redução do teor de sódio. A seleção das categorias prioritárias de alimentos para a redução de sódio baseou-se na contribuição dessas para a ingestão desse elemento (associando o consumo total do produto e teor médio de sódio) (NILSON; JAIME; RESENDE, 2012).

Estabelecidas as categorias de alimentos para redução de sódio, o governo brasileiro firmou termos e compromisso com a Associação Brasileira de Indústrias de Alimentação (ABIA) traçando metas de redução gradativa do teor de sódio nos produtos. O primeiro termo, firmado em abril de 2011, considerou a redução do teor de sódio em 16 categorias de alimentos processados, como massas instantâneas, pães e bisnagas. O segundo termo, concretizado em dezembro de 2011, objetivou a redução do teor de sódio em batatas fritas e

palha, salgadinhos de milho, bolos prontos, biscoitos salgados e maionese. O terceiro termo foi assinado em agosto de 2012, estabelecendo metas de redução de sódio em temperos, caldos, cereais matinais e margarinas vegetais. O último termo assinado até o momento, novembro de 2013, considera a redução de sódio em queijo muçarela, sopa instantânea, sopas prontas para consumo e para cozimento, empanados, hambúrguer, linguiça cozida mantida a temperatura ambiente, linguiça frescal, presuntaria, mortadela e requeijão cremoso (BRASIL, 2011).

3.2 Definição e caracterização de maionese e requeijão

Maionese

A maionese foi inventada em 1756 pelo chef de cozinha francês do Duque de Richelieu. Depois que o Duque derrotou os britânicos em Port Mahon, seu chef produziu o banquete da vitória que incluía um molho feito à base de nata e ovos. Percebendo que não havia nata na cozinha, o chef a substituiu por azeite de oliva, o chef apelidou esse molho de “Mahonnaise” (LENNOX, 2007).

O Ministério da Saúde brasileiro define maionese como produto cremoso em forma de emulsão estável, óleo em água, preparado a partir de óleos vegetais, água e ovos, podendo ser adicionado de outros ingredientes desde que estes não descaracterizem o produto, e deve ser acidificado, conforme descrito na resolução n°. 276 (BRASIL, 2005). Ela consiste de uma fase interna e descontínua de gotículas de óleo dispersa em uma fase externa contínua de água e vinagre (HARRISON; CUNNINGHAM, 1985).

Cada ingrediente da formulação da maionese tem função específica e a quantidade de cada um deve ser cuidadosamente determinada e controlada para

se atingir as características desejadas (SERVIÇO BRASILEIRO DE RESPOSTAS TÉCNICAS, 2006).

Considerando o fato de a maionese ser uma emulsão de óleo em água, a rigidez da emulsão depende parcialmente do tamanho das gotículas de óleo e da proximidade com que elas estão agrupadas. Usualmente, a quantidade de óleo adicionado à maionese varia entre 65 - 70%. Quanto mais óleo estiver disperso na emulsão mais rígida ela será, porém, na faixa de 82% de óleo o sistema é sobrecarregado, levando a desestabilização da emulsão. Abaixo de 60% de óleo, a emulsão deverá ser estabilizada com adição de amido ou aumento da quantidade de gemas de ovos (HARRISON; CUNNINGHAM, 1985).

As lecitoproteínas, fosfolípidos e colesterol da gema de ovo exercem função de aproximar e manter estável as gotículas de óleo e água da maionese (POWRIE, 1977).

O vinagre é o principal ingrediente ácido utilizado no preparo da maionese, ele apresenta função preservativa contra a deterioração microbiológica do produto. O pH final da maionese deve ser em torno de 3 a 3,5 (SERVIÇO BRASILEIRO DE RESPOSTAS TÉCNICAS, 2006).

O sal e o açúcar são adicionados em níveis baixos de acordo com o produto que se quer desenvolver, eles servem para realçar e suavizar o sabor de outros ingredientes, respectivamente. Além disso, pode-se acrescentar condimentos, dependendo das características almejadas para o produto (SERVIÇO BRASILEIRO DE RESPOSTAS TÉCNICAS, 2006).

Análises realizadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) em 14 marcas de maionese indicaram que os teores de sódio nas mesmas estavam elevados, os valores variaram entre 700 à 1500 mg/100g, sendo a média igual a 1100 mg de sódio por 100g de maionese (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2012), esse resultado é preocupante, já que, a maionese é um produto bastante consumido no Brasil,

dados de 2011 mostram que as vendas de maionese em dezembro e janeiro foram de 18.830 kg (AC NIELSEN DO BRASIL LTDA, 2011).

Requeijão

O requeijão surgiu no Brasil como subproduto do leite desnatado, que era considerado descarte nas regiões produtoras de creme para a fabricação de manteiga (MUNCK; CAMPOS, 1984). A produção se restringia ao uso local, mas com a evolução dos meios de transporte, de acondicionamento e de tecnologia, o requeijão se tornou expressivo no mercado de queijos, ocupando a preferência de consumo de muitos brasileiros. Atualmente são muitas as tecnologias empregadas na fabricação de requeijão assim como formato dos produtos, embalagens consistência e coadjuvantes tecnológicos (RODRIGUES, 2006).

O Ministério da Saúde brasileiro define requeijão como o produto obtido pela fusão da massa coalhada, cozida ou não, dessorada e lavada, obtida por coagulação ácida e/ou enzimática do leite opcionalmente adicionada de creme de leite e/ou manteiga e/ou gordura anidra de leite ou óleo de manteiga. O produto poderá estar adicionado de condimentos, especiarias e/ou outras substâncias alimentícias. A base láctea desse produto não pode conter gordura e/ou proteína que não sejam de origem animal (BRASIL, 2005; BRASIL, 2003).

O requeijão pertence ao grupo de queijos denominados processados pasteurizados e é o produto que melhor representa essa classe no Brasil (OLIVEIRA, 1986). Entretanto, com o nome de requeijão, existem no mercado queijos com diferentes teores de umidade e, conseqüentemente com variações na consistência, havendo desde produtos com elevada cremosidade, com propriedade de espalhabilidade como o requeijão cremoso, até produtos bastante firmes, fatiáveis como o requeijão do norte (CAVALCANTE, 1991). No Brasil destaca-se o requeijão cremoso como o mais tradicional e de amplo consumo (RAPACCI, 1997). De acordo com Oliveira (1990) um requeijão cremoso típico

apresenta cerca de 45% de umidade, 30% de gordura, 23% de proteína, 2% de sal e pH entre 5,3-5,5.

O princípio de fabricação deste tipo de queijo consiste em fundir os dois elementos principais do queijo, isto é, a proteína e a gordura. A fusão só ocorre de maneira adequada quando a matéria prima é submetida ao calor e à agitação mecânica. Além disso, há necessidade do emprego de produtos emulsificantes conhecidos como sais fundentes, a exemplo do ácido cítrico, citratos de sódio, ortofosfatos de sódio e polifosfato de sódio (LEE; KLOSTERMEYER, 2001; VAN DENDER, 2006).

Os sais fundentes têm diversas funções, tais como, remover o cálcio do sistema proteico, peptizar, hidratar, solubilizar e dispersar a proteína, estabilizar a emulsão, controlar o pH e contribuir para a formação de estrutura apropriada após o resfriamento. A principal característica de um sal é a capacidade de solubilizar a caseína, com conseqüente formação de solução homogênea e esta capacidade aumenta com o seu poder de fixação do cálcio (MEYER, 1973).

Vários tipos de leite podem ser utilizados para a produção de requeijão cremoso: leite desnatado, leite reconstituído, leite integral ou até mesmo leite integral homogeneizado, onde os glóbulos de gordura são fraturados impedindo que os mesmos sejam perdidos na etapa de dessoragem da massa (VAN DENDER, 2006).

O requeijão deve apresentar sabor ligeiramente ácido, agradável ao paladar, aroma característico de produto fermentado por microrganismos lácticos e massa homogênea com cremosidade ou untuosidade típica (OLIVEIRA, 1986). A gordura no extrato seco desengordurado deste tipo de produto é elevada, predominando na faixa de 50% a 60%. A quantidade de gordura a ser adicionada depende do teor de gordura que se deseja no extrato seco do produto final e das porcentagens de gordura e sólidos totais da massa inicial (VAN DENDER, 2006).

3.3 Métodos para redução de sódio nos alimentos

A redução do sódio nos alimentos por meio da redução do cloreto de sódio (NaCl) é um grande desafio, visto que o mesmo é um aditivo alimentar amplamente utilizado devido ao seu baixo custo, a sua capacidade de aumentar a salinidade (palatabilidade) dos alimentos e suas funções tecnológicas (tais como fundição e conservação). Acredita-se que o teor de sódio de muitos produtos alimentares excede os requisitos tecnológicos para melhorar efeitos sensoriais (LIEM et al., 2011).

O gosto salgado do sódio pode ser explicado pelo mecanismo de transdução exclusivo envolvendo canais epiteliais de sódio específicos nas células receptoras gustativas. Existem dois subtipos de canais epiteliais de sódio, um específico para o sódio, que é ativado em baixas concentrações desse mineral, acredita-se que esse seja o responsável pela natureza apetitiva do gosto de sal. O segundo canal epitelial de sódio é permeável a vários cátions (potássio, cálcio, magnésio), porém, para ativá-lo é necessário que os cátions estejam em concentrações mais elevadas que a do sódio, crê-se que esse fato seja o responsável pela natureza aversiva desses compostos. Os substitutos do cloreto de sódio, tais como cloreto de potássio, cloreto de cálcio e sulfato, contribuem para prover sabor salgado ao alimento, contudo, eles favorecem o aparecimento de gostos residuais amargo, metálicos e adstringentes indesejáveis, o que limita o uso desses na fabricação de alimentos. O lítio também tem sabor salgado, mas devido à sua toxicidade não é um ingrediente alimentar aprovado (LIEM et al., 2011).

É consenso entre autores que o uso de princípios multissensoriais, por exemplo, aumento do aroma dos alimentos por meio da adição de especiarias, contribui para otimizar as características organolépticas dos alimentos,

favorecendo desta forma a redução da adição de sódio e garantindo boa aceitação do produto (DALLEPIANE; BÓS, 2007; DOYLE; GLASS, 2010).

As especiarias são amplamente utilizadas desde as civilizações antigas como agentes conservantes e provedores de características organolépticas favoráveis aos alimentos aos quais são adicionadas. Além disso, por serem substâncias naturais, de origem vegetal, tornam o alimento mais atrativo ao consumidor por não apresentarem efeito tóxico, mesmo quando empregadas em concentrações relativamente elevadas (DEANS; RITCHIE, 1987; BATISTA; CARVALHO, 1999; LEE et al., 2005; PEREIRA, 2004;).

Simonetti, Batista e Carvalho (1999) salientam que nas restrições moderadas e severas de sódio é recomendado o uso de especiarias para melhorar a palatabilidade do alimento, podendo a substituição do sal ser realizada por salsa, cebola, cebolinha, alho, vinagre, limão, hortelã, coentro, manjeriço, folhas de mostarda, louro, páprica, orégano, alecrim e outros. Não existem restrições para a adição de especiarias em produtos alimentícios de acordo com a legislação brasileira, desde que seja comprovada a segurança de uso das mesmas (BRASIL, 2005).

3.4 Especiarias: definição e propriedades

As especiarias são produtos constituídos de partes (raízes, rizomas, bulbos, cascas, folhas, flores, frutos, sementes, talos) de uma ou mais espécies vegetais, tradicionalmente utilizadas para agregar sabor ou aroma aos alimentos e bebidas (BRASIL, 2005). Possuem também propriedades de conservação (atividade antifúngica, antibacteriana e antioxidante) e medicinais, são cultivadas e utilizadas mundialmente. São exemplos de especiarias as folhas do alecrim e da sálvia, as flores e germinações das flores, como do cravo da Índia, os bulbos, como o alho e a cebola, os rizomas, como o gengibre, e os frutos,

como a pimenta e cardamomo (SHELEF, 1983; GERMANO; GERMANO, 2008).

Desde a pré história as especiarias já possuíam grande significância no cenário mundial, pois eram utilizadas como conservantes para embalsamar e enterrar mortos no antigo Egito. Também eram utilizadas para fins medicinais e, em locais de clima extremamente quente, onde a refrigeração era escassa, serviam para mascarar o sabor e odores de carnes em início de decomposição (BEDIN; GUTKOSKI; WIST, 1999; LEE; AHN, 2003; ALMEIDA, 2006;). As especiarias constituem ainda enfeite para molhos, catchups, embutidos e salames, evitam monotonia à mesa, têm o poder de aromatizar os alimentos, além de serem utilizadas como ingredientes em produtos curtidos e em conservas (BEDIN; GUTKOSKI; WIST, 1999; GERMANO; GERMANO, 2008; MARTINS et al., 2010).

Os componentes provedores de sabores existentes nas especiarias consistem em compostos como álcoois, ésteres, aldeídos, terpenos, fenóis, ácidos orgânicos dentre outros elementos ainda não identificados por completo (BEDIN; GUTKOSKI; WIEST, 1999; BAYDAR; SAGDIC; OZAKAN, 2004).

As especiarias ainda acrescentam a dieta humana determinadas vitaminas e minerais com características antioxidantes, a exemplo da vitamina C, vitamina E, provitamina A, zinco, magnésio e mistura complexa de substâncias naturais bioativas com capacidade antioxidante, a exemplo dos compostos fenólicos (NUUTILA et al., 2003; OZCAN; EREL; HERCK, 2009).

Os antioxidantes são compostos que protegem os sistemas biológicos contra efeitos nocivos dos processos, ou reações, que podem causar oxidação excessiva. Extratos antioxidativos naturais são de interesse cada vez maior na indústria alimentícia por serem eficientes também em retardar a degradação oxidativa de lipídios nos alimentos e, desta forma, melhorar a qualidade e valor nutricional dos mesmos (OZCAN; EREL; HERCK, 2009).

Espécies Reativas ao Oxigênio (EROs) são continuamente produzidas no sistema biológico como produtos ou subprodutos das reações enzimáticas ou podem também serem produzidas por fontes exógenas incluindo tabaco, fumo, radiações, pesticidas (SINGH et al., 2009).

O estresse oxidativo verificado pelo aumento significativo da concentração de EROs causa danos a parede endotelial, oxidação das partículas de Lipoproteínas de Baixa Densidade-colesterol (LDL-c) e de compostos celulares como ácidos nucleicos, proteínas e carboidratos. Os antioxidantes agem, de maneira geral, aumentando a resistência desses compostos à oxidação, e por isso vêm sendo associados com a redução de risco para coronariopatias e para diversas outras patologias crônicas não transmissíveis associadas ao estresse oxidativo, tais como cânceres, diabetes mellitus e também envelhecimento precoce (SINGH et al., 2009; AFONSO; SANT'ANA; MANCINI-FILHO, 2010).

Existem sistemas no organismo dos seres vivos que reduzem os efeitos adversos dos danos causados pelas EROs, no entanto, esses mecanismos de reparo vão perdendo a efetividade ao longo do tempo, deixando dessa forma de manter o ritmo de proteção contra os agentes oxidantes (PRAKASH; SINGH; UPADHYAY, 2007). Sendo assim, as especiarias estão sendo consideradas componentes naturais necessários à alimentação diária devido à presença de antioxidantes em concentrações importantes. Além disso, considerando que os consumidores modernos estão exigindo cada vez mais produtos naturais, livres de aditivos, o uso dessa fonte de antioxidantes é uma tendência para o futuro (DINI; TENORE; DINI, 2008).

3.4.1 Classificação agrônômica e características químicas de especiarias

3.4.1.1 Alho

O alho (*Allium sativum*) foi descoberto no Egito na data de 3.700 a. C. quando era empregado como medicamento. Este vegetal pertence à família *Liliaceae*, que contém mais de 700 espécies, incluindo a cebola, o alho poró e a cebolinha verde (QUEIROZ et al., 2006). Ele foi uma das primeiras culturas agrícolas devido ao seu longo tempo de armazenamento e portabilidade, podendo ser seco e conservado durante vários meses. As espécies de alho às vezes apresentam diferentes formas, sabor e cor, mas a composição bioquímica e fitoquímica é muito semelhante (BENKEBLIA, 2005).

O alho, além de alimento, é considerado também um fitoterápico de uso tradicional, segundo a resolução nº 48 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2013). Os seus princípios ativos podem contribuir na redução da hipertensão arterial sistêmica e inibir a formação de ateromas por promover a vasodilatação e evitar a lipoperoxidação de lipoproteínas, bem como a agregação plaquetária, essas atividades são atribuídas a alicina, principal princípio ativo do alho (BOREX, 2001). Apesar do alho ter sido usado há séculos na medicina herbal e tradicional, foi nos últimos anos que suas alegações de saúde foram testadas rigorosamente por mérito científico legítimo (BENKEBLIA, 2005).

Devido às diversas propriedades benéficas do alho (elevado potencial antioxidante, atividade antibacteriana e antifúngica) o consumo *in natura* e de produtos obtidos a partir desse aumentou muito nos últimos anos. Tem sido demonstrado em trabalhos científicos que o alho e seus extratos têm elevada atividade antioxidante, a qual é atribuída a duas classes principais de componentes antioxidantes, a dos flavonóides e a dos compostos contendo

enxofre (dialil sulfito, dialil trissulfeto e alil cisteína). A alicina, salilmercaptocisteína e dialil dissulfito são compostos voláteis presentes no alho que possuem atividade antioxidante (EGEN-ECHWIND; ECKARD; KEMPER, 1992; BOREX, 2001; BENKEBLIA, 2005; QUEIROZ, 2006; LEERAINGRAYUB et al., 2006).

A capacidade antioxidante de alguns dos compostos do alho têm sido comparáveis e por vezes mais elevada, a dos antioxidantes sintéticos utilizados na indústria alimentar, particularmente hidroxianisol butilado (BHA) e hidroxitolueno butilado (BHT) (BARLOW, 1990).

Em estudo realizado por Benkeblia (2005) foi observado que o alho fresco apresentava 49 mg de AGE/100 g⁻¹, referente aos compostos fenólicos totais. O mesmo autor encontrou também alta capacidade para eliminar peróxido de hidrogênio em diferentes extratos de alho, que variou de 60 a 90%. De acordo com o autor houve uma alta correlação positiva entre o teor de fenólicos totais e poder de eliminação de peróxido de hidrogênio.

A principal perda de qualidade do alho é causada pelo seu escurecimento no processamento, que ocorre devido à ação da enzima polifenol oxidase sobre os compostos fenólicos. Estes são oxidados à ortoquinonas que se polimerizam em melaninas, os quais conferem a coloração escura ao produto (QUEIROZ, 2006).

3.4.1.2 Cebola

A cebola, *Allium cepa*, pertence a família das *Alliaceae* e é um vegetal versátil, consumido fresco, desidratado, bem como sob a forma de produtos processados. Ela é uma das principais hortaliças, com produção mundial de cerca de 55 milhões de toneladas, e o seu consumo é atribuído aos fatores sabor

e saúde. O bulbo da cebola é a principal parte comestível, ele apresenta sabor forte e característico e odor pungente (SINGH et al., 2009).

Diversos estudos epidemiológicos sugerem que o consumo regular de cebolas está associado a redução do risco de doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs), várias formas de câncer, formação de catarata, desenvolvimento de úlcera, redução dos sintomas associados com a osteoporose e ação de prevenção do desenvolvimento de doenças cardíacas e vasculares através da inibição da peroxidação lipídica, redução dos níveis de lipoprotéínas de baixa densidade (LDL-c) e de colesterol total (KANEKO; BABA, 1999; SANDERSON; MCLAUCHLIN; WILLIAMSON, 1999). Outros estudos informam ainda que a cebola tem efeito hepato protetor e contribui para melhora da resposta imunológica (BALASENTHIL et al., 1999; VALKO et al., 2007).

Cebola é uma das principais fontes vegetais de compostos biologicamente ativos, ela é rica particularmente em dois grupos de compostos com comprovado benefício à saúde humana: flavonóides e sulfóxidos de cisteína (compostos organosulfurados). Dois subgrupos de compostos do tipo flavonóide predominam em cebolas, as antocianinas (que conferem a coloração avermelhada ou roxa aos bulbos) e as quercetinas e seus derivados (que conferem coloração amarelada ou cor de pinhão aos bulbos). Os sete principais flavonóides presentes na cebola são a quercetina aglicona (sem molécula de açúcar em sua estrutura química), quercetina monoglicosídica, quercetina diglicosídica, isoramnetina (éter de metil da quercetina), isoramnetina monoglicosídica, rutina e canferol, 93% do conteúdo de flavonóides totais são quercetina diglicosídica e monoglicosídica. A cebola é um dos alimentos mais ricos em quercetina (300 mg.kg^{-1} de massa fresca), comparada com a couve (100 mg.kg^{-1} de massa fresca) e ao brócolis (30 mg.kg^{-1} de massa fresca). Essas características aumentam a utilidade da cebola como potencial alimento

funcional, tornando-a um bom aditivo antioxidante para alimentos (HOLLMAN; ARTS, 2000, DINI; TENORE; DINI, 2008; SINGH et al., 2009).

Em pesquisa realizada com 28 legumes e 9 frutas foi observado que a cebola foi o vegetal que apresentou o maior teor de quercitina em comparação aos demais. A quantidade de quercitina na cebola varia com a cor e tipo do bulbo, e é distribuída principalmente nas camadas exteriores (ZIELINSKA; WICZKOWSKI; PISKULA, 2008). As plantas da família *Allium*, em geral, são fonte importante de flavonóis alimentares (SANTAS et al., 2008).

3.4.1.3 Cebolinha verde

A cebolinha verde (*Allium fistulosum*) é especiaria muito apreciada pela população e cultivada em muitos lares. As cultivares mais conhecidas são a Todo Ano, Futonegui e Hossonegui. A planta de cebolinha suporta frios prolongados e existe cultivares que resistem bem ao calor, porém, a faixa de temperatura ideal para o cultivo fica entre 8 e 22°C, ou seja, em condições amenas. A colheita da cebolinha inicia-se entre 55 e 60 dias após o plantio ou entre 85 e 100 dias após a semeadura, quando as folhas atingem de 0,20 a 0,40cm de altura. O rebrotamento é aproveitado para novos cortes, podendo um cultivo ser explorado por dois a três anos, principalmente quando são conduzidos em condições de clima ameno (EMPRESA BRASILEIRA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL, 1980; MAKISHIMA, 1993; FILGUEIRA, 2000).

Ela é propagada por sementes ou pelo plantio de parte da touceira. Devido à capacidade de rebrota, podem ser feitas várias colheitas. O seu uso em pizzas, pratos gratinados e outros preparos culinários, tem aumentado a demanda de cebolinha ao longo do ano. A cebolinha está entre as hortaliças que têm os mais altos teores de vitamina C e β -caroteno, apresentando elevada atividade

antioxidante (KMIECIK; LISIEWSKA, 1999). Alguns dos compostos antioxidantes encontrados na cebolinha verde são o N-transferuloyl methoxydopamine-3', N-cis-feruloil-3', methoxytyramine, N-trans-p-coumaroyltyramine e 3,5, 7-trihydroxyflavone (campferol) (SEO et al., 2011).

3.4.1.4 Orégano

O orégano, *Origanum vulgare L.*, da família *Lamiaceae*, é uma planta perene com altura que pode variar entre 20-80cm. Sua origem é mediterrânea e é muito cultivada na Turquia e Chile. Na Índia é vulgarmente conhecido como *himalaia marjorum* (VERMA et al., 2010).

No Brasil ele é uma das ervas aromáticas mais conhecidas. Sua utilização ocorre principalmente em molhos de tomate, pizzas, saladas e aperitivos (CORAZZA, 2002)

O orégano é conhecido por possuir propriedades terapêuticas (carminativo, antiespasmódico, anti séptico, tônico) e em muitos países chega a ser utilizado no sistema de medicina tradicional. Tornou-se amplamente utilizado nas indústrias agrícola, farmacêutica e cosmética assim como na culinária, para soborizar e aromatizar produtos alimentares (ALIGIANIS et al., 2001, DORMAN; DEANS, 2000). Esta especiaria também vem sendo utilizada como antifúngica, antibactericida e inseticida (VERMA et al., 2010).

Arcila-Lozano et al. (2004) associaram as propriedades antibacterianas e antioxidantes do orégano aos compostos carvacróis, flavonóides e terpenos, tais como apigenina, dihidrocampferol e dihidroquercetina.

O potencial antioxidante do orégano em alimentos foi estudado por Piedade (2007) que avaliou a proteção antioxidante do orégano e do alecrim quando utilizados em filés de sardinhas pré-cozidas e constatou que a adição de

0,10% de orégano previne mais que o alecrim contra a oxidação dos lipídios durante 6 dias de armazenamento refrigerado.

Lagouri e Boskou (1996) relataram a presença de cinco compostos fenólicos com propriedades antioxidantes em extratos de orégano preparados com hexano e metanol, já Kikuzaki e Nakatani (1989) indentificaram no extrato de dicloroetano de orégano propriedades antioxidantes relacionadas com os homólogos de tocoferol.

3.4.1.5 Manjeriço

O manjeriço (*Ocimum basilicum L*) pertencente à família *Lamiaceae*, que possui cerca de 200 gêneros e aproximadamente 3.500 espécies. É uma planta herbácea, anual ou perene, que ocorre de forma subespontânea no Brasil, atinge até 1 m de altura e possui caule muito ramificado (LORENZI; MATOS, 2002). Ele constitui uma erva fortemente aromática, com sabor característico. Na Grécia Antiga era conhecido como erva dos reis. Seu sabor combina bastante com o tomate, hortaliça em que é amplamente utilizado, tanto em saladas quanto em molhos (CARNEIRO, 2005).

De acordo com o aroma os manjeriços podem ser classificados em doce, limão, cinamato ou canela, cânfora, anis e cravo. Existem diversas finalidades para seu uso, tais como, planta ornamental, medicinal e aromática, sendo o seu óleo essencial valorizado no mercado internacional pelo alto teor de linalol (fixador de perfume), possui dentre seus constituintes químicos óleos essenciais, saponinas, flavonóides, taninos, ácido caféico e cânfora. É amplamente empregado no preparo de fitoterápicos e pela indústria alimentícia (BLANK et al., 2004).

De acordo com Bonanni (2007) o manjeriço apresenta elevada capacidade antioxidante, que é associada principalmente aos compostos

fenólicos, eles agem como antioxidantes multifuncionais atuando de várias formas, combatendo os radicais livres, quelando metais de transição e interrompendo a reação de propagação dos radicais livres.

Os compostos fenólicos responsáveis pela atividade antioxidante do manjeriço estão presentes como ácidos fenólicos, a exemplo do ácido rosmarínico, derivado do ácido caféico (CARVALHO FILHO et al., 2006). Outros compostos presentes nos extratos de manjeriço, em particular o eugenol, timol e o carvacrol, são capazes de inibir a oxidação comparável aos antioxidantes conhecidos, hidroxitolueno butilado (BHT) e β -tocoferol. A ingestão desses compostos pode ajudar a prevenir danos oxidativos *in vivo*, como a peroxidação lipídica, que é associada ao câncer, envelhecimento precoce, aterosclerose e diabetes (DEL RÉ; JORGE, 2012).

3.4.1.6 Tomilho

O tomilho (*Thymus vulgaris* L.) é uma planta da família *Lamiaceae*, nativo da região do Mediterrâneo Ocidental, mas encontra-se distribuído em todo o mundo com uma longa tradição de vários usos (CHIZZOLA; MICHITSCH; FRANZ, 2008; BORGES et al., 2012).

O tomilho é amplamente utilizado para agregar aroma e sabor aos alimentos, podendo ser utilizado na forma fresca ou seca. O óleo essencial desta especiaria pode ser usado como aditivo aromatizante em alimentos, produtos farmacêuticos e cosméticos, além disso, ele possui outros efeitos benéficos, como por exemplo, as propriedades antisépticas, carminativa, antibacteriana e antioxidante (LEE et al., 2005).

O caráter químico do tomilho é representado por duas classes principais de produtos secundários, o óleo essencial volátil e os polifenóis não voláteis. De acordo com Stahl-Biskup (2004) o maior representante dos voláteis é o

composto fenólico timol (30-55%), que confere o sabor picante e cheiro forte da especiaria, esta afirmativa foi reforçada por Del Ré e Jorge (2012). Já foram detectados cerca de 25 flavonóides diferentes no tomilho, sendo a apigenina e luteolina os mais importantes. A respeito da atividade antioxidante, a luteolina-7-o-metil, a luteolina- o-glucósido e o eriodictiol rutinosídeo, são os flavonoides que apresentam maior potencial (STAHL-BISKUP, 2004).

Os extratos de tomilho também apresentam elevada atividade antioxidante, a fração não-polar (hexano), por exemplo, apresentou forte atividade antioxidante, e o óleo essencial dessa especiaria (abundante em timol e carvacrol) demonstrou inibição moderada de oxidação de LDL (20-27%), sendo que o timol, componente majoritário do óleo essencial de tomilho, é o mais eficaz na prevenção de oxidação de compostos oxidantes, em detrimento ao carvacrol (LEE et al., 2005).

3.4.1.7 Pimenta preta (pimenta do reino)

A pimenta preta, cientificamente denominada *Piper nigrum* L., pertence à família *Piperaceae* e é conhecida popularmente como pimenta do reino. No Brasil ela é cultivada em mais de 100 municípios nos Estados do Pará, Espírito Santo, Bahia, Maranhão, Ceará, Paraíba e Amapá, entre outras regiões do país, que anualmente produzem juntas mais de 30.000 toneladas de grãos de pimenta (CARNEVALLI; ARAUJO, 2013).

As pimentas sempre foram usadas pelos índios e civilizações antigas para tornar os alimentos mais agradáveis ao paladar e para conservação. Os compostos químicos que conferem o sabor pungente ou picante são os capsaicinóides, classificados como compostos fenólicos (COSTA et al., 2009).

A avaliação da composição química dessa especiaria demonstra se tratar de uma planta rica em fibras, antioxidantes a exemplo da vitamina A, C,

tocoferol, compostos fenólicos (capsaicinoides) e ainda minerais como cálcio e ferro (COSTA et al., 2009, PINTO; PINTO; DONZELES, 2013, CARNEVALLI; ARAUJO, 2013). O conteúdo de vitamina C em pimentas brasileiras varia de 52 a 104 mg/100g no fruto (PINTO; PINTO; DONZELES, 2013). Nutricionalmente, cada 100 g de pimenta preta possui, aproximadamente, 38 calorias, 5g de glicídios, 10g de proteínas e 0,3g de lipídios (CARNEVALLI; ARAUJO, 2013).

3.4.1.8 Cúrcuma

A cúrcuma (*Curcuma tonga* L.) é um tempero indiano derivado de rizomas, pertence à família *Zingiberaceae* e é amplamente cultivada na Ásia. Este rizoma é bastante utilizado na culinária para a transmissão de cor e sabor aos alimentos, mas também é utilizado para fins medicinais como antiinflamatório (JURENKA, 2009; RAMSEWAK; DEWITT; NAIR, 2000).

O principal componente ativo da cúrcuma é a curcumina, responsável por sua cor amarela e atividade antioxidante. Ela é composta por um grupo de três curcuminóides, a curcumina (diferuloylmethane), a desmetoxicurcumina e a bisdesmetoxicurcumina, bem como por óleos voláteis (tumerone, atlantone e zingiberone), açúcares e proteínas. A curcumina é um polifenol lipofílico que é quase insolúvel em água (JURENKA, 2009).

No trabalho de Kumar et al. (2006) foi observado que a maior parte dos compostos fenólicos da cúrcuma (28,3 mg AGE/g de peso seco) se encontravam na forma livre. Este fato foi justificado pelo fato da curcumina, principal composto fenólico da cúrcuma, estar presente exclusivamente na forma livre nesta especiaria. Os principais compostos fenólicos ligados encontrados foram ácido cumárico (1,31 mg/g) e ácido ferúlico (0,29mg/g), que também contribuem para a atividade antioxidante desta especiaria. Neste mesmo estudo

foi observado que frações fenólicas da cúrcuma apresentam atividade semelhante aos antioxidantes artificiais butil hidroxianisol (BHA) e hidroxitolueno butilado (BHT).

3.4.1.9 Manjerona

A manjerona (*Origanum majorana* L.) pertence a família *Lamiaceae* e é uma planta perene com ramos frágeis e quadrangulares, formando uma touceira. Ela é um dos temperos mais utilizados na culinária. O seu óleo essencial vem despertando interesse por possuir atividade biológica antibacteriana, antifúngica e antioxidante. A atividade antioxidante de algumas plantas aromáticas da família das *Lamiaceae* é muito estudada pelo fato dessas exibirem elevada atividade em baixas concentrações. No óleo essencial de manjerona são encontrados substâncias antioxidantes a exemplo dos compostos fenólicos e flavonóides, timol, ácido oleanólico e rosmarínico, e taninos, sendo que o principal ácido fenólico antioxidante é o ácido rosmarínico e o principal flavonoide é a rutina (HOSSAIN et al., 2008).

O ácido rosmarínico apresenta elevado potencial antioxidante devido à presença de quatro grupos hidroxila em sua molécula. Além de ácido rosmarínico, outros ácidos fenólicos (caféico, clorogênico e ferúlico) presentes na manjerona também participam na neutralização de radicais livres (BAATOURET et al., 2012).

Os autores Kim et al. (2002) realizaram um estudo com 13 especiarias e observaram que os extratos que apresentaram maior capacidade de eliminação de radical livre foram a de manjerona, alecrim e orégano, respectivamente. O teor de compostos fenólicos encontrados no extrato de manjerona foi igual a 20,44 mg AGE/100⁻¹.

3.4.1.10 Limão

O limão pertence à família *Rutacea*, gênero *Cítrus*, sua espécie é classificada como *Citrus limon* (L.) e possui diversas variedades. As espécies cítricas, a exemplo do limão, laranja, tangerina, são os mais importantes frutos de colheita de árvore no mundo, com produção anual de aproximadamente 102 milhões de toneladas. A fruta limão é usada em várias preparações alimentícias, como refrigerantes, bebidas alcoólicas, compotas e molhos de saladas (MIYAKE; YAMAMOTO; OSAWA, 1997).

O limão tem sido valorizado como uma parte fundamental para uma dieta saudável por ser fonte de compostos como ácido ascórbico (vitamina C), folato, fibra dietética e outros componentes bioativos, tais como os carotenoides e compostos fenólicos (principalmente flavonoides), que são essenciais para o crescimento e funcionamento do organismo e ainda atuam na prevenção de cânceres, aterosclerose, doenças crônicas como um todo. Estudos epidemiológicos têm mostrado uma relação inversa entre o consumo de flavonoides na dieta e doenças cardiovasculares (TRIPOLI et al., 2007). Além disto o limão contém traços de cobre, ferro, manganês, selênio, sódio e zinco (MIYAKE; YAMAMOTO; OSAWA, 1997).

Os efeitos e propriedades de promoção da saúde do limão têm sido associados principalmente com o conteúdo de vitamina C e flavonoides, devido à característica antioxidante destes (TRIPOLI et al., 2007). Ele fornece concentrações de vitamina C que variam entre 23-83 mg/100g do peso fresco. Mais de sessenta flavonoides individuais foram identificados em espécies de citrus e a maioria deles pode ser classificados em três grupos: flavanonas, flavonas e flavonóis, além de outra classe dos compostos fenólicos, os ácidos fenólicos (LIU; HEYING; TANUMIHARDJO, 2012).

Dentre os flavonoides, a classe mais comumente encontrada nas frutas cítricas são as flavanonas, em particular, a naringina e a naringenina, que conferem sabor amargo (LIU; HEYING; TANUMIHARDJO, 2012). As flavonas estão presentes no limão tanto na forma aglicona como na forma glicosilada. Entre as formas aglicona têm-se como as principais a naringenina e hesperetina, entre as formas glicosiladas têm-se o neohesperidoside e rutinosídeo. As flavanonas estão geralmente presentes na forma diglicosídica, conferindo o cítrico característico (TRIPOLI et al., 2007). Outro flavonoide glicosídeo identificado em limão foi eriocitrin (eriodictiol 7-rutinosídeo) (MIYAKE; YAMAMOTO; OSAWA, 1997).

3.5 Mecanismos de ação de compostos antioxidantes

3.5.1 Vitamina C

A vitamina C (ácido ascórbico) tem numerosas funções biológicas, as quais incluem a síntese de colágeno, hormônios e neurotransmissores, mas acredita-se que o papel desta vitamina na prevenção de doenças está relacionado principalmente com a sua atividade antioxidante (LEONG; SHUI, 2002). Ele atua como captor eficiente de espécies reativas de oxigênio, esta função é baseada na sua capacidade de doar hidrogênio, o que permite a inativação dos radicais livres, prevenindo a oxidação de proteínas, lipídios e dos danos ao DNA (MIYAKE; YAMAMOTO; OSAWA, 1997). É considerada um antioxidante "primário" ou "preventivo", uma vez que reage com o oxigênio antes do início do processo oxidativo, além disso, participa do sistema de regeneração da vitamina E sendo, portanto, de fundamental importância para manter o potencial antioxidante do plasma (CATANIA; BARROS; FERREIRA, 2009).

Sendo assim, a vitamina C pode prevenir diversos tipos de cânceres ao retardar ou prevenir danos oxidativos ao DNA. Outras doenças crônicas não transmissíveis, tais como, aterosclerose, hipertensão, também podem ser desencadeadas pela oxidação proteica ou lipídica, sendo assim, a vitamina C também contribui para redução do risco de desenvolvimento dessas doenças (LEONG; SHUI, 2001).

3.5.2 Vitamina E

A vitamina E (tocoferol) é uma vitamina lipossolúvel, monofenólico com característica antioxidante que ocorre abundantemente na natureza. Os tocoferóis são classificados em oito diferentes compostos, pertencendo a duas famílias distintas: os tocóis e os tocotrienóis, tendo os tocotrienóis como prefixos as letras gregas α , β , γ ou δ , a depender do número e posição de grupos metil ligados ao anel. Nos tocóis, a cadeia lateral é saturada, enquanto que nos tocotrienóis ela é insaturada (MELO; GUERRA, 2002; SHAHIDI; NACZK, 2004).

A atividade antioxidante dos tocoferóis ocorre pela capacidade desses de doar seus hidrogênios fenólicos aos radicais livres lipídicos, interrompendo a propagação em cadeia. Dos tocoferóis o mais ativo é o α -tocoferol, ele atua no bloqueio da reação em cadeia da peroxidação lipídica através do sequestro do radical peroxila (JOHNSON, 2001). Estudos relatam que as vitaminas E, assim como o β -caroteno, podem inibir a oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (LDL-c) para a sua forma mais aterogênica, sendo importante no tratamento da aterosclerose (CARNEVALLIA; ARAUJO, 2013).

Estudos epidemiológicos observacionais relataram associação inversa entre a ingestão de vitamina E e o risco cardiovascular. É importante destacar que, ao proteger os lipídeos da oxidação, a vitamina E se converte em um radical

tocoférol, precisando ser regenerada para recuperar seu potencial antioxidante, e do sistema de regeneração da vitamina E participam o ácido ascórbico, a enzima glutatona reduzida e a coenzima Q10 (CATANIA; BARROS; FERREIRA, 2009).

3.5.3 Carotenoides

Os carotenoides são pigmentos naturais responsáveis pelas cores amarela, laranja e vermelha em muitos alimentos (FAULKS; SOUTHON, 2005). São também compostos bioativos e alguns deles apresentam atividade pro vitamínica A. Do ponto de vista químico eles são compostos polisoprenóides classificados em carotenos ou xantofilas. Os carotenos são hidrocarbonetos poliênicos com variados graus de insaturação, e as xantofilas são sintetizadas a partir dos carotenos por meio de reações de hidroxilação e epoxidação. O β -caroteno e o licopeno são exemplos de carotenos e a luteína e a zeaxantina são xantofilas (SILVA et al., 2010; LIMA et al., 2012). Cerca de cinquenta a sessenta tipos destes compostos estão presentes na dieta humana (BATISTA et al., 2006).

Entre as diversas funções desempenhadas pelos carotenoides a atividade pro vitamínica A é uma das mais importantes (BATISTA et al, 2006), eles apresentam função regulatória e alta capacidade antioxidante. Dado a essa função eles têm sido associados à prevenção de neoplasias, ao aumento da atividade do sistema imunológico, além de estarem relacionados à prevenção da maioria das doenças crônicas não transmissíveis (LIMA et al., 2012).

Os carotenoides encontrados em alimentos são geralmente *all trans* lineares, podendo ser totalmente lineares (licopeno) ou apresentar fechamento em uma ou ambas as extremidades (β -caroteno). Em todos os casos as moléculas são predominantemente hidrofóbicas e são geralmente encontradas

em domínios lipídicos de tecidos de plantas e animais (FAULKES; SOUTHON, 2005). Os mais comumente encontrados nos alimentos vegetais são a luteína (vegetais verdes, espinafre, brócolis, ervilhas, couve de bruxelas), α -caroteno (cenouras e abóboras), β -caroteno (frutas, cenoura, pimenta vermelha, laranjas, batata, brócolis e vegetais verdes), β -criptoxantina (pimentões vermelhos maduros e mamão), licopeno (tomate e seus derivados, melancia) e zeaxantina (gema de ovo e milho) (LIMA et al., 2012).

3.5.4 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos estão presentes numa grande variedade de frutas e hortaliças, e mais de 8.000 compostos fenólicos já foram identificados. Eles podem ser pigmentos, que dão coloração aos alimentos, ou produtos do metabolismo secundário de plantas, normalmente derivado de reações de defesa contra agressões do ambiente (SILVA et al., 2010). Os fenólicos são quase onipresentes em alimentos vegetais (hortaliças, frutas, cereais, leguminosas) e bebidas (vinho, sidra, cerveja, chá, cacau), porém, a formação dos glicosídeos de flavona e flavonol depende da incidência da luz, portanto, as maiores concentrações desses compostos são encontradas geralmente em folhas e em partes externas da planta, com quantidades traços em partes internas da planta (HEERMANN, 1976).

Os compostos fenólicos exibem grande quantidade de propriedades fisiológicas, tais como antialérgica, antiarteriogênica, antiinflamatória, antimicrobiana, antitrombótica, cardioprotetora e vasodilatadora, mas o principal efeito dos compostos fenólicos tem sido atribuído à ação antioxidante em alimentos (DEL RÉ; JORGE, 2012). A atividade antioxidante destes compostos está relacionada com a habilidade desses em doar hidrogênio ou elétrons, bloqueando os radicais livres na reação em cadeia, ou eliminando o radical

hidroxila, o superóxido e o oxigênio singleto (DONNELLY; ROBSON, 1995), eles impedem à oxidação de vários constituintes dos alimentos, particularmente os lipídios e proteínas, podendo ainda quelar metais (MOREIRA; MANCINI-FILHO, 2004).

Os compostos fenólicos podem abranger desde moléculas simples como os ácidos fenólicos, até moléculas altamente complexas e polimerizadas como os taninos. Eles ocorrem primariamente sob a forma conjugada, com um ou mais açúcares centrais ligados a grupos hidroxila, ou em alguns casos, diretamente ao carbono aromático. Os fenólicos também podem existir de forma associada a compostos como o ácido carboxílico, ácidos orgânicos, aminas, lipídios e inclusive com outros fenólicos. A glicose é o açúcar mais comumente encontrado ligado aos fenólicos, apesar da galactose, raminose, xilose e a arabinose também estarem presentes em algumas moléculas (BRAVO, 1998). Esta classe de compostos divide-se em flavonoides (polifenóis) e não-flavonóides (fenóis simples ou ácidos) (SILVA et al., 2010), gerados através de duas vias principais: via ácido chiquímico e via ácido malônico (HAGERMAN; ZHAO; JOHNSON, 1997).

Os flavonóides também se encontram amplamente distribuídos nas frutas e hortaliças, apresentando-se sob muitas variações: como flavonóis, flavonas, flavanonas, catequinas, antocianinas, isoflavonas e chalconas. Suas principais fontes alimentares são: café, cebola, maçã, uva, cerveja, vinho tinto e chá, que contém sobretudo catequinas em sua composição (SILVA et al., 2010). Os flavonoides estão entre os mais potentes antioxidantes de plantas porque eles tomam posse de um ou mais elementos estruturais envolvidos na atividade anti-radical (HAGERMAN; ZHAO; JOHNSON, 1997).

Na classe dos não-flavonóides estão os derivados dos ácidos hidroxicinâmico e hidroxibenzóico. Sua atividade antioxidante está relacionada com a posição dos grupos hidroxilas e também com a proximidade do grupo –

CO₂H em relação ao grupo fenil. Quanto mais próximo esse grupo estiver do grupo fenil, maior será a capacidade antioxidante do grupo hidroxila na posição meta (SILVA et al, 2010).

3.5.5 Zinco e magnésio

O zinco (Zn) e o magnésio (Mg) são minerais que participam de diversas reações do metabolismo celular por serem componentes estruturais e/ou funcionais de várias metaloenzimas e metaloproteínas, incluindo processos fisiológicos, tais como função imune, crescimento, desenvolvimento e defesa antioxidante (MAFRA; COZZOLINO, 2004; HALLIWELL, 2006).

O zinco é essencial para a integridade e funcionalidade das membranas celulares. A sua concentração na membrana das células pode ser bastante elevada, sendo dependente e do estado nutricional de zinco do organismo. Este mineral é componente estrutural e catalítico da enzima superóxido dismutase (SOD) presente no citoplasma de todas as células, que possui como centro ativo um íon cobre e um íon zinco. Esse mineral também compõe a enzima superóxido dismutase extracelular (EC-SOD), presente no plasma, na linfa e no fluido sinovial. A ação da SOD é catalisar a conversão de dois radicais íon superóxido a peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular, ou seja, ela é uma das enzimas do sistema antioxidante endógeno, sendo a atividade desta enzima reduzida pela deficiência deste mineral (CRUZ; SOARES, 2011).

O zinco também age inibindo a nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase (NADPH-oxidase), enzima envolvida na produção de Espécies Reativas ao Oxigênio (EROs) (CATANIA; BARROS; FERREIRA, 2009).

O papel fisiológico do zinco como antioxidante é evidenciado por 2 mecanismos principais: proteção de grupos sulfidrilas contra oxidação, como

ocorre com a enzima α -ácido aminolevulínico desidratase e na inibição da produção de espécies reativas de oxigênio por metais de transição como ferro e cobre (MAFRA; COZZOLINO, 2004).

Alguns estudos avaliaram o efeito da suplementação de zinco em marcadores de estresse oxidativo e de inflamação, apontando um papel favorável na defesa antioxidante. Em indivíduos saudáveis, a suplementação de zinco foi capaz de reduzir marcadores de estresse oxidativo plasmáticos, como o malondialdeído e o 8-hydroxideoxi-guanina, e de inibir a indução do RNAm do TNF- α e da IL-1 β em células mononucleares. A suplementação com 30 mg de zinco por seis meses em 56 adultos portadores de diabetes melítus tipo 2 foi capaz de aumentar a concentração plasmática de zinco e de reduzir marcadores de estresse oxidativo, enquanto no grupo placebo não houve mudanças. (CATANIA; BARROS; FERREIRA, 2009).

Em relação ao magnésio, este é um mineral importante para várias reações celulares, participando de quase todas as ações anabólicas e catabólicas. Cerca de 300 sistemas enzimáticos são dependentes da presença de magnésio. Algumas destas atividades incluem a glicólise, o metabolismo proteico e lipídico (LUKASKI, 2004). A deficiência dietética de magnésio é positivamente correlacionada ao aumento da peroxidação lipídica e à diminuição da atividade antioxidante. Essa deficiência altera a fluidez das membranas celulares e mitocondriais e promove perturbações na homeostase do cálcio e na atividade das defesas antioxidantes (NIELSEN; LUKASKI, 2006).

Esse efeito foi comprovado em estudos onde se observou que a deficiência do magnésio foi acompanhada por diminuição nas defesas antioxidantes, no caso superóxido dismutase, glutatona reduzida e vitamina E hepáticas. Além disso, microsomas hepáticos de animais deficientes em magnésio mostraram-se mais suscetíveis à peroxidação lipídica, foi observado também dano oxidativo no coração de hamsters (CALVIELLO et al., 1994).

3.6 Métodos *in vitro* para avaliação da atividade antioxidante total de alimentos

Os compostos antioxidantes podem ser mensurados utilizando inúmeras técnicas de análises *in vitro*. Cada análise é baseada em uma característica da atividade antioxidante, tal como a capacidade de sequestrar radicais livres ou inibir a peroxidação dos lípidos. No entanto, a atividade antioxidante total de vegetais não pode ser avaliada por qualquer método simples, devido à natureza complexa de fitoquímicos, dois ou mais métodos devem sempre ser empregados a fim de avaliar os efeitos totais do compostos antioxidantes (NUUTILA et al., 2003).

Diversos fatores podem influenciar na mensuração da atividade antioxidante dos alimentos. O substrato utilizado no ensaio, o solvente, a técnica de extração utilizada, dentre outros (NACZK; SHAHIDI, 2004).

Na literatura existem inúmeros métodos para a determinação da atividade antioxidante de diversos compostos, seja *in vitro* ou *in vivo*. Contudo, os ensaios realizados *in vitro* remetem a uma ideia aproximada do que ocorre em situações complexas *in vivo*, devendo considerar-se também que a capacidade antioxidante de um sistema depende do microambiente em que se encontra um composto, havendo interações entre os compostos, o que pode produzir efeitos sinérgicos ou inibitórios (HUANG; OU; PRIOR, 2005; KUSKOSKI et al., 2005).

Os métodos espectrofotométricos são aplicados para estudar a capacidade antioxidante tanto de alimentos como de compostos químicos, usando radicais estáveis e agentes sequestrantes. Uma das maneiras mais utilizadas para mensurar *in vitro* a capacidade antioxidante de compostos consiste em determinar a atividade antioxidante frente à formação de substâncias cromógenas de natureza radicalar, uma vez que a perda da cor ocorre de forma

proporcional à concentração, ou seja, há redução de absorvância espectrofotométrica dos radicais (substância cromógenas) pelos antioxidantes (HUANG; OU; PRIOR, 2005; KUSKOSKI et al., 2005; YU et al., 2002).

Algumas das substâncias cromógenas utilizadas são: ácido 2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiazolin-6sulfônico (ABTS), 1,1-difenil-2-picrilhidrazila (DPPH), dicloridrato de N,N-dimetil-p-fenilendiamina (DMPD), 5,5-dimetil-1-pirroline-n-óxido (DMPO) e poder antioxidante de redução férrica (FRAP) (HUANG; OU; PRIOR, 2005; KUSKOSKI et al., 2005).

Outro método utilizado para estimar a atividade antioxidante total é o sistema β -caroteno/ácido linoleico, que emprega o lipídio como substrato. Ele consiste da descoloração (oxidação) do β -caroteno induzida pelos produtos da degradação oxidativa do ácido linoleico, estimando a habilidade relativa de compostos antioxidantes presentes em extratos de plantas de sequestrar o radical peróxido do ácido linoleico ($\text{LOO}\cdot$), que oxida o β -caroteno presente na emulsão. Como resultado da oxidação desta molécula, o sistema perde sua coloração alaranjada característica que é monitorada espectrofotometricamente a 470 nm, de modo a quantificar o grau de inibição de radicais livres pelo antioxidante a ser testado (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

Pode-se ainda mensurar a capacidade antioxidante de alimentos em equivalente de trolox – 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (TEAC) e em equivalente de vitamina C (VCEAC). O TEAC utiliza o trolox como referência, um sintético da vitamina E, para avaliar a atividade sequestrante, um composto que não é encontrado naturalmente nos alimentos. Já no VCEAC é utilizado como referência um nutriente de ocorrência natural nos alimentos que exerce excelente atividade antioxidante, o ácido ascórbico (KIM et al., 2002).

Os mais utilizados são ABTS (radical azul-verde) e DPPH (radical violeta) por apresentarem excelente estabilidade, terem alto nível de

sensibilidade, serem fáceis de utilizar e permitirem a análise de um grande número de amostra ao mesmo tempo (KIM et al., 2002; KUSKOSKI et al., 2005). Entretanto, existem algumas distinções entre os compostos, o DPPH é um radical livre que pode ser obtido diretamente, sem a necessidade de uma preparação prévia, enquanto que o ABTS tem que ser gerado por meio de uma reação que pode ser química, enzimática ou eletroquímica. O ABTS pode medir a atividade de compostos que apresentem natureza tanto hidrofílica quanto lipofílica, enquanto que o DPPH só pode ser dissolvido em hidrofílico. O radical ABTS apresenta um largo espectro de absorbância em meio alcoólico: 414, 654, 754 e 815 nm, enquanto o DPPH apresenta pico de absorbância em torno de 515 nm (KUSKOSKI et al., 2005).

O método que faz uso do radical DPPH para avaliar a capacidade antioxidante dos compostos justifica-se pela rapidez, facilidade, aplicabilidade, sensibilidade e estabilidade apresentadas (KIM et al., 2002; HUANG; OU; PRIOR, 2005; KUSKOSKI et al., 2005).

REFERÊNCIAS

AC NIELSEN DO BRASIL LTDA. **Consultoria econômica**. [S.l: s.n.], 2011. Disponível em: <<http://acnielsen.com.br/site/index.shtml>>. Acesso em: 22 mar. 2013.

ADRIANA, A. et al. Conceituação, epidemiologia e prevenção primária. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, São Paulo, v. 32, supl. 1, n. 1-4, 2010.

AFONSO, M. S.; SANT'ANA, L. S.; MANCINI-FILHO, J. Interação entre antioxidantes naturais e espécies reativas do oxigênio nas doenças cardiovasculares: perspectivas para a contribuição do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.). **Nutrire**, São Paulo, v. 35, n. 1, p. 129-148, abr. 2010.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Teor de sódio dos alimentos processados**. Rio de Janeiro: ANVISA, 2012. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/856c37804d19e24d9d7aff4031a95fac/INFORME+T%C3%89CNICO+2012-+OUTUBRO.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 14 mar. 2014.

ALDERMAN, M. H.; COHEN, H.; MADHAVAN, S. Dietary sodium intake and mortality: the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES I). **Lancet**, London, v. 351, n. 9105, p. 781-785, Mar. 1998.

ALIGIANIS, N. et al. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of two origanum species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, n. 49, p. 4168-4170, Aug. 2001.

ALMEIDA, A. P. G. **Avaliação da influência do processo de irradiação em especiarias utilizando da técnica de difração de raios X**. 2006. 102 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. Champaign: AOCS, 1987.

ARCILA-LOZANO, C. C. et al. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 54, n. 1, p. 100-111, Mar. 2004.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. Washigton: Association of Official Analytical Chemists, 1984.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. Virginia: Association of Official Analytical Chemists, 2000.

BAATOUR, O. et al. Salt effect on phenolics and antioxidant activities of Tunisian and Canadian sweet marjoram (*Origanum majorana* L.) shoots. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 30, p. 132-138, June 2012.

BALASENTHIL, S. et al. Chemo preventive potential of neem (*Azadirachta indica*) on 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) induced hamster buccal pouch carcinogenesis. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 67, n. 2, p. 189–195, Nov. 1999.

BARATTA, M. T. et al. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. **Flavours and Fragrance Journal**, Amsterdam, v. 13, n. 4, p. 235-244, July/Aug. 1998.

BARLOW, H. B. A theory about the functional role and synaptic mechanism of visual after-effects. In: BLAKEMORE, C. B. (Ed.). **Vision: coding and efficiency**. Cambridge: Cambridge University Press, 1990. p. 362-374.

BATISTA, M. A. et al. Carotenos e provitamina A em bertalha e ervas aromáticas comercializadas em Viçosa, Estado de Minas Gerais, durante as quatro estações do ano. **Acta Scientiarum Health Science**, Maringá, v. 28, n. 1, p. 93-100, 2006.

BATISTA, S. M.; CARVALHO, T. Organização. In: BOREINSTAIN, M. S. **Manual de hipertensão**. Porto Alegre: Editora Sagra Luzzato, 1999.

BAYDAR, H.; SAGDIC, O.; OZAKAN, T. Antibacterial activity and composition of essential oils fro Orignum, Rhymbra and Satureja species with commercial importance en Turkey. **Food Control**, Guildford, v. 15, n. 3, p. 169-172, Apr. 2004.

BEDIN, C.; GUTKOSKI, S. B.; WIST, J. M. Atividade antimicrobiana das especiarias. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 65, p. 26-29, out. 1999.

BENKEBLIA, N. Free-radical scavenging capacity and antioxidant properties of some selected onions (*Allium cepa* L.) and garlic (*Allium sativum* L.) extracts. **Archives Brazilian of Biology and Technology**, Curitiba, v. 48, n. 5, p. 753-759, Sept. 2005.

BIANCHETTI, L. B. **Aspectos morfológicos, ecológicos e biogeográficos de dez táxons de *Capsicum* (Solanaceae) ocorrentes no Brasil**. 1996. 331 p. Tese (Doutorado) - Universidade de Brasília, Brasília, 1996.

BLANK, A. F. et al. Caracterização morfológica e agronômica de acessos de manjeriço e alfavaca. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 113-116, jan./mar. 2004.

BONANI, L. Botulinum toxin treatment of lateral axial dystonia in parkinsonism. **Movement Disorders**, New York, v. 22, n. 14, p. 2097-2103, Oct. 2007.

BOREX, C. Antioxidant health effects of aged garlic extract: recent advances on the nutritional effects associated with the use of garlic as supplement. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 131, n. 3, p. 1010-1015, 2001.

BORGES, A. M. et al. Determinação de óleos essenciais de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.) e tomilho (*Thymus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 14, n. 4, p. 656-665, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Plano de reorganização da atenção à hipertensão arterial e ao diabetes mellitus**. Brasília: Departamento de ações programáticas estratégicas, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Termo de compromisso entre o Ministério da Saúde, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária e as associações brasileiras das indústrias de alimentação, das indústrias de massas alimentícias, da indústria de trigo e da indústria de panificação e confeitaria, de 13 de Dezembro de 2011**. Brasília: ANVISA, 2011. Disponível em: <http://189.28.128.100/nutricao/docs/geral/termo_de_compromisso_plano_monitoramento.pdf>. Acesso em: 13 jan. 2014.

BRASIL. RDC n°. 48 de 25 de outubro de 2013. Aprova o regulamento técnico de boas práticas de fabricação para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, 28 out. 2013. Seção 1, n. 209, p. 63.

BRASIL. RDC n°. 276, de 22 de setembro de 2005. Aprova o “regulamento” técnico para especiarias, temperos e molhos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 22 set. 2005.

BRASIL. Resolução RDC n° 359, de 23 de dezembro de 2003. Aprova regulamento técnico de porções de alimentos embalados para fins de rotulagem nutricional. **Diário Oficial da União**, Brasília, 26 dez. 2003. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/d12c9e804745947f9bf0df3fbc4c6735/RDC_359.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 14 mar. 2013.

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

CALVIELLO, G. et al. Mg deficiency induces mineral content changes and oxidative stress in rats. **Biochemistry and Molecular Biology International**, Sydney, v. 32, n. 5, p 903-911, Apr. 1994.

CAMPESE, V. M. et al. Abnormal relationship between sodium intake and sympathetic nervous system activity in salt-sensitive patients with essential hypertension. **Kidney International**, New York, v. 21, n. 2, p. 371-378, Feb. 1982.

CARNEIRO, H. Comida e sociedade: significados sociais na história da alimentação. **História Questões e Debates**, Curitiba, v. 42, n. 1, p. 71-80, 2005.

CARNEVALLIA, D. B.; ARAÚJO, A. S. P. S. Atividade biológica da pimenta preta (*Piper nigrum* L.): revisão de literatura. **Uniciências**, Cuiabá, v. 17, n. 1, p. 41-46, dez. 2013.

CARVALHO FILHO, J. L. S. et al. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 16, n. 1, p. 24-30, Jan./Mar. 2006.

CATANIA, A. S.; BARROS, C. R.; FERREIRA, S. R. G. Vitaminas e minerais com propriedades antioxidantes e risco cardiometabólico: controvérsias e perspectivas. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v. 53, n. 5, p. 550-559, jul. 2009.

CAVALCANTE, M. L. **Composição de carotenóides e valor de vitamina A em pitanga (*Eugenia uniflora*) e acerola (*Malpighia glabra* L.)**. 1991. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1991.

CHIZZOLA, R.; MICHITSCH, H.; FRANZ, C. Antioxidative properties of thymus vulgaris leaves: comparison of different extracts and essential oil chemotypes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 56, n. 16, p. 6897-6904, Aug. 2008.

CORAZZA, S. **Agrotecnologia**: uma ciência de muitos cheiros. São Paulo. Senac, 2002.

COSTA, L. M. et al. Atividade antioxidante de pimentas do gênero *Capsicum*. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 30, supl. 1, p. 51-59, dez. 2009.

CRUZ, J. B. F.; SOARES, H. F. Uma revisão sobre zinco. **Ensaio e ciência**: ciências biológicas, agrárias e da saúde, Campo Grande, v. 15, n. 1, p. 207-2011, 2011.

DALLEPIANE, L. B.; BÓS, J. A. G. O uso de condimentos na dieta de um grupo de hipertensos: estudo de intervenção randomizado. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, São Paulo, v. 22, n. 4, p. 286-291, out. 2007.

DEANS, S. G.; RITCHIE, G. Antibacterial properties of plant essential oils. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 5, n. 2, p. 165-171, Nov. 1987.

DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 14, n. 2, p. 389-399, 2012.

DINI, I.; TENORE, G. C.; DINI, A. Chemical composition, nutritional value and antioxidant properties of *Allium caepa* L. Var. *tropeana* (red onion) seeds. **Food Chemistry**, London, v. 107, n. 2, p. 613-621, Mar. 2008.

DONNELLY, J. K.; ROBSON, D. S. Free radical in foods. **Free Radical Research**, London, v. 22, n. 2, p. 147-76, Feb. 1995.

DORMAN H. J. D.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 88, n. 2, p. 308-316, Feb. 2000.

DOYLE, M. E.; GLASS, K. A. Sodium reduction and its effect on food safety, food quality, and human health. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Washington, v. 9, n. 1, p. 44–56, Jan. 2010.

EGEN-SCHWIND, C.; ECKARD, R.; KEMPER, F. H. Metabolism of garlic constituents in the isolated perfusing rat liver. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 58, n. 4, p. 301-305, Aug. 1992.

ELLIOT, P. et al. Intersalt cooperative research group: intersalt revisited: further analyses of 24 hour sodium excretion and blood pressure within and across populations. **The Journal of the British Thoracic Society**, London, v. 312, n. 7041, p. 1249-1253, May 1996.

EMPRESA BRASILEIRA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL. **Manual técnico de Olericultura**. Rio de Janeiro: Brasília, 1980.

FAULKES, R. M.; SOUTHON, S. Challenges to understanding and measuring carotenoid bioavailability. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1740, n. 2, p. 95-100, May 2005.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: Editora da UFV, 2000.

FILHO, J. L. S. C. et al. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum L.*) essential oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 16, n. 1, p. 24-30, 2006.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. Importância e riscos das especiarias. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 12, n. 57, p. 23-31, 1998.

GUIA ALIMENTAR PARA A POPULAÇÃO BRASILEIRA. **Promovendo a alimentação saudável**. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. Disponível em: <http://dtr2001.saude.gov.br/ editora/ produtos/ livros/ pdf/ 05_ 1109_ M. pdf>. Acesso em: 22 ago. 2013.

HAGERMAN, A. E.; ZHAO, Y.; JOHNSON, S. Methods for determination of condensed and hydrolyzable tannins. In: SHAHIDI, F. **Antinutrients and phytochemicals in food**: volume 622. Oxford: American Chemical Society, 1997. p. 209-222.

HALLIWELL, B. Reactive species and antioxidants: redox biology is a fundamental theme of aerobic life. **Plant Physiology**, Washington, v. 141, n. 2, p. 312-22, June 2006.

HARRISON, L. J.; CUNNINGHAM, F. E. Factors influencing the quality of mayonnaise: a review. **Journal of Food Quality**, Wesport, v. 8, n. 1, p. 1-20, Sept. 1985.

HEERMANN, K. Flavonols and flavones in food plants: a review. **International Journal of Food and Technology**, Oxford, v. 11, n. 5, p. 433-448, Oct. 1976.

HOLLMAN, P. C. H.; ARTS, I. C. W. Flavonols, flavones and flavonols: nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 80, n. 7, p. 1081-1093, May 2000.

HOSSAIN, M. et al. Antioxidant activity of spice extracts and phenolics in comparison to synthetic antioxidants. **Rasayan Journal of Chemistry**, Oxford, v. 1, n. 4, p. 751-756, 2008.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, n. 6, p. 1841-1856, Mar. 2005.

INSTITUTE OF MEDICINE, FOOD AND NUTRITION BOARD. **Dietary reference intakes for water, potassium, sodium, chloride and sulfate**. Washington: National Academic Press, 2004.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa de orçamentos familiares 2008–2009**: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. Brasília: IBGE, 2011. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_analise_consumo/default.shtm>. Acesso em: 11 fev. 2014.

ISHIMOTO, E. Y. **Efeito hipolipemiante e antioxidante de subprodutos da uva em hamsters**. 2008. 195 p. Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

JOHNSON, I. T. Antioxidants and antitumoral properties. In: POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M. **Antioxidants in food**: practical application. Boca Ration: CRC Press, 2001. Cap. 6, p. 100-123.

JURENKA, J. S. Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *curcuma longa*: a review of preclinical and clinical research alternative medicine review. **Alternative Medicine Review**, Sandpoint, v. 14, n. 2, p. 141-153, June 2009.

KANEKO, T.; BABA, N. Protective effect of flavonoids on endothelial cells against linoleic acid hydroperoxide-induced toxicity. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v. 63, n. 2, p. 323–328, Feb. 1999.

KAUR, D. et al. Effect of extraction conditions on lycopene extractions from tomato processing waste skin using response surface methodology. **Food Chemistry**, London, v. 108, n. 52, p. 711–718, May 2008.

KAWASAKI, T. et al. The effect of highsodium and low-sodium intakes on blood pressure and other related variables in human subjects with idiopathic hypertension. **The American Journal of Medicine**, New York, v. 64, n. 2, p. 193-8, Feb. 1978.

KIKUZAKI, H.; NAKATANI, N. Structure of a new antioxidative phenolic acid from origano (*Origanum vulgare* L.). **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, n. 53, p. 519- 524, 1989.

KIM, D. O. et al. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, n. 13, p. 3713-3717, June 2002.

KIM, I. S. et al. Antioxidant activities of hot water extracts from various spices. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 12, n. 6, p. 4120-4131, 2011.

KIM, S. M.; KUBOTA, K.; KOBAYASHI, A. Antioxidative activity of sulfur-containing flavor compounds in garlic. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, Tokyo, v. 61, n. 9, p. 1482-1485, 1997.

KMIECIK, W.; LISIEWSKA, Z. Effect of pretreatment and conditions and period of storage on some quality indices of frozen chive (*Allium schoenoprasum* L.). **Food Chemistry**, London, v. 67, n. 1, p. 61-66, Oct. 1999.

KUMAR, G. S. et al. Free and bound phenolic antioxidants in amla (*Emblica officinalis*) and turmeric (*Curcuma longa*). **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 19, n. 5, p. 446-452, 2006.

KURTZ, T. W.; AL-BANDER, H. A.; JÚNIOR MORRIS, R. C. "Salt-sensitive" essential hypertension in men: is the sodium ion alone important? **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 317, n. 17, p. 1043-1048, Oct. 1987.

KUSKOSKI, E. M. et al. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 726-732, out./dez. 2005.

LAGOURI, V.; BOSKOU, D. Nutrient antioxidants in oregano. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, London, v. 47, n. 6, p. 493-497, Nov. 1996.

LAURENTI, R.; BUCHALLA, C. M.; CARATIN, C. V. S. Doença isquêmica do coração. Interações, tempo de permanência e gastos, Brasil, 1993 a 1997. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 74, n. 6, p. 483-487, jun. 2000.

LEE, E. J.; AHN, D. U. Production of volatiles from fatty acids and oils by irradiation. **Journal of Food Science**, Washington, v. 1, n. 68, p. 70-75, 2003.

LEE, S. J. et al. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, London, v. 91, n. 1, p. 131-137, June 2005.

LEE, S. K.; KLOSTERMEYER, H. The effect of pH on the rheological properties of reduced-fat model processed cheese spreads. **Lebensmittel Wissenschaft und Technology**, London, v. 34, p. 288-292, 2001.

LEERAINGRAYUB, N. et al. Quantitative evaluation of the antioxidant properties of garlic and shallot preparations. **Nutrition**, Burbank, v. 22, n. 3, p. 266-274, Mar. 2006.

LENNOX, D. **Now you know big book of answers**. Toronto: Dundurn Press, 2007.

LEONG, L. P., SHUI, G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. **Food Chemistry**, London, v. 76, n. 1, p. 69-75, Jan. 2002.

LIEM, D. G. et al. Reducing sodium in foods: the effect on flavor. **Nutrients**, London, v. 3, n. 6, p. 694-711, 2011.

LIMA, A. **Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo*, e identificação dos compostos fenólicos presentes no Pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.)**. 2008. 229 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

LIMA, J. P. L. et al. Atividade e biodisponibilidade dos carotenoides no organismo. **Revista Ciências em Saúde**, Campinas, v. 2, n. 1, p. 1-9, jan. 2012.

LIU, Y.; HEYING, E.; TANUMIHARDJO, S. A. History, global distribution, and nutritional importance of citrus fruits. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Washington, v. 11, n. 6, p. 530-545, 2012.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil**: nativas e exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

LUKASKI, H. C. Vitamin and mineral status: effects on physical performance. **Nutrition**, Burbank, v. 20, n. 7, p. 632-644, 2004.

LUTZ, I. A. **Métodos químicos e físicos para análises de alimentos**. 4. ed. São Paulo: IAL, 2008.

MAFRA, D.; COZZOLINO, S. M. F. Importância do zinco na nutrição humana. **Revista Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 79-87, 2004.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S.; RAYMOND, J. L. **Krause**: alimentos, nutrição e dietoterapia. 13. ed. São Paulo: Roca, 2013.

MAKISHIMA, N. **O cultivo de hortaliças**. Brasília: EMBRAPA, 1993.

MARTELLI, A. Redução das concentrações de cloreto de sódio na alimentação visando a homeostase da pressão arterial. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, Santa Maria, v. 18, n. 1, p. 428-436, 2014.

MARTINS, J. N. et al. Avaliação da capacidade antifúngica do extrato oleoso de alho roxo (*Allium sativum L.*). **Revista Verde**, Mossoró, v. 5, n. 4, p. 211-216, out./dez. 2010.

MCARDLE, W.; KATHC, F. I.; KATCH, V. L. **Fisiologia do exercício energia, nutrição e desempenho humano**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

MELO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim SBCTA**, Campinas, v. 36, n. 1, p. 47-54, 2002.

MEYER, A. **Process cheese manufacture**. London: Food Press, 1973.

MIYAKE, Y.; YAMAMOTO, K.; OSAWA, T. Metabolism of antioxidant in lemon fruit (*Citrus limon* BURM. f.) by human intestinal bacteria. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Easton, v. 45, n. 10, p. 3738-3742, Oct. 1997.

MORAES, F., P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutraceuticos: definições, legislações e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Passo Fundo, v. 2, n. 3, p. 109-122, 2006.

MOREIRA, A. V. B.; MANCINI-FILHO, J. Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipooxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 4, p. 411-424, 2004.

MORENO, I.; VIALTA, A.; VALLE, J. Efeitos das varias etapas do processamento de requeijao e queijos fundidos na microbiota do leite. **Caderno Fazer Melhor**, São Paulo, v. 7, n. 38, p.63-65, 2002.

MUNCK, A. V.; CAMPOS, W. A. **Requeijão**: um produto brasileiro. São Paulo: Roca, 1984.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1054, n. 1-2, p. 95-111, 2004.

NIELSEN, F. H.; LUKASKI, H. C. Update on the relationship between magnesium and exercise. **Magnesium Research**, London, v. 19, n. 3, p. 180-189, Sept. 2006.

NILSON, E. A. F.; JAIME, P. C.; RESENDE, D. O. Iniciativas desenvolvidas no Brasil para a redução do teor de sódio em alimentos processados. **Revista Panamericana de Salud Publica**, Washington, v. 34, n. 4, p. 287–92, Oct. 2012.

NUUTILA, A. M. et al. Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity. **Food Chemistry**, London, v. 81, n. 4, p. 485–493, June 2003.

OLIVEIRA, J. S. **Queijo: fundamentos tecnológicos**. 2 ed. São Paulo: Ícone, 1990.

OLIVEIRA, J. S. **Queijo: fundamentos tecnológicos**. 2. ed. Campinas: UNICAMP, 1986.

ONANNI, A. Electrochemical biosensors as a tool for antioxidant capacity assessment. **Food Chemistry**, London, v. 129, n. 1, p. 459–466, Jan. 2008.

OZCAN, M. M.; EREL, O.; HERKEN, E. E. Antioxidant activity, phenolic content, and peroxide value of essential oil and extracts of some medicinal and aromatic plants used as condiments and herbal teas in Turkey. **Journal of Medicinal Food**, Oxford, v. 12, n. 1, p. 198–202, 2009.

PEREIRA, A. S. C. Irradiação em alimentos. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, n. 324, p. 177–182, fev. 2004.

PIEIDADE, K. R. **Uso de ervas aromáticas na estabilidade oxidativa de filés de sardinha (*Sardinella brasiliensis*) processados**. 2007. 160 p. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologias de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.
PINTO, C. M. F., PINTO, C. L. O., DONZELES, S. M. L. Pimenta *capsicum*: propriedades químicas, nutricionais, farmacológicas e medicinais e seu potencial

para o agronegócio. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, Viçosa, v. 3, n. 2, p.108-120, dez. 2013.

POWRIE, W. D. Chemistry of eggs and egg products. In: STADELMAN, W. J.; NEWKIRK, D.; NEWBY, L. **Egg science and technology**. Westport: CRC Press, 1977. p. 150-172.

PRAKASH, D.; SINGH, B. N.; UPADHYAY, G. Antioxidant and free radical scavenging activities of phenols from onion (*Allium cepa*). **Food Chemistry**, London, v. 102, n. 4, p. 1389–1393, 2007.

QUEIROZ, Y. S. **Alho (*Allium sativum*) e produtos: atividade antioxidante in vitro durante a vida de prateleira**. 2006. 135 p. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

QUEIROZ, Y. S. et al. Influência dos aditivos alimentares na atividade antioxidante in vitro de produtos de alho. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 17, n. 3, p. 287-293, jul./set. 2006.

RAMSEWAK, R. S.; DEWITT, D. L.; NAIR, M. G. Cytotoxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of Curcumins I–III from *Curcuma longa*. **Phytomedicine**, Stuttgart, v. 7, n. 4, p. 303-308, July 2000.

RANKIN, L. I. et al. Sodium intake alters the effects of norepinephrine on blood pressure. **Hypertension**, Dallas, v. 3, p. 650-656, 1981.

RAPACCI, M. **Estudo comparativo das características físicas e químicas, reológicas e sensoriais do requeijão cremoso obtido por fermentação láctica e acidificação direta**. 1997. 124 p. Tese (Doutorado em Engenharia dos Alimentos) – Universidade de Campinas, Campinas, 1997.

RODRIGUES, F. **Requeijão, fondue, especialidade, queijo processado**. Juiz de Fora: Editora do Autor, 2006.

ROSSO, V. V. **Composição de carotenóides e antocianinas em acerola – estabilidade e atividade antioxidante em sistemas-modelo de extratos antociânicos de acerola e de açaí.** 2006. 154p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

RUFINO, J. L. S.; PENTEADO, D. C. S. Importância econômica, perspectivas e potencialidades do mercado para pimenta. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 27, n. 235, p. 7-15, Nov./dez. 2006.

SALGADO, J. M.; CARRER, J. C.; DANIELI, F. Avaliação sensorial de maionese tradicional e maionese enriquecida com ervas aromáticas. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 4, n. 26, p. 731-734, out./dez. 2006.

SANDERSON, J.; MCLAUCHLIN, W.; WILLIAMSON, G. Quercetin inhibits hydrogen peroxide-induced oxidization of the rat lens. **Free Radicals in Biology & Medicine**, New York, v. 26, n. 5-6, p. 639-645, Mar. 1999.

SANTAS, J. et al. Comparison of the antioxidant activity of two Spanish onion varieties. **Food Chemistry**, London, v. 107, n. 3, p. 1210-1216, Apr. 2008.

SANTOS, A. Sódio, potássio, cloro e bicarbonato da dieta: efeitos na pressão arterial e doença cardiovascular. **Revista Factores de Risco**, Lisboa, n. 14, p. 44-49, 2009.

SARNO, F. et al. Hipertensão arterial em funcionários beneficiados pelo Programa de Alimentação do Trabalhador na cidade de São Paulo. **Nutrire**, São Paulo, v. 32, p. 98, out. 2007.

SEO, G. W. et al. Isolation and identification of cinnamic acid amides as antioxidants from *Allium fistulosum* L. and their free radical scavenging activity. **Food Science and Biotechnology**, Washington, v. 20, n. 2, p. 555-560, Apr. 2011.

SERVIÇO BRASILEIRO DE RESPOSTAS TÉCNICAS. [S.l.: s.n], 2006.
Disponível em: <<http://www.respostatecnica.org.br/>>. Acesso em: 16 jun. 2013.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. Antioxidant properties of food phenolics. In: SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Phenolics in food and nutraceuticals**. Boca Ration: CRC Press, 2004. Cap. 8, p. 403-441.

SHELEF, L. A. Antimicrobial effects os spices. **Journal of Food Safety**, Westport, v. 12, n. 6, p. 29-44, Aug. 1983.

SILVA, A. T.; VAN DENDER, A. G. F.; MELLO, F. M. Características de fusão de quatro diferentes tipos de massas utilizadas na fabricação de requeijão cremoso. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 59, n. 339, p. 97-103, 2004.

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

SILVA, M. L. C. et al. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: ciências agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, jul./set. 2010.

SIMONETTI, J. P.; BATISTA, L.; CARVALHO, L. R. Hábitos da saúde e fatores de risco em pacientes hipertensos. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, Ribeirão Preto, v. 10, n. 3, p. 415-422, maio/jun. 2002.

SINGH, B. N. et al. Polyphenolics from various extracts/fractions of red onion (*Allium cepa*) peel with potent antioxidant and antimutagenic activities. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 47, n. 6, p. 1161–1167, June 2009.

STAHL-BISKUP, E. Thyme. In: PETER, K. V. **Handbook of herbs and spices**: volume 2. Boca Raton: CRC Press, 2004. p. 365-387.

STROHECKER, R. L.; HENNING, H. M. **Análisis de vitaminas: métodos comprobados**. Madri: Paz Montalvo, 1967.

TRAMONTE, V. L. C. G.; CALLOU, K. R. A.; COZZOLINO, S. M. F. **Sódio, cloro e potássio**. In: COZZOLINO, S. M. F. Biodisponibilidade de nutrientes. 4. ed. Barueri: Manole, 2012.

TRIPOLI, E. et al. Citrus flavonoids: molecular structure, biological activity and nutritional properties: a review. **Food Chemistry**, London, v. 104, n. 2, p. 466-479, 2007.

VALKO, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal Biochemistry and Cell Biology**, Amsterdam, v. 39, n. 1, p. 44–84, 2007.

VAN DENDER, A. G. F. **Requeijão cremoso e outros queijos fundidos: tecnologia de fabricação, controle do processo e aspectos do mercado**. Campinas: Fonte Comunicações e Editora, 2006.

VANDERZANT, C.; SPLISTTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington: American Public Health Association, 1992.

VEDANA, M. I. S. **Efeito do processamento na atividade antioxidante da uva**. 2008. 88 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

VERMA, R. S. et al. Chemical diversity in Indian Oregano (*Origanum vulgare* L.). **Chemistry & Biodiversity**, Zurich, v. 7, n. 8, p. 2054-2064, Aug. 2010.

WATERHOUSE, A. L. Polyphenolics: determination of total phenolics. In: WROLSTAD, R. E. **Current protocols in food analytical chemistry**. New York: John Wiley, 2002. p. 11-18.

WILLETT, W. C. **Eat, drink and be healthy**. New York: Simon & Schuster, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases**. Geneva: WHO, 2003. Disponível em: <Erro! A referência de hiperlink não é válida.>. Acesso em: 14 mar. 2013.

YU, L. et al. Free radical scavenging properties of wheat extracts. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 50, n. 6, p. 1619-1624, Mar. 2002.

ZIELINSKA, D.; WICZKOWSKI, W.; PISKULA, M. K. Determination of the relative contribution of quercetin and its glucosides to the antioxidant capacity of onion by cyclic voltammetry and spectrophotometric methods. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 56, n. 10, p. 3524–3531, May 2008.

SEGUNDA PARTE

ARTIGO 1

Caracterização nutricional e antioxidante de misturas de especiarias

**Artigo redigido conforme norma da Revista Food science and technology
("versão preliminar")**

RESUMO

As especiarias são comumente utilizadas em preparações culinárias para agregar sabor e aroma às mesmas. Nelas estão presentes inúmeros compostos que podem beneficiar os consumidores em relação a aspectos nutricionais e funcionais, porém, elas têm caráter único com relação à constituição e proporção destes compostos. Sendo assim, para propiciar o aumento da multiplicidade de compostos, é importante que elas sejam utilizadas na forma de mistura. Esse fato motivou o desenvolvimento desse estudo no qual o objetivo foi elaborar misturas de especiarias e quantificar os compostos nutritivos e bioativos com função antioxidante nas mesmas. Foram preparadas sete misturas constituídas por três diferentes especiarias de um total de 10 opções. As análises químicas realizadas foram de composição centesimal, perfil de ácidos graxos, atividade antioxidante total pelos métodos DPPH e sistema β -caroteno/ácido linoleico, compostos fenólicos totais, carotenoides totais, magnésio, zinco, vitamina C e tocoferóis. Os resultados indicaram a mistura M2 (alho, cebola e orégano) se destacou com relação ao teor de proteínas e lipídios e as misturas M6 (manjerona, pimenta do reino e limão) e M7 (orégano, tomilho e manjerona) em relação ao teor de fibra alimentar. As misturas que se destacaram com relação à atividade antioxidante total e teor de compostos bioativos foram as M7, M1 (limão, manjerona e orégano) e M2 (alho, cebola e orégano).

Palavras-chave: β -caroteno/ácido linoleico. DPPH. Carotenoides. Minerais.

ABSTRACT

Spices are commonly utilized in culinary dishes to add flavor and aroma to them. In them are present a number of compounds which can benefit consumers in relation to nutritional and functional aspects, but, they have a particular character with relation to both the constitution and proportion of these compounds. In this way, to provide the increase of the multiplicity of compounds, it is important for them to be utilized as mixtures. That fact motivated the development of that study in which the objective was to do mixtures of spices and quantify the nutritive and bioactive compounds with an antioxidant function in them. Seven mixtures constituted by three different spices of a total of ten options were selected. The chemical analyses conducted were of centesimal composition, fatty acid profile, total antioxidant activity by the methods DPPH and β -carotene/linoleic acid system, total phenolic compounds, total carotenoids, magnesium, zinc, vitamin C and tocopherols. The results indicated mixture M2 (garlic, onion and oregano) stood out with relation to the content of proteins and lipids and mixtures M6 (marjoram, black pepper and lemon) and M7 (oregano, thyme and marjoram) in relation to the dietary fiber content. The mixtures which stood out with relation to the total antioxidant mixtures and bioactive compounds were M7, M1 (lemon, basil and oregano) and M2 (garlic, onion and oregano).

Keywords: β -carotene/linoleic acid. DPPH. Carotenoids. Minerals.

1 INTRODUÇÃO

As especiarias são constituídas por partes de espécies vegetais como raízes, rizomas, bulbos, cascas, folhas, flores, frutos, sementes e outras partes das plantas, possuidoras de substâncias aromáticas ou picantes, com ou sem valor nutricional, apresentando compostos bioativos (SHELEF, 1983; BRASIL, 2005;). Apresentam ação conservante, antioxidante e agregam sabor e aroma às preparações culinárias, o que permite que sejam fácil e diretamente aproveitadas por suas propriedades antioxidantes, dentre outras (DEL RÉ E JORGE, 2012). Entre os compostos antioxidantes presentes naturalmente nas especiarias destacam-se os carotenoides, as vitaminas C e E (tocoferóis), os minerais zinco, magnésio e selênio e os compostos fenólicos (PRADO; ARAGÃO; FETT, 2009).

Os compostos antioxidantes apresentam impacto fisiológico sobre a saúde humana, principalmente porque reduzem o risco de desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs) como doenças cardiovasculares, cânceres, envelhecimento precoce, por retardarem os danos provocados pelo efeito de radicais livres (SANTOS et al., 2012).

A utilização das especiarias na culinária mostra-se variada, elas podem ser empregadas na forma simples, quando constituída somente por uma especiaria, ou na forma mista, quando constituída da mistura de especiarias (GERMANO; GERMANO, 2008).

A composição química da grande maioria das especiarias já é bem caracterizada, muitos estudos vêm identificando e quantificando substâncias nutritivas e não nutritivas em especiarias na forma simples, porém, são escassos os trabalhos que avaliam a composição química na forma mista. Além disso, o processo de oxidação ocorre por meio de múltiplos mecanismos e não há um

antioxidante específico capaz prevenir todas as etapas no processo, sendo indicado o uso de mistura de antioxidantes para criar efeito sinérgico (AZIZKHAN; ZANDI, 2010).

Diante do exposto, objetivou-se com esse estudo caracterizar nutricionalmente, quantificar a atividade antioxidante total e compostos bioativos de misturas de especiarias visando a adição em produtos industrializados.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A composição centesimal, atividade antioxidante total, compostos fenólicos totais, carotenoides e vitamina C foram realizadas no Laboratório de Biquímica Nutricional do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (DCA/UFLA), zinco e magnésio no Departamento de Química (UFLA) a análise cromatográfica de tocoferóis foi efetivada no Laboratório de Análise Avançada e Biotecnologia (DCA-UFLA) e a análise cromatográfica de perfil de ácidos graxos foi realizada no Laboratório de Química da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

2.1 Preparo das especiarias e elaboração das misturas

As especiarias orégano (*Origanum vulgare*), manjeriço (*Ocimum basilicum*), cebola (*Allium cepa*), alho (*Allium sativum*), cúrcuma (*Curcuma longa*), pimenta preta - pimenta do reino - (*Piper nigrum*), manjerona (*Origanum majorana*), tomilho (*Thymus vulgaris*), cebolinha verde (*Allium fistulosum*), foram adquiridas no comércio local de Lavras MG na forma desidratada, somente o limão (*Citrus limon*) foi adquirido na forma *in natura*, sendo posteriormente desidratado. Ele foi descascado e fatiado em finas camadas longitudinais que foram desidratadas à 55° C em estufa com circulação de ar forçada por 48 horas. Em seguida, todas as especiarias foram trituradas em moinho de facas e passadas em peneira mesh 4 (abertura 4,76 mm) para padronização dos grânulos. Após a padronização foram elaboradas sete misturas de especiarias. As especiarias e proporção das mesmas que iriam compor as misturas foram definidas por sugestões de degustadores que se encontravam presentes no laboratório. Cada mistura ficou composta por três diferentes tipos

de especiarias e cada uma das três em diferentes proporções. A Tabela 1 apresenta as sete misturas de especiaria com a constituição e proporção das mesmas.

Tabela 1 Constituição das misturas de especiarias

| Misturas (M) | Especiarias | Proporção (%) |
|--------------|------------------|---------------|
| M1 | Limão | 60 |
| | Manjerição | 25 |
| | Orégano | 15 |
| M2 | Alho | 45 |
| | Cebola | 30 |
| | Orégano | 25 |
| M3 | Cebolinha Verde | 75 |
| | Manjerona | 20 |
| | Tomilho | 5 |
| M4 | Cebola | 60 |
| | Cúrcuma | 30 |
| | Pimenta do Reino | 10 |
| M5 | Alho | 40 |
| | Cúrcuma | 45 |
| | Pimenta do Reino | 15 |
| M6 | Manjerona | 40 |
| | Pimenta do Reino | 35 |
| | Limão | 25 |
| M7 | Orégano | 45 |
| | Tomilho | 30 |
| | Manjerona | 25 |

2.2 Composição centesimal e valor calórico das misturas de especiarias

A composição centesimal das sete misturas de especiarias elaboradas foi realizada de acordo com a metodologia proposta pela AOAC (2006).

A umidade foi determinada pelo método gravimétrico com emprego de calor, método que baseia na determinação da perda de peso do material quando submetido ao aquecimento (105°C) até peso constante.

Para obtenção do extrato etéreo foi utilizado o aparelho destilador “Soxhlet”. O cálculo foi baseado na perda de peso do material submetido à extração com éter.

A proteína foi determinada pelo método de Kjeldahl, que consiste na digestão, destilação e titulação da amostra. Para conversão de nitrogênio em proteína foi utilizado o fator de conversão 6,25.

Para determinação das cinzas as amostras foram incineradas em bico de Bunsen e posteriormente levadas a mufla a 550°C até que as cinzas mostraram-se clara, ou ligeiramente acinzentadas. Os cálculos para determinação de cinzas foram feitos pela diferença da massa inicial e final da amostra.

A análise de fibra alimentar foi realizada seguindo-se as técnicas propostas pela AOAC (2006), que se baseia em análises enzimáticas gravimétricas, conforme descrito no item 2.3.

O extrato não nitrogenado (ENN, carboidrato) foi determinado por diferença dos valores encontrados para extrato etéreo, proteína, cinzas e fibras alimentares em 100g do produto seco (AOAC, 2006).

As calorias (kcal) das misturas de especiarias foram calculadas multiplicando a média de cada macronutriente por seu respectivo fator de conversão. A média da quantidade de carboidrato e de proteína existente na amostra foram multiplicadas por 4 e a média do teor de lipídio por 9. A soma destes resultados correspondeu às calorias de 100g de mistura de especiarias em matéria seca (ATWATER; WOOSDS, 1986).

2.3 Fibra alimentar total

A fibra alimentar total (FAT) foi determinada seguindo a técnica enzimática e gravimétrica proposta pela AOAC (2006). Para esta análise foi pesado 1g de amostra seca que foi posteriormente gelatinizada com termamil (α -amilase estável ao calor) em temperatura de ebulição no banho-maria com agitador (dubnoff) durante 30 minutos.

Logo após, as amostras foram resfriadas e tiveram o valor de pH ajustado para faixa ótima de ação da protease, que promoveu a quebra da proteína durante os 15 minutos de banho-maria a 60°C com agitação constante. Após o resfriamento das amostras a temperatura ambiente, o pH foi novamente reajustado, mas para faixa de ação da amiloglicosidase, e as amostras levadas ao banho maria à 60° com agitação. Após a etapa de digestão foi adicionado nas amostras 280 mL de etanol 95% preaquecido a 60°C, que permaneceu em repouso por aproximadamente 8 horas, até formação do precipitado.

No dia seguinte, os cadinhos de vidro de fundo poroso tiveram o celite umedecido com água destilada e, utilizando sucção com a ajuda de bomba a vácuo, foi transferido o precipitado da digestão da enzima para o cadinho contendo celite. O resíduo foi lavado sucessivamente com 3 porções de 20 mL de álcool 78%, 2 porções de 10 mL de etanol 95% e 2 porções de 10 mL de acetona. Os cadinhos contendo o resíduo foram secos durante a noite a 105°C na estufa com ventilação de ar forçada. Estes foram pesados em balança analítica. Após a pesagem das três repetições de cada amostra, dois resíduos foram preservados para determinação de proteína e um resíduo para determinação de cinzas.

Os resultados de FAT foram obtidos após subtração dos valores de cinzas e brancos (resíduo das provas em branco corrigidos para cinzas e

proteína) e subtração da proteína bruta (nitrogênio x 6,25), sendo o nitrogênio determinado por destilação em micro-Kjeldahl e expressos em percentagem na matéria seca.

2.4 Perfil de ácidos graxos

Os ácidos graxos das sete misturas de especiarias foram extraídos de acordo com a metodologia proposta por Folch; Lees; Stanley (1957). Para tanto, homogeneizou-se 5 gramas de amostra com 50 mL de solução clorofórmio/metanol (2:1) mais butilhidroxitolueno ($0,025\text{g.L}^{-1}$) por aproximadamente 3 minutos em politron na velocidade média. Após homogeneização, procedeu à filtração da amostra utilizando filtros semi-qualitativos (de filtração rápida), transferindo-se o filtrado ao funil de separação (500 mL), ao qual foram acrescentados 10 mL de solução de cloreto de potássio (KCl 0,72%); após agitação manual, a solução permaneceu em repouso por oito horas. Após o repouso foi observada a formação de duas fases com diferentes polaridades (polar e apolar). A parte polar foi descartada do funil de separação, restando apenas à parte apolar. Foram acrescentados 6 mL de solução de cloreto de potássio (KCl 0,72%) à parte remanescente, que permaneceu 12 horas em repouso. Após esse período, novamente foi descartada a parte polar, recolhendo-se a parte apolar em balão volumétrico de 50mL e completando o volume com clorofórmio.

Para etapa de esterificação foi utilizado 5 mL da solução obtida na etapa anteriormente descrita. Os 5mL de solução foram transferidos para tubos de centrífuga falcon e o clorofórmio foi evaporado em banho-maria ($45\text{-}55^{\circ}\text{C}$) com fluxo de nitrogênio gasoso. Após a evaporação, foram adicionados 4 mL de NaOH 0,5M em metanol, levando, na sequencia, a amostra ao banho fervente por 5 minutos. O material foi resfriado em banho de gelo e na sequencia foram

adicionados 5 mL de reagente esterificante, levando novamente para o banho fervente por 5 minutos com posterior resfriamento em banho de gelo. Após resfriamento, foram adicionados 4 mL de NaCl saturado e 5 mL de hexano. Deixando-se os sistemas em repouso por 10 minutos. A parte sobrenadante foi recolhida para frasco âmbar. Evaporou o hexano com nitrogênio gasoso, em banho-maria a 45-55°C (FOLCH; LEES; STANLEY, 1957).

- Condições Cromatográficas

As análises foram realizadas em cromatógrafo a gás (CG) modelo CG – 17 A Detector de Chama (FID), marca SHIMADZU. Para registro e análise dos cromatogramas, o aparelho é acoplado a um microcomputador, utilizando-se o programa GC Solution. Os compostos foram separados e identificados em uma coluna capilar Carbowax (30 m x 0,25 mm).

Para a separação cromatográfica, 1 µL de amostra foi injetado com auxílio de seringa de 10 µL (Hamilton®) em sistema Split = 5. O gás Nitrogênio foi utilizado como carreador com velocidade linear programada para 37,8 cm/s .

As temperaturas do injetor e do detector foram controladas em 220°C e 240°C. A temperatura inicial da coluna foi de 200°C (mantida por 2 minutos), aumentando em 4°C por minuto até atingir 240°C, totalizando 20 minutos de análise. O fluxo do gás de arraste na coluna foi de 1,0 mL/minuto.

A identificação dos compostos foi realizada através do tempo de retenção do padrão correspondente. Foi utilizado o padrão supelco 37 component fame mix chromatogram.

2.5 Atividade antioxidante total

A atividade antioxidante total (AAT) das sete misturas de especiarias foi determinada utilizando-se dois métodos distintos: método do sequestro do

radical 2,2- difenil,1picril-hidrazil (DPPH) e método do sistema β -caroteno /ácido linoleico, sendo um com caráter predominantemente hidrofílico e o outro lipofílico, respectivamente.

Para a obtenção dos extratos foram pesados 2g de amostra, aos quais foram adicionados 40 mL de álcool metílico 50%. Essa mistura foi homogeneizada e deixada em repouso por 1 hora à temperatura ambiente. Após este período a mistura foi centrifugada a 23.723g, por 17 minutos. O sobrenadante foi coletado e foram adicionados 40 mL de acetona 70% ao resíduo. Este foi homogeneizado e deixado em repouso por 1 hora. Em seguida, foi centrifugado a 23.713 g, por 17 minutos. O sobrenadante foi coletado, adicionado ao primeiro sobrenadante e o volume foi completado para 100 mL com água destilada.

A determinação da AAT pelo método do sequestro do radical DPPH foi realizada de acordo com metodologia proposta por Brand-Williams; Cuvelier e Berset et al. (1995) com adaptações. Foi adicionado 0,1 mL de cada extrato das amostras das misturas de especiarias na concentração de $0,2\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ a 3,9 mL de solução de DPPH (0,06 mmol). As leituras foram realizadas após 30 minutos em espectrofotômetro a 515 nm e os resultados expressos em percentual de inibição (% inibição), conforme equação a seguir:

$$\% \text{ Inibição} = (\text{Ac} - \text{Am}) \cdot 100 / \text{Ac} \quad \text{em que}$$

Ac = absorbância do controle

Am = absorbância da amostra em estudo

Para determinar a AAT pelo método sistema β -caroteno/ácido linoleico, adotaram-se os procedimentos propostos por Rufino et al. (2006). Foram adicionados 0,4 mL de extrato (o mesmo utilizado para o DPPH) a 5 mL de

solução sistema, sendo as leituras realizadas no tempo 2 minutos e 120 minutos em espectrofotômetro a 470nm e os resultados expressos em percentual de inibição da oxidação do β -caroteno (% Inibição).

$$\% I = (A_c - A_m).100/A_c$$

A_c = absorvância inicial do controle – absorvância final do controle

A_m = absorvância inicial da amostra – absorvância final da amostra.

As análises foram realizadas com três repetições.

2.6 Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais foram obtidos conforme o método desenvolvido por Waterhouse (2002), com a utilização do reagente de Folin-Ciocalteu. Este é um método caracteristicamente colorimétrico, o azul produzido pela redução do reagente Folin-Ciocalteu pelos fenólicos é medido espectrofotometricamente, na faixa de absorção de 750 nm.

O extrato foi preparado nas mesmas condições exposta no item 2.5 para obtenção dos extratos para atividade antioxidante total pelo método do sequestro do radical DPPH e pelo método sistema β -caroteno/ácido linoleico.

Foram adicionados 0,5 mL de extrato de cada amostra aos tubos contendo 2,5 ml de solução de Folin-Ciocalteu 10% (v/v). Em seguida, foram adicionados 2 ml de solução de carbonato de sódio 4% (v/v), com posterior agitação dos tubos em vortex e repouso, por 120 minutos, ao abrigo da luz. A cor azul produzida pela redução do reagente Folin-Ciocalteu pelos fenólicos foi medida espectrofotometricamente, na faixa de absorção de 750 nm. O cálculo do teor de fenólicos totais foi realizado a partir da equação da reta obtida da curva

padrão do ácido gálico. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico por 100 g da amostra (mg EAG.100g⁻¹).

2.7 Carotenoides totais

A análise de carotenoides totais foi realizada seguindo metodologia proposta por Rodriguez-Amaya e Kimura (2004). Foi pesado em beckeres 1g das amostras de misturas de especiarias em triplicata, adicionado de 1g de kisselgur e 50 mL de acetona, deixando em repouso por 30 minutos. Posteriormente, os extratos foram filtrados em papel de filtro Whatman (nº 2) e lavados 3 vezes com aproximadamente 30 mL de acetona. Após a filtragem, o volume final total do extrato foi adicionado em funil de separação, onde já havia 30 mL de água destilada e 30 mL de éter de petróleo.

O material do funil de separação foi lavado 3 vezes com 100 mL de água destilada, para remover a acetona residual, tomando o cuidado para não descartar a parte lipossolúvel do extrato (disposta na porção superior). O material que permaneceu no funil de separação (extrato mais éter de petróleo) conservou-se over night para separação.

No dia seguinte foi recolhida a fase com éter de petróleo em balão volumétrico de 50 mL, deixando a solução passar por um pequeno funil com algodão e sulfato de anidro, aproximadamente 15g, para remover o resíduo de água (Figura 1). O volume foi completado com éter de petróleo a leitura realizada no espectrofotômetro com comprimento de onda de 450 nm. Por vezes foi necessário concentrar ou diluir a solução de carotenoides para atingir absorvância ideal (mínimo de 0,2 e máximo de 0,8).

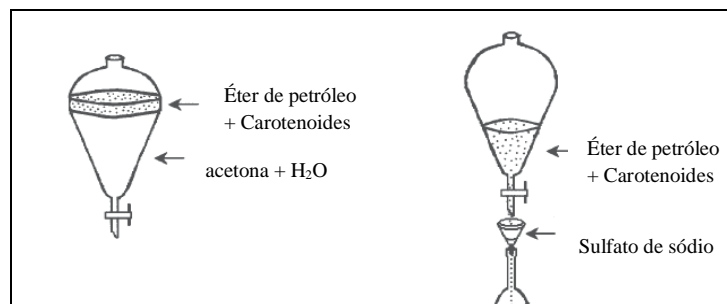


Figura 1 Ilustração da separação de éter de petróleo da análise de carotenoides totais em funil de separação. Fonte: Rodriguez-Amaya e Kimura (2004)

A concentração de carotenoides totais ($\mu\text{g/g}$) foi calculada utilizando a fórmula:

$$\frac{A \times \text{volume (mL)} \times 10^4}{A^{1\%}_{1\text{cm}} \times \text{peso da amostra (g)}}$$

Onde A = absorvância, volume = volume total de extrato (50 mL);

$A^{1\%}_{1\text{cm}}$ = coeficiente de absorção de β -caroteno em éter de petróleo (2592).

2.8 Vitamina C

O teor de vitamina C (ácido ascórbico) foi determinado pelo método colorimétrico com 2,4 dinitrofenilhidrazina, conforme Strohecker e Henning (1967). A leitura foi realizada em espectrofotômetro Beckman 640 B com sistema computadorizado e os resultados expressos em mg de vitamina C/100g de mistura de especiaria.

2.9 Tocoferóis

Para a determinação dos tocoferóis foram utilizados 100mg de lipídios extraídos conforme metodologia proposta por Folch; Lees e Stanley (1957), descrita no item 2.4, para ácidos graxos. Em tubos de ensaio com rosca foram adicionados os 100mg de lipídios das amostras juntamente com 500 mg de ácido ascórbico, para evitar a oxidação da amostra. Adicionou 5mL de etanol 90% e 0,5mL de hidróxido de potássio aquoso a 80%, e agitou por 30 segundos. Os tubos fechados foram encubados em banho maria por 30 minutos à 70°C, com agitação periódica. Posteriormente os tubos foram levados ao banho de gelo por 5 minutos e nestes foram adicionados 5mL de água deionizada e 5mL de n-hexano, agitou-se por 5 minutos em vortex. O material foi centrifugado por 10 minutos a 1000xg em temperatura ambiente. A fase superior com hexano foi transferida para outro tubo para evaporar e secar sobre o fluxo de nitrogênio.

- Condições cromatográficas

Em um tubo foi adicionado 0,01mL da fase móvel e agitado por 30 segundos para dissolver o extrato, foram injetados 20µL da amostra. A coluna utilizada foi a Supelcosil LC-SI (250x4,6mm), a fase móvel utilizada foi etil/acetato/ácido acético/hexano (1:1:98, v/v/v) com fluxo de 1,5mL/minuto. A detecção foi monitorada a 295 nm.

A indentificação foi feita pela comparação dos tempo de retenção e quantificados com base na área de picos desconhecidos com os padroes puros (α -tocoferol, β -tocoferol, γ -tocoferol, δ - tocoferol, todos da marca sigma).

2.10 Minerais antioxidantes: magnésio e zinco

A quantificação dos minerais magnésio e zinco foi realizada de acordo com a metodologia descrita na AOAC (2006). O extrato foi preparado a partir de 0,5g da mistura de especiarias, que foi digerida com 6 mL de ácido nítrico/perclórico (2:1) em bloco digestor à temperatura final de 250°C. Adicionou-se água destilada ao extrato até o peso final de 15g.

As análises foram realizadas utilizando-se o espectrômetro de absorção atômica, modelo spectraA 110, Varian[®], calibrado em condições específicas de comprimento de onda, fenda e mistura de gases para cada elemento. Para a construção da curva de calibração, foram utilizadas ampolas de padrões para absorção atômica da marca Merck, devidamente diluídas com água deionizada. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em mg.100g¹de produto integral.

2.11 Análises Estatísticas

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, onde os tratamentos consistiram de sete misturas de especiarias com 3 repetições. Os resultados das análises químicas das especiarias foram submetidos à análise de variância seguida pelo teste de média Sckott Knott ao nível de 5% de significância no software SISVAR versão 5.3 (FERREIRA, 2008).

Foi realizada também a análise de correlação de Pearson entre compostos fenólicos totais x atividade antioxidante total (DPPH e β -caroteno/ácido linoléico), utilizando Software Statistical Packge for Social Sciences (SPSS – versão 20).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização química

As médias dos valores da composição centesimal das misturas de especiarias estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 Composição centesimal em matéria seca (MS) e valor energético das sete misturas de especiarias e respectivos coeficientes de variação (CV)

| Misturas (M) | Umidade | Valores médios em matéria seca (MS) | | | | | Energia (kcal) |
|--------------|-------------------|-------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| | | Lipídio | Proteína | Cinza | *FAT | **Glicídio (ENN) | |
| M1 | 14,9 ^a | 3,2 ^b | 12,2 ^b | 5,9 ^c | 34,9 ^b | 43,8 ^c | 252,4 ^c |
| M2 | 12,1 ^b | 5,7 ^a | 15,0 ^a | 4,5 ^d | 21,2 ^d | 53,5 ^b | 325,6 ^b |
| M3 | 12,4 ^b | 3,9 ^b | 4,2 ^c | 10,4 ^a | 31,6 ^c | 49,7 ^c | 238,3 ^d |
| M4 | 10,6 ^b | 2,3 ^b | 12,7 ^b | 4,2 ^d | 10,7 ^f | 70,1 ^a | 352,2 ^a |
| M5 | 9,9 ^b | 2,1 ^b | 15,1 ^a | 3,8 ^d | 17,5 ^e | 61,5 ^b | 325,4 ^b |
| M6 | 11,3 ^b | 3,3 ^b | 14,5 ^a | 9,31 ^b | 36,7 ^a | 36,1 ^d | 232,1 ^d |
| M7 | 10,5 ^b | 6,4 ^a | 12,4 ^b | 9,2 ^b | 36,9 ^a | 35,1 ^d | 262,1 ^c |
| CV% | 10,6 | 14,1 | 11,5 | 9,2 | 3,7 | 9,1 | 5,45 |

M1 = limão (60%), manjeriço (25%), orégano (15%); M2 = alho (45%), cebola (30%), orégano (25%); M3 = cebolinha verde (75%), manjerona (20%), tomilho (5%); M4 = cebola (60%), cúrcuma (30%), pimenta do reino (10%), M5 = cúrcuma (45%), alho (40%), pimenta do reino (15%); M6 = manjerona (40%), pimenta do reino (35%), limão (25%); M7 = orégano (45%), tomilho (30%), manjerona (25%). *FAT = Fibra Alimentar Total. **ENN = extrato não nitrogenado. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scot-Knott, a 5% de probabilidade

O teor de proteína encontrado nas misturas de especiarias foi significativamente menor na mistura M3 (cebolinha verde, manjerona e tomilho). Estes resultados já eram esperados, pois, especiarias não são fontes de

proteína, essa consideração foi reforçada por Chemello (2005), que afirmou que cebola possui baixo teor proteico e de aminoácidos essenciais, não podendo ser considerada uma boa fonte de proteína.

Com relação às fibras, as sete misturas de especiarias mostraram quantidade importante desse componente, sendo os teores mais elevados na M6 e M7 ($p \leq 0,05$), apresentando teor 3 vezes mais alto que a mistura M4, com 10,7% de fibra alimentar. Esses resultados indicam que o consumo principalmente de M6 e M7 pode contribuir com o teor de fibras da dieta.

Os teores de fibra alimentar das misturas M1, M2, M3, M6 e M7, foram maiores do que os citados por Shylaja e Peter (2004) para as especiarias manjerona, orégano, tomilho e alecrim (18,1; 15,0; 18,6; 17,7%; respectivamente) e menor em relação ao cerefólio, que contém 49,1% de fibras.

Considerando a densidade energética, dentre as sete misturas de especiarias a mais calórica foi a M4 ($p \leq 0,05$), esta também apresentou o maior teor de glicídio (70,1%) e o seu teor de proteína foi maior ($p \leq 0,05$) do que o da M3 e igual ($p > 0,05$) a M1 e M7. Ela apresentou ainda a menor concentração de fibra (10,7%), a somatória desses fatores pode ser a justificativa para a maior densidade energética dessa mistura, que foi a que apresentou maior concentração de nutrientes como um todo.

As misturas de especiarias que apresentaram menor densidade calórica corresponderam a aquelas com maior teor de fibra alimentar (M6 e M7), sendo o inverso também verdadeiro (M4 e M5).

O valor energético mensurado para as misturas de especiarias desse estudo: 252,4; 325,6; 238,3; 352,2; 325,4; 232,1; 262,2 (M1, M2, M3, M4, M5, M6 e M7, respectivamente) foi próxima à apresentada na tabela brasileira de composição de alimentos para as especiarias orégano, cúrcuma e pimenta preta, com 306, 354, 255 kcal/100g de matéria seca, respectivamente (PHILLIPI, 2006).

As especiarias geralmente não são ingeridas de forma isolada, elas são adicionadas às preparações culinárias em pequenas concentrações. As concentrações dessas nos alimentos são determinadas pela preferência de sabores e aromas, normalmente encontrando-se entre 0,5 a 1% no produto final (BEDIN; GUTKOSKI; WIEST, 1999), portanto, a adição das misturas de especiarias nas refeições provavelmente não contribuirá de forma importante para o aumento da densidade calórica na mesma.

A concentração de lipídios em especiarias é baixa, por isso ele pouco contribui para a densidade energética, isto pode ser observado na Tabela 2. As especiarias manjerição, salsa, estragão e orégano apresentam em média 4,0; 4,4; 7,2; 10,3% de lipídio, respectivamente (SHYLAJA; PETER, 2004), resultados semelhantes ao desse estudo para as sete misturas de especiarias.

Apesar de as especiarias apresentarem, de forma geral, baixo teor de lipídios, estudos indicam que algumas dispõem de perfil de ácidos graxos interessantes à saúde do ser humano, por isso os mesmo foram identificados e quantificados nas sete misturas de especiarias e os resultados estão dispostos na Tabela 3.

Tabela 3 Perfil de ácidos graxos das sete misturas de especiarias, expresso em g/100g de lipídios totais

| Ácidos graxos | g/100g de lipídio | | | | | |
|--|-------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | M1 | M2 | M4 | M5 | M6 | M7 |
| Undecanóico C _{11:0} | - | - | - | - | - | 2,32 |
| Lauríco C _{12:0} | - | - | - | - | - | 5,93 |
| Tridecanóico C _{13:0} | 40,55 | 3,61 | 17,43 | 11,16 | 18,07 | 23,78 |
| Miristoléico C _{14:0} | 1,76 | - | - | - | - | - |
| Pentadecanóico C _{15:0} | - | 0,75 | 1,54 | 0,62 | 0,93 | 2,80 |
| Palmítico C _{16:0} | 11,57 | 11,29 | 9,60 | 10,09 | 9,76 | 8,53 |
| Palmitoléico C _{16:1} | - | - | 3,93 | 1,95 | 1,52 | 0,53 |
| Estearíco C _{18:0} | 2,76 | 3,42 | 2,18 | 2,65 | 1,96 | 2,01 |
| Oleico C _{18:1} | 8,02 | 22,43 | 20,71 | 22,35 | 19,65 | 11,62 |
| Linoléico C _{18:2} | 18,42 | 48,06 | 41,83 | 45,30 | 42,70 | 24,80 |
| Linolênico C _{18:3} | 1,80 | 2,27 | - | - | 1,02 | - |
| γ -linolênico C _{18:3} | 9,70 | 5,92 | 2,75 | 4,45 | 3,21 | 8,62 |
| Total (g/100g) | 94,58 | 97,75 | 99,97 | 98,57 | 97,82 | 90,94 |

Não detectado = - M1 = limão (60%), manjeriço (25%), orégano (15%); M2 = alho (45%), cebola (30%), orégano (25%); M3 = cebolinha verde (75%), manjerona (20%), tomilho (5%); M4= cebola (60%), cúrcuma (30%), pimenta do reino (10%), M5 = cúrcuma (45%), alho (40%), pimenta do reino (15%); M6 = manjerona (40%), pimenta do reino (35%), limão (25%); M7 = orégano (45%), tomilho (30%), manjerona (25%)

Os resultados para M3 não foram coerentes com a literatura, sendo assim, optou-se por não apresentá-los neste trabalho. Dentre as misturas M1, M2, M4, M5, M6 e M7, o perfil de ácidos graxos apresentou-se bastante diversificado, sendo que a mistura M2 (alho, cebola e orégano) foi a que apresentou a maior concentração dos ácidos graxos insaturados linoleico e oleico, sendo a soma igual a 70,49%, deste total 48,06% foi do ácido graxo essencial polinsaturado linoleico. A fração lipídica das misturas M5, M6 e M4, também apresentaram elevada concentração de ácido linoleico, 45,30; 42,70 e 41,83%; respectivamente, e como segundo composto majoritário o ácido oleico, 22,35; 19,65 e 20,71%, concomitantemente, a somatória desses dois ácidos

graxos insaturados em cada uma das misturas de especiarias correspondeu a mais de 60% da concentração.

A mistura que apresentou a maior concentração de ácido graxo saturado (tridecanóico) foi a M1 (40,55%), que foi constituída por limão, manjerição e orégano. Provavelmente o limão, utilizado em maior quantidade nesta mistura (60%), foi quem contribuiu para esta característica.

O ácido graxo linoleico, presente em maior concentração na maioria das misturas de especiarias (M2, M4, M5, M6 e M7), é um ácido graxo essencial, sendo denominado essencial por não ser sintetizado no organismo do ser humano. Ele participa de funções cerebrais, da transmissão de impulsos nervosos, da transferência do oxigênio atmosférico para o plasma sanguíneo, da síntese da hemoglobina e da divisão celular (MARTIN et al., 2006). O ácido graxo oleico foi o segundo ácido graxo predominante na maioria das misturas de especiarias (M2, M4, M5 e M6), ele não é essencial, porém, desempenha funções importantes no organismo do ser humano, tais como expressão de genes em linfócitos B, fatores de transcrição, proteínas quinases envolvidas na sinalização celular e síntese de DNA (HATAKANA; CURI, 2007).

Contudo, a contribuição nutricional das especiarias na dieta pode não ser relevante, uma vez que estas são adicionadas em pequenas proporções. Esta questão também foi observada por outros autores, a exemplo de Chemello (2005), que declarou que a importância nutricional da cebola na dieta é relativamente pequena, mesmo sendo frequente em diversas preparações, o seu uso é em pequenas quantidades.

Em contrapartida, os compostos bioativos estão presentes em concentrações importantes nas especiarias. Os autores Carvalho e Machado (2004) observaram em seu estudo que a cebola, uma das especiarias também utilizada em nosso estudo, possui diferentes minerais, dentre eles o cálcio, ferro, fósforo, magnésio, potássio, sódio e selênio, e que a contribuição desta em uma

dieta padrão é significativa. Por isso, neste estudo investigou-se a presença e concentração de compostos bioativos (compostos fenólicos totais, carotenoides totais, vitamina C, tocoferóis, magnésio e zinco) nas misturas de especiarias, que estão relacionados com ação antioxidante.

3.2 Atividade antioxidante total e compostos antioxidantes

A atividade antioxidante total (AAT) dos extratos das misturas de especiarias avaliada pelo método do sequestro do radical livre DPPH é apresentada no Gráfico 1.

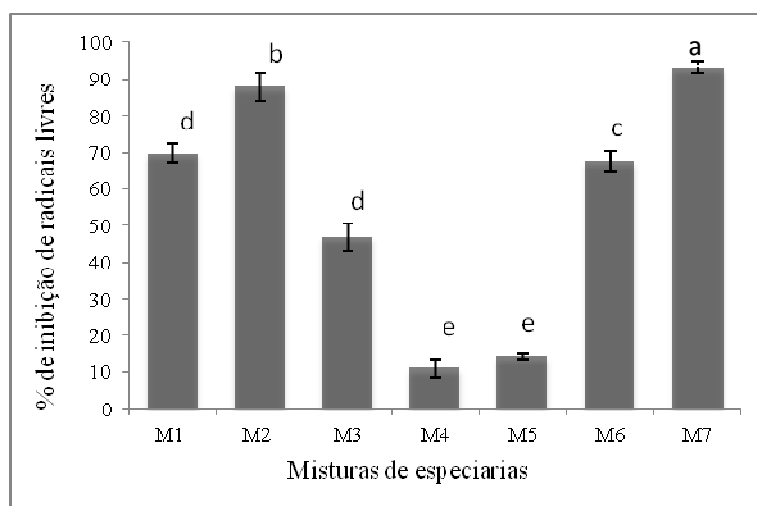


Gráfico 1 Valores médios da atividade antioxidante total (AAT) das misturas de especiarias pelo método DPPH em % de inibição de oxidação utilizando extrato na concentração de 2mg/mL. M1 = limão (60%), manjerico (25%), orégano (15%); M2 = alho (45%), cebola (30%), orégano (25%); M3 = cebolinha verde (75%), manjerona (20%), tomilho (5%); M4 = cebola (60%), cúrcuma (30%), pimenta do reino (10%), M5 = cúrcuma (45%), alho (40%), pimenta do reino (15%); M6 = manjerona (40%), pimenta do reino (35%), limão (25%); M7 = orégano (45%), tomilho (30%), manjerona (25%). Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância

Conforme o Gráfico 1, o extrato que apresentou maior atividade antioxidante ($p \leq 0,05$), pelo método da captura de radical livre (DPPH), foi a mistura de especiarias M7, que foi preparada com 45% de orégano, 30% de tomilho e 25% de manjerona. Em segundo lugar ficou o extrato da mistura de especiarias M2, composta por 45% de alho, 30% de cebola e 25% de orégano. O extrato com menor atividade antioxidante ($p \leq 0,05$) foi o M4 que não diferiu do M5 ($p > 0,05$). A mistura de especiarias M4 foi constituída de cebola (60%), cúrcuma (30%) e pimenta do reino (10%), e a M5 por cúrcuma (40%), alho (40%) e pimenta do reino (15%). A ordem crescente do % de inibição oxidante nas misturas de especiarias foi $M4 < M5 < M3 < M6 < M1 < M2 < M7$, sendo as médias iguais a 11,04; 14,44; 47,01; 67,68; 69,83; 88,01; 93,33; respectivamente. Além disso, as misturas M1, M2, M3 e M7 podem ser utilizadas em maiores proporções nas preparações em razão das misturas M4, M5 e M6, pelo fato das primeiras não possuírem pimenta do reino na constituição.

A maior atividade antioxidante mensurada no extrato M7 provavelmente é em consequência da presença do orégano e tomilho em maiores proporções, as duas especiarias são referenciadas por sua elevada atividade antioxidante. De acordo com Amarowicz et al. (2009), dentre as três especiarias presentes na mistura M7, o orégano é a que apresenta maior atividade antioxidante, seguido pelo

tomilho e por último a manjerona. Estas três especiarias pertencem à mesma família, a *Lamiaceae*, e são mundialmente conhecidas pelo seu elevado potencial antioxidante (HOSSAIN et al., 2008).

A atividade antioxidante destas especiarias foi avaliada de forma isolada por outros pesquisadores. Os autores Pitaro; Fiorani e Jorge (2012), que também utilizaram o método DPPH, mensuraram a inibição de radicais livres (%) para o orégano igual a 48,42%; resultado próximo ao encontrado por KIM et al. (2011), igual a 45,43%. Neste mesmo estudo foram avaliadas as atividades antioxidantes do manjericão e da cúrcuma, sendo igual a 39,63 e 24,43% de inibição, respectivamente (KIM et al., 2011). A atividade antioxidante da cúrcuma foi bastante inferior, este fato pode explicar a menor atividade antioxidante das misturas de especiarias M5 e M4, que foram preparadas com grande quantidade desta especiaria, 45 e 30%, respectivamente.

Diversos fatores podem interferir nos resultados da análise química de atividade antioxidante, sendo possível observar diferentes resultados para uma mesma especiaria em trabalhos distintos com o uso da mesma técnica. Essa diferença pode ser devido à polaridade de extração do solvente utilizado no preparo dos extratos, dos procedimentos de isolamento, da pureza de composto ativos, ou ainda, estar relacionado às partes da planta, espécie, variedade, país de cultivo, fase de desenvolvimento durante a colheita, estado *in natura* ou desidratadas (MEYER et al., 1998; HOLUB, 2002; DEL RÉ; JORGE, 2012). Essas diferenças dificultam a interpretação e comparação dos resultados com outros estudos. Neste caso o importante é enfatizar que as sete misturas de especiarias deste estudo apresentaram atividade antioxidante elevada, sendo que a mistura M7 destacou-se entre as demais.

O método de sequestro de radicais livres (DPPH) quantifica a atividade antioxidante de compostos hidrofílicos (a exemplo dos compostos fenólicos, minerais e vitamina C), porém, é de conhecimento geral que existem compostos

antioxidantes com característica lipofílicos (a exemplo dos carotenoides e tocoferóis). Para mesurar a atividade antioxidante destes compostos é preciso utilizar método que empregue o lipídio como substrato, como ocorre no sistema β -caroteno/ácido linoleico. A associação dos dois métodos é apropriada para verificar a eficiência da amostra aplicada a radicais livres em diferentes sistemas. Os autores Costa et al. (2009), por exemplo, observaram que o extrato bruto de pimenta malagueta apresentou 13,9% de inibição pelo método DPPH e 87,80% de inibição pelo sistema β -caroteno/ácido linoleico.

No estudo realizado por Kaur e Kapoor (2002) a atividade antioxidante para o extrato etanoico de alho foi de 62% , enquanto que a oxidação lipídica do alho, avaliada por Shing e Shing (2008), apresentou inibição de 36%. Por isso, neste estudo também foi avaliada a atividade antioxidante pelo método β -caroteno/ácido linoleico e os resultados estão apresentados no Gráfico 2.

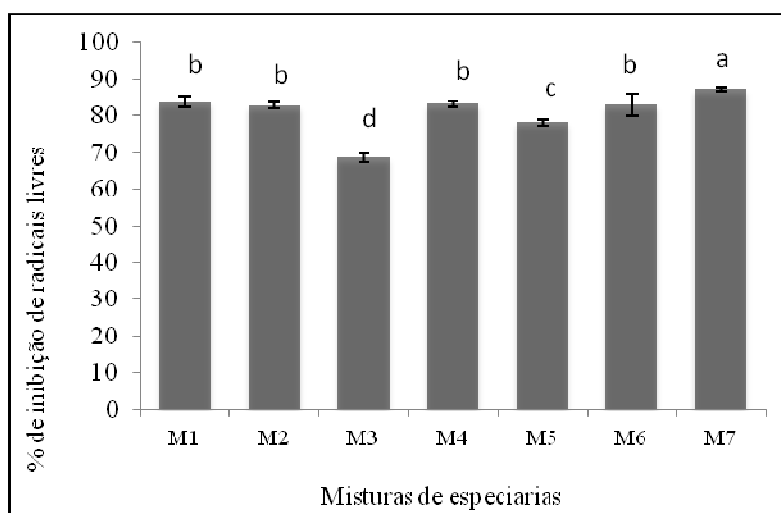


Gráfico 2 Valores médios da atividade antioxidante total das misturas de especiarias pelo método β -caroteno/ácido linoleico em % de inibição de oxidação para 5g de amostra. M1 = limão (60%), manjerição (25%), orégano (15%); M2 = alho (45%), cebola (30%), orégano (25%); M3 = cebolinha verde (75%), manjerona (20%), tomilho (5%); M4 = cebola (60%), cúrcuma (30%), pimenta do reino (10%), M5 = cúrcuma (45%), alho (40%), pimenta do reino (15%); M6 = manjerona (40%), pimenta do reino (35%), limão (25%); M7 = orégano (45%), tomilho (30%), manjerona (25%). Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância

A mistura de especiarias que apresentou a maior atividade antioxidante pelo método β -caroteno/ácido linoleico foi a M7 ($p \leq 0,05$), que correspondeu à mesma mistura com maior atividade antioxidante pelo método DPPH (Figura 1), porém, a ordem crescente do % de inibição da oxidação entre os dois métodos foi distinto, $M3 < M5 < M2 < M6 < M4 < M1 < M7$, sendo os valores médios em % de inibição: 68,58; 78,18; 82,73; 92,97; 83,21; 83,81; 87,29; respectivamente. A atividade antioxidante de mistura M3 foi significativamente a menor dentre todas as misturas, portanto, essa possui compostos lipofílicos em menor concentração ou com menor capacidade antioxidante.

Os antioxidantes fazem bem a saúde do indivíduo porque, de maneira geral, aumentam a resistência das lipoproteínas de baixa densidade (LDL-c) à oxidação, que está associado com a redução do risco para coronariopatias. Os antioxidantes também reduzem o risco do desenvolvimento de outras patologias crônicas não transmissíveis associadas ao estresse oxidativo, tais como como cânceres, diabetes mellitus, envelhecimento precoce, alzheimer, isquemia, devido a capacidade destes compostos antioxidantes de prevenir a formação das Espécies Reativas ao Oxigênio (EROs), que podem oxidar compostos celulares, como ácidos nucleicos, proteínas, lipídios e carboidratos (SINGH et al., 2009; AFONSO; SANT'ANA; MANCINI-FILHO, 2010).

A atividade antioxidante das especiarias está relacionada principalmente com a presença de compostos fenólicos (DEL RÉ; CINTRA, 2012), sendo assim, uma vez constatada a atividade antioxidante dos extratos, passou-se a quantificação dos compostos fenólicos totais neles presentes. Os resultados para compostos fenólicos totais estão ilustrados no Gráfico 3 em mg de equivalentes de ácido gálico (AGE)/100g⁻¹.

O extrato de mistura de especiarias que apresentou maior teor de compostos fenólicos ($p \leq 0,05$) foi o M7, seguido por M2 e M1, que também correspondeu aos extratos com maior atividade antioxidante pelo método DPPH e β -caroteno-ácido linoleico (Gráfico 1 e Gráfico 2). As misturas M4 e M5 apresentaram a menor concentração de compostos fenólicos e não diferiram significativamente entre si. A concentração desses compostos fenólicos nas misturas, em mg AGE/100g⁻¹, foi na ordem crescente: 833,00 (M5); 1096,00 (M4); 2637,00 (M3); 3475,00 (M6); 4336,00 (M1); 4688,00 (M2); 9476,00 (M7).

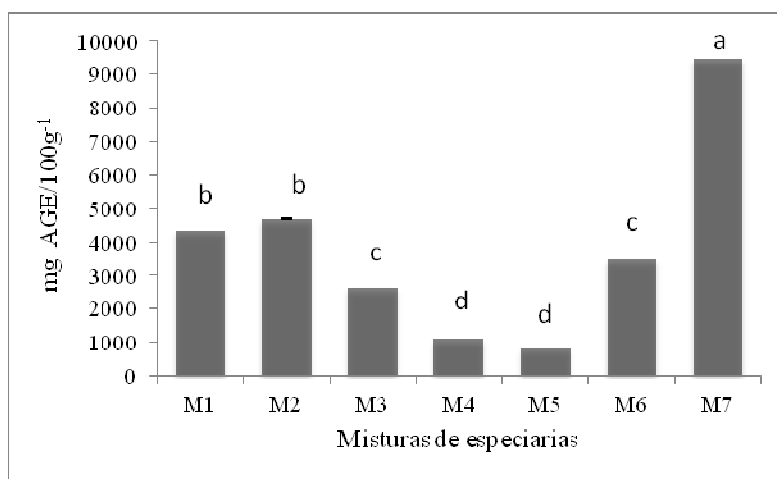


Gráfico 3 Valor médio de compostos fenólicos (mg AGE/100g⁻¹) nos extratos etanoicos das misturas de especiarias. M1 = limão (60%), manjerição (25%), orégano (15%); M2 = alho (45%), cebola (30%), orégano (25%); M3 = cebolinha verde (75%), manjerona (20%), tomilho (5%); M4 = cebola (60%), cúrcuma (30%), pimenta do reino (10%), M5 = cúrcuma (45%), alho (40%), pimenta do reino (15%); M6 = manjerona (40%), pimenta do reino (35%), limão (25%); M7 = orégano (45%), tomilho (30%), manjerona (25%). Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância

A ampla diferença do teor de compostos fenólicos entre as misturas de especiarias provavelmente está relacionada com a distinção e proporção de especiarias que constituíram as mesmas, portanto, não se deve atribuir esta diferença a uma especiaria específica, é preciso fazer uma análise geral dos fatores. O orégano, por exemplo, contém elevada concentração de compostos fenólicos totais, estudos indicam valores que chegam a 28800mg AGE/100g⁻¹ (AMAROWICZ et al., 2009). Esse fator pode ser uma das justificativas para a elevada concentração dos compostos fenólicos nas misturas M7, M2 e M1, que apresentavam 45, 25 e 15% de orégano, respectivamente. Além disso, a mistura M1 foi elaborada com 60% de limão em pó, esta especiaria possui em média de 43,69 mg AGE/100g⁻¹ de acordo com Ramful et al. (2011), valor próximo ao encontrado por Duzzioni et al. (2010), que foi de 45,52 AGE mg/100g⁻¹.

Estudos realizados indicaram que as especiarias tomilho também apresenta teor importante de compostos fenólicos totais. A quantificação feita em extrato de metanol, etanol, éter e hexano do tomilho apresentaram concentrações iguais a 520; 460; 450; 390 mg AGE/100g⁻¹, respectivamente (ROBY; SARHAN; SELIM; KHALEL, 2013). Por outro lado, a manjerona apresenta baixa concentração de fenólicos, os autores KIM et al. (2011) avaliaram a manjerona e quantificaram somente 0,81 mg AGE/100g⁻¹ de compostos fenólicos na matéria seca. Este fato reafirma a consideração anterior

de que, a elevada concentração de compostos fenólicos na mistura M7 possivelmente está associada à presença do orégano e talvez ao tomilho, mas não a manjerona.

A pimenta do reino, assim como a cúrcuma, foram as principais especiarias constituintes das misturas M5 e M4, e o teor de compostos fenólicos nestas duas especiarias é baixo quando comparado ao do orégano, limão e tomilho. De acordo com Nahak e Sahu (2011) a pimenta preta apresenta 0,062 mg AGE/100g⁻¹ no extrato etanoico e a cúrcuma apenas 0,029 mg AGE/100g⁻¹, conforme Kumar et al. (2006). Essas considerações podem ser a justificativa para o fato das misturas M5 e M4 terem apresentado o menor teor de compostos fenólicos. Além disso, a mistura M5 continha 40% de alho, e a concentração de compostos fenólicos nesta especiaria de acordo com o trabalho de Lu et al. (2011) é de somente 17 mg AGE/100g⁻¹, valor próximo ao encontrado por Nieto et al. (2013) que foi igual a 12,8 mg AGE/100g⁻¹, e de Nuutila et al. (2003), estudo em que o alho desidratado apresentou valores que variaram de 9,5 a 11,5 mg AGE /100g⁻¹.

É importante enfatizar que, por menor que seja a concentração de compostos fenólicos nas misturas de especiarias estudadas todas as sete podem ser eficientes em agregar compostos fenólicos em preparações culinárias, sendo algumas mais potentes em detrimento às outras.

Os principais compostos fenólicos com atividade antioxidante presente nas especiarias são: o ácido rosmarínico em especiarias da família *Lamiaceae* (orégano, manjerona, manjericão, tomilho), eugenol e capsaicina na pimenta, curcumina na cúrcuma, timol e carvacrol no tomilho, ácidos salicílico, gálico, elágico, protocatéico e vanílico no limão e campferol na cebolinha verde (FILHO et al., 2006; KUMAR et al., 2006; HOSSAIN et al., 2008; AMAROWICZ et al., 2009; SILVA et al., 2010; SEO; CHO; MOON; PARK, 2011).

Considerando que os vegetais contêm inibidores de oxidação lipossolúveis, tais como os carotenoides (POKORNÝ, 1991), as sete misturas de especiarias deste estudo foram investigadas quanto à presença e concentração deste composto. Os resultados podem ser observados no Gráfico 4.

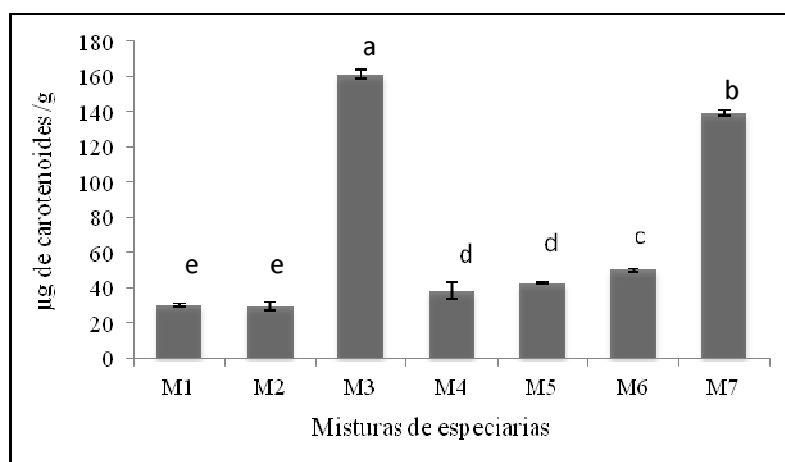


Gráfico 4 Valores médios da concentração de carotenoides totais nas sete misturas de especiarias em µg/g. M1 = limão (60%), manjeriço (25%), orégano (15%); M2 = alho (45%), cebola (30%), orégano (25%); M3 = cebolinha verde (75%), manjerona (20%), tomilho (5%); M4 = cebola (60%), cúrcuma (30%), pimenta do reino (10%); M5 = cúrcuma (45%), alho (40%), pimenta do reino (15%); M6 = manjerona (40%), pimenta do reino (35%), limão (25%); M7 = orégano (45%), tomilho (30%), manjerona (25%). Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância

A mistura de especiarias que apresentou maior teor de carotenoides foi a M3 seguida pela M7, estas não diferiram significativamente entre si ($p > 0,05$), e a menor concentração foi para as misturas M1 e M2, que não se diferiram entre si ($p > 0,05$). A ordem decrescente da concentração de carotenoides nas misturas de especiarias em estudo é $M3 > M7 > M6 > M5 > M4 > M1 > M2$, sendo as médias, em µg/g: 161,34; 139,34; 49,95; 42,56; 38,37; 30,16 e 29,29; respectivamente.

Os carotenoides são pigmentos naturais responsáveis pelas cores amarela, laranja vermelha e verde em muitos alimentos. O mais comumente encontrado nos alimentos vegetais é a luteína (vegetais verdes, espinafre, brócolis, ervilhas), classificado como xantofila (FAULKS; SOUTHON, 2005, LIMA et al., 2012). Por isso alimentos verdes, a exemplo dos folhosos, podem ser ricos em carotenoides, provavelmente essa é uma das explicações para maior concentração de carotenoides na mistura M3, que foi constituída principalmente por cebolinha verde (75%). Na tabela brasileira de composição de carotenoides nos alimentos (RODRIGUEZ-AMAYA; AMAYA-FARFAN, 2008) não existe os valores da determinação de carotenoides para cebolinha verde isoladamente, só para cebolinha mais salsa (cheiro verde), que foi igual a 248µg/g. A manjerona, presente na mistura M3 na proporção de 20%, também apresenta elevada concentração de carotenoides, 83µg/g (RODRIGUEZ-AMAYA; AMAYA-FARFAN, 2008).

O manjericão possui quantidade importante de carotenoides, 38,99 µg/g de acordo com BATISTA et al. (2006). Na tabela brasileira de composição de carotenoides em alimentos o valor descrito é ainda mais alto, igual a 95µg/g (RODRIGUEZ-AMAYA; AMAYA-FARFAN, 2008), porém, apesar da elevada concentração de carotenoides no manjericão, essa especiaria pouco contribuiu para elevar a concentração desse composto na mistura M1, que apresentou baixo teor de carotenoides quando comparada as demais misturas. O que pode explicar esse fato é grande proporção de limão nesta mistura (60%), sendo o limão uma especiaria que apresenta teor tão baixo de carotenoide que Duzzioni et al. (2010) não conseguiram detecta-lo em seu estudo.

De acordo com Rodriguez-Amaya; Amaya-Farfan (2008) os teores médios de carotenoides na manjerona, tomilho e orégano, são: 83, 50 e 56µg/g, respectivamente. A mistura dessas três especiarias constituiu a M7, porém, os valores individualizados relatados na literatura são inferiores ao encontrado para

mistura M7, igual a 139,34 $\mu\text{g/g}$. De acordo com a literatura, a composição de carotenoides em alimentos é afetada por diversos fatores, como cultivares e variedades, parte da planta utilizada nas análises, clima e área geográfica de produção, colheita e manejo pós colheita, processamento e armazenamento (BATISTA et al., 2006), estes fatores, de forma isolada ou associada, podem ter promovido tal diferença.

Na tabela brasileira de composição de carotenoides em alimentos é determinado que alimentos com mais de 20 μg de carotenoides totais por grama de alimento são considerados fonte (RODRIGUEZ-AMAYA; AMAYA-FARFAN, 2008), assim sendo, mesmo as misturas de especiarias com a menor concentração de carotenoides deste estudo, M1 e M2 (com 30,16 e 29,29 $\mu\text{g/g}$ de carotenoides, respectivamente), são fontes importantes deste composto ativo. Pode-se afirmar que qualquer uma das sete misturas de especiarias deste trabalho pode contribuir para agregar à dieta este composto bioativo.

Para possibilitar a avaliação da relação entre os resultados da atividade antioxidante total (DPPH e β -caroteno/ácido linoleico), compostos fenólicos totais e carotenoides totais, foi feita a correlação de Pearson que está apresentada na Tabela 4.

Tabela 4 Análise de correlação de Pearson entre os resultados para atividade antioxidante total (DPPH e Sistema β -caroteno/ ácido linoleico), compostos fenólicos e carotenoides totais das misturas de especiarias

| | Compostos Fenólicos | Sistema β -caroteno | DPPH | Carotenoides totais |
|---------------------------|---------------------|---------------------------|---------|---------------------|
| Compostos fenólicos | 1 | 0,521* | 0,884** | -- |
| Sistema β -caroteno | 0,521* | 1 | -- | 0,906** |
| DPPH | 0,884** | -- | 1 | 0,428 |
| Carotenoides Totais | -- | 0,906** | 0,428 | 1 |

* Correlação significativa ao nível de 0,05 **Correlação significativa ao nível de 0,01

A análise de correlação de Pearson mostrou que existe correlação positiva forte ($p < 0,01$) entre compostos fenólicos e a atividade antioxidante total mensurada pelo método DPPH e correlação positiva significativa ($p \leq 0,05$) entre compostos fenólicos totais e atividade antioxidante total mensurada pelo método β -caroteno/ácido linoleico. Este resultado sugere que quanto maior for a concentração de compostos fenólicos maior será a atividade antioxidante total, essa relação também foi observada no trabalho de KIM et al. (2011). Esta análise indica ainda que a atividade antioxidante total mensurada pelo sistema β -caroteno/ácido linoleico pode estar relacionada a outros compostos que não os fenólicos.

Na Tabela 5 estão dispostas as concentrações de vitaminas antioxidantes, tocoferol e vitamina C, presentes nas misturas de especiarias.

Tabela 5 Teor médio dos compostos antioxidantes, tocoferóis e vitamina C, nas sete misturas de especiarias

| Misturas (M) | Variáveis | | | |
|--------------|-------------------------|---|---|---|
| | vitamina C (mg/100g) | α -tocoferol (mg/kg ⁻¹) | δ -tocoferol (mg/kg ⁻¹) | γ -tocoferol (mg/kg ⁻¹) |
| M1 | 129,28 ^a | 4,39 | 241,69 | - |
| M2 | 42,90 ^e | - | 241,62 | 60,25 |
| M3 | 60,51 ^d | 1,60 | 476,19 | 98,71 |
| M4 | 16,30 ^g | - | 192,99 | 85,98 |
| M5 | 118,41 ^b | 2,09 | 463,23 | - |
| M6 | 66,67 ^c | 6,24 | 487,15 | 23,93 |
| M7 | 25,39 ^f | 3,48 | 477,18 | 25,85 |

Não foi detectado = - M1 = limão (60%), manjeriçã (25%), orégano (15%); M2 = alho (45%), cebola (30%), orégano (25%); M3 = cebolinha verde (75%), manjerona (20%), tomilho (5%); M4 = cebola (60%), cúrcuma (30%), pimenta do reino (10%), M5 = cúrcuma (45%), alho (40%), pimenta do reino (15%); M6 = manjerona (40%), pimenta do reino (35%), limão (25%); M7 = orégano (45%), tomilho (30%), manjerona (25%).

Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância

O teor de vitamina C foi consideravelmente maior ($p \leq 0,05$) na mistura de especiarias M1 em detrimento as outras seis misturas. O menor teor de vitamina C ($p \leq 0,05$) foi determinado na mistura M4, constituída por cúrcuma, cebola e pimenta.

A mistura M1 de especiarias, que apresentou maior concentração de vitamina C, foi também a que teve maior proporção de limão em pó adicionado a mistura (60%). O limão é uma fruta cítrica considerando fonte dessa vitamina, e estudos determinaram o alto teor de vitamina C no seu suco, 237 mg/100mL (DUZZIONI et al., 2010). Na M1 também havia quantidades consideráveis de orégano (15%) e manjeriço (25%), que apresentam teores médio de vitamina C igual a 66,7 e 61,20 mg/100mL, respectivamente (PHILIPPI, 2013), o que infere que a concentração de vitamina C dessa mistura foi derivada principalmente do limão em pó.

A mistura de especiarias com menor teor de vitamina C, a M4, corresponde à aquela com as especiarias cúrcuma, cebola e pimenta do reino, que contém 25,9; 6,4 e 0 mg de vitamina C/100mL, respectivamente (PHILIPPI, 2013). Presume-se que a especiaria que mais contribuiu para agregar vitamina C na M4 foi a cúrcuma. A M3 também apresentou baixa concentração de vitamina C em comparação com a M1 e M5, fato que pode ser explicado pela baixa concentração de vitamina C na cebolinha verde, 32 mg/100mL (ALMEIDA; SUYENAGA, 2009), presente na M3 na proporção de 75%.

Todas as misturas de especiarias apresentaram vitamina C em sua constituição, indicando que todas elas, algumas com maior potencial em detrimento às outras, podem contribuir para inativar radicais livres no organismo

quando ingeridas, e desta forma podem prevenir a oxidação de proteínas, lipídios e dos danos ao DNA (MIYAKE; YAMAMOTO; OSAWA, 1997).

Para análise de tocoferóis foram utilizados quatro padrões: α -tocoferol, δ -tocoferol, γ -tocoferol e β -tocoferol, porém, o β -tocoferol não foi detectado em nenhuma das sete misturas de especiarias. O tocoferol que predominou nas misturas de especiarias foi o δ -tocoferol, e o maior teor desse foi detectado na M6 (487,15 mg/kg⁻¹). O α -tocoferol e o γ -tocoferol foram encontrados em pequenas quantidades em todas as misturas de especiarias.

Alguns minerais, a exemplo do magnésio e do zinco, também participam de reações antioxidantes no organismo, por isso a concentração destes nas misturas de especiarias foi mensurada e os resultados encontram-se dispostos na Tabela 6.

Tabela 6 Teor de magnésio e zinco nas misturas de especiarias

| Misturas (M) | Variáveis (mg/100g) | |
|--------------|---------------------|-------|
| | Magnésio | Zinco |
| M1 | 180 | 3,29 |
| M2 | 140 | 1,89 |
| M3 | 250 | 3,45 |
| M4 | 120 | 2,04 |
| M5 | 120 | 2,54 |
| M6 | 260 | 3,15 |
| M7 | 300 | 2,70 |

M1 = limão (60%), manjeriço (25%), orégano (15%); M2 = alho (45%), cebola (30%), orégano (25%); M3 = cebolinha verde (75%), manjerona (20%), tomilho (5%); M4 = cebola (60%), cúrcuma (30%), pimenta do reino (10%), M5 = cúrcuma (45%), alho (40%), pimenta do reino (15%); M6 = manjerona (40%), pimenta do reino (35%), limão (25%); M7 = orégano (45%), tomilho (30%), manjerona (25%). Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância

A mistura M7 foi a que apresentou maior teor de magnésio, com concentração 2,5 vezes maior em relação as misturas M4 e M5, que foram as que apresentaram o menor teor deste mineral.

Em relação ao zinco, as misturas de especiarias apresentaram valores distintos desse mineral, variando de 1,89 a 3,29, tendo a M6 e M2 apresentado a maior e menor concentração desse mineral, respectivamente.

As misturas de especiarias deste estudo podem ser fontes substanciais destes minerais. Considerando que a recomendação diária de ingestão (RDA) de magnésio é de 330 mg/dia para homens de 19 a 30 anos e 255mg/dia para mulheres da mesma faixa etária (DRIs, 2003), o consumo de 100g da mistura M7, por exemplo, seria suficiente para satisfazer as necessidades de magnésio para os dois grupos.

Com relação ao zinco, para atender a recomendação diária de ingestão desse mineral seria necessário ingerir quantidades maiores de misturas de especiarias. Considerando que a RDA de zinco para mulheres e homens de 19 a 30 anos de idade é de 6,8 e 9,4 mg/dia (DRIs, 2003), respectivamente, seria necessário ingerir 197 e 272g da mistura de especiaria M3 para atender a recomendação.

A importância das especiarias para atender a recomendação diária de minerais já foi relatada também por Pinto; Pinto e Donzeles (2013), que declararam que o consumo de 100 g de pimenta levemente picante pode fornecer quantidades substanciais de sais minerais como potássio (7%), ferro (3%), fósforo (2%) e magnésio (6%). De acordo com Almeida e Suyenaga (2009) 100g de alho possui 8,83mg de zinco, que seria suficiente para atender 93,93% da recomendação diária de zinco para homens e 129% da necessidade para mulheres.

É conveniente ressaltar que a dieta precisa ser diversificada e conter todos os grupos de alimentos nas suas devidas proporções, pois o magnésio e

zinco estão largamente distribuídos em alimentos do grupo do leite e derivados, carnes, frutas, hortaliças, cereais, leguminosas, oleaginosas, que contêm além de minerais, diversos outros nutrientes essenciais à vida, à exemplo de aminoácidos, ácidos graxos e vitaminas. Portanto, as misturas de especiarias devem ser consumidas associadas a esses grupos de alimentos e não de forma isolada.

4 CONCLUSÕES

Não foi possível identificar dentre as sete misturas de especiarias aquela com maior concentração de nutrientes (proteínas, lipídios, cinzas, vitamina C, tocoferóis e minerais), pois elas apresentaram concentrações bastante variadas desses nutrientes. Os maiores teores de fibras alimentares foram mensurados nas misturas M6 (manjerona, pimenta do reino e limão) e M7 (orégano, tomilho e manjerona), e as misturas que apresentaram a maior atividade antioxidante total foram as M1 (limão, manjerona e orégano), M2 (alho, cebola e orégano) e M7, coincidindo com aquelas que apresentaram maior concentração dos compostos antioxidantes carotenoides, fenólicos e vitamina C.

A atividade antioxidante total das misturas de especiarias foi correlacionada principalmente aos compostos fenólicos, portanto, quanto maior a concentração de compostos fenólicos nas misturas maior será a atividade antioxidante das mesmas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O orégano é especiaria com elevado potencial antioxidante e excelentes propriedades sensoriais, sendo assim é interessante que se utilize o mesmo para o preparo de misturas de especiarias. Não se pode dizer o mesmo do tomilho, que tem sabor forte, não tão agradável quanto o do orégano, e ainda atividade antioxidante muito menor em comparação ao mesmo. Sugere-se a utilização de alho, cebola e manjerição em vez de tomilho para o preparo de misturas de especiarias.

REFERÊNCIAS

AFONSO, M. S.; SANT'ANA, L. S.; MANCINI-FILHO, J. Interação entre antioxidantes naturais e espécies reativas do oxigênio nas doenças cardiovasculares: perspectivas para a contribuição do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.). *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.* = **J. Brazilian Soc. Food Nutr.**, v. 35, n. 1, p. 129-148, abr. 2010.

ALMEIDA, A.; SUYENAGA, E. S. Ação farmacológica do alho (*Allium sativum* L.) e da cebola (*Allium cepa* L.) sobre o sistema cardiovascular: revisão bibliográfica. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.* = **J. Brazilian Soc. Food Nutr.**, v. 34, n. 1, p. 185-197, abr. 2009.

AMAROWICZ, R.; ZEGARSKA, Z.; RAFAŁOWSKI, R.; PEGG, R. B.; KARAMAC, M.; KOSIN'SKA, A. Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of ethanolic extracts of thyme, oregano, and marjoram. **Eur. J. Lipid Sci. Technol.**, v. 111, p.1111–1117, 2009.

ASSOCIATION OF AGRICULTURAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. v. 2 (18rd ed.). Gaithersburg: AOAC International, 2006. 1141 p.

ATWATER, W. O.; WOODS, C.D. The chemical composition of american food materials. **Farmers' Bulletin**, n. 28. U.S. Department of Agriculture. Washington, 1896.

AZIZKHANI, M.; ZANDI, P. Effect of natural antioxidant mixtures on margarine stability. **Pak. J. Agri. Sci.**, v. 47, n. 2, p. 140-146, 2010.

BATISTA, M. A. PINHEIRO-SANT'ANA, H. M.; CHAVES, J. B. P.; MORAES, F. A. Carotenos e provitamina A em bertalha e ervas aromáticas comercializadas em Viçosa, Estado de Minas Gerais, durante as quatro estações do ano Maringá, v. 28, n. 1, p. 93-100, 2006.

BEDIN, C.; GUTKOSKI, S. B.; WIEST, J. M. Atividade antimicrobiana das especiarias. **Higiene Alimentar**, v.13, n.65, p. 26- 29, 1999.

BRAHMA, N. S.; SINGH, B. R.; SINGH, R. L.; PRAKASH, D.P.; SINGH, B.K.; SARMA, G. UPADHYAY, H.B. Singh polyphenolics from various extracts/fractions of red onion (*Allium cepa*) peel with potent antioxidant and antimutagenic activities. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, p. 1161–1167, 2009.

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

BRASIL, 2005. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, aprova o “regulamento” técnico para especiarias, temperos e molhos”. Resolução de diretoria colegiada, RDC n°. 276, de 22 de setembro de 2005.

CARVALHO, P. G. B., MACHADO, C. M. M. Sistema de produção de cebola (*Allium cepa* L.). In: Série características nutricionais e funcionais. V. 5. Embrapa Hortaliças, Brasília, DF. Versão eletrônica (www.cnph.embrapaba.br), dezembro, 2004.

CHEMELLO, E. A. química na cozinha presente: as cebolas. **Revista eletrônica zoom**. Editora Cia da Escola, v. 6, n, 2, 2005.

MARTIN, C. A., ALMEIDA, V. V., RUIZ, M. R., VISENTAINER, J. E. L., MATSHUSHITA, M., SOUZA, N. E., VISENTAINE, J. V. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: importance and occurrence in foods. **Rev. Nutr.**, v.19, n.6, 2006.

COSTA, L. M.; MOURA, N. F.; MARANGONI, C.; MENDES, C. E.; TEIXEIRA, A. O. Atividade antioxidante de pimentas do gênero *Capsicum*. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, 2009.

CURRENTE, R. E. **Protocols in food analytical chemistry**. New York: J. Wiley, p. 11-18.

DEL RÉ, P.V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.14, n.2, p.389-399, 2012.

DUZZIONI, A. G.; FRANCO, A. G.; DUZZIONI, M.; SYLOS, C. M. Determinação da atividade antioxidante e de constituintes bioativos em frutas cítricas. **Alim. Nutr.**, v. 21, n. 4, p. 643-649, 2010.

FAULKS, R. M.; SOUTHON, S. Challenges to understanding and measuring carotenoid bioavailability. **Biochim Biophys Acta**, v. 1740, n. 2, p. 95-100, 2005.

FERREIRA, D. F. Sisvar: Um programa para análise e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Lavras, v. 6, n. 4, p. 36-41, jul./dez. 2008.

FILHO, J. L. S. C., BLANK, A. F., ALVEZ, P. B., EHLERT, P. A. D., MELO, A. S. CAVALCANTI, S. C. H., ARRIGONI-BLANK, M. F., SILVA-MANN, R. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum L.*) essential oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.1, p.24-30,2006.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 226, n.1, p.497-509, 1957.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. Higiene e vigilância sanitária de alimentos. In: **Qualidade das especiarias**. São Paulo: Manole Ltda, 2008. p. 258-275.

HATANAKA, E., CURI, R. Fatty acids and wound healing: a review. **Rev. Bras. Farm.**, v. 88, n. 2, p. 53-58, 2007.

HATANAKA, E.; CURI, R. Ácidos graxos e cicatrização: uma revisão. **Rev. Bras. Farm.**, v. 88, n. 2, p. 53-58, 2007.

HOLUB, B. J.; ARNOTT, K.; DAVIS, J. P.; NAGPURKAR, A.; PESCHELL, J. Organosulfur compounds from garlic. In: SHI, J., MAZZA, G.; MAGUER, M. L. **Functional foods: biochemical and processing aspects**. P. 213-238, 2002.

HOSSAIN, M., BRUNTON, N., BARRY-RYAN, C., MARTIN-DIANA, A., WILKINSON, M. Antioxidant activity of spice extracts and phenolics in comparison to synthetic antioxidants. **Rasayan Journal of Chemistry**, v.1, n. 4, p.751-756, 2008.

KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Antioxidant activity and total, phenolic content of some Asian vegetables. **International journal of food science e technology**, v. 37, p. 153-161, 2002.

KIM, I. S.; YANG, M. R.; LEE, O. H.; KANG, S. N. Antioxidant activities of hot water extracts from various spices. **Int J Mol Sci**, v. 12, n. 6, p. 4120-4131, 2011.

KUMAR, G. S.; NAYAKA, H.; DHARMESH, S. M.; SALIMATH, P. V. Free and bound phenolic antioxidants in amla (*Emblica officinalis*) and turmeric (*Curcuma longa*). **Journal of food composition and Analysis**, v. 19, n. 5, p. 446-452, 2006.

LIMA, A. **Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo*, e identificação dos compostos fenólicos presentes no Pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.)**. 2008. 229p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

LOPES, C. O., BARCELOS, M. D. F. P., DIAS, N. A. A., CARNEIRO, J. D. D. S., ABREU, W. C. Effect of the addition of spices on reducing the sodium content and increasing the antioxidant activity of margarine. **LWT - Food Science and Technology**, v. 58, n. 1, p. 63-70, 2014.

M. R. SHYLAJA, M. R., KERALA, K. V. P. The functional role of herbal spices, in: PETER, K. V. Handbook of herbs and spices, v. 2, 2004. Woodhead Publishing Ltd Boca Raton Boston New York Washington, DC, 366 p.

MARTIN, C. A., ALMEIDA, V. V., RUIZ, M. R., VISENTAINER, J. E. L., MATSHUSHITA, M., SOUZA, N. E., VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos polinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Rev. Nutr.**, v. 19, n. 6, p.761-770, 2006.

MAYER, A. S.; HEINONEN, M.; GRANKEL, E. N. Antioxidant interactions of catechin, cyaniding, caffeic acid, quercetin, and ellagic acid on human LDL oxidation. **Food Chemistry**, v. 61, p. 71-75, 1998.

NAHAK, G.; SAHU, R. K. Phytochemical evaluation and antioxidant activity of *Piper cubeba* and *Piper nigrum*. **Journal Applied Pharmaceutical Science**, v. 01, n. 8, p. 153-157, 2011.

NUUTILA, A. M.; PUUPPONEN-PIMIÄ., R.; AARNI, M.; OKSMAN-CALDENTY, K-M. Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity. **Food Chemistry**, v. 82, p. 485-493, 2003.

PHILIPPI, S. T. **Tabela de Composição de Alimentos - Suporte Para Decisão Nutricional**. 4ª Ed., editora: Manole, 2013, 164 p.

PINTO, C. M. F.; PINTO, C. L. O.; DONZELES, S. M. L. Pimenta *capsicum*: propriedades químicas, nutricionais, farmacológicas e medicinais e seu potencial para o agronegócio. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**, v.3, n.2., p.108-120, 2013.

PITARO, S.P.; FIORANI, L.V.; JORGE, N. Potencial antioxidante dos extratos de manjeriço (*Ocimum basilicum* Lamiaceae) e orégano (*Origanum vulgare* Lamiaceae) em óleo de soja. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.14, n.4, p.686-691, 2012.

POKORNÝ, J. Natural antioxidants for food use. **Trends food sci. technol.**, v. 2, n. 9, p. 223-227, 1991.

PRADO, A. C. P., ARAGÃO, A. N., FETT, R. Compostos fenólicos e atividade antioxidante de extratos da casca de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch]. **Braz. J. Food Technol.**, v. 12, n. 4, p. 323-332, 2009.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B., KIMURA, M. **Harvestplus handbook for carotenoid analysis**. Washington, DC and Cali: International Food Policy Research Institute (IFPRI) and International Center for Tropical Agriculture (CIAT), 2004, pag. 35 e 36.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; AMAYA-FARFAN, J. M. K. Fontes brasileiras de carotenoides: **Tabela brasileira de composição de carotenoides em alimentos**. Brasília 2008, 99 p.

RUFINO, M. S. M., ALVES, R. E., BRITO, E. S., FILHO, J. M., MOREIRA, A. V. B. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas no sistema β -caroteno/Ácido Linoleico**. Brasília: EMBRAPA, 2006. 16 p. (Comunicado Técnico, 126).

SANTOS, R. D.; SHETTY, K.; CECCHINI, A. L.; MIGLIORANZA, L. H. D. S. Phenolic compounds and total antioxidant activity determination in rosemary and oregano extracts and its use in cheese spread. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 2, p. 655-666, 2012.

SEO, G. W.; CHO, J. Y.; MOON, J. H.; PARK, K. Y. Isolation and identification of cinnamic acid amides as antioxidants from *Allium fistulosum* L. and their free radical scavenging activity. **Food Sci. Biotechnol.**, v. 20, p. 555-560, 2011.

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

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SINGH, V. K.; SINGH, D. K. Pharmacological effects of garlic (*Allium sativum* L.). **Annual Review of biomedical sciences**, v. 10, p. 6-26, 2008.

Software Statistical Packge for Social Sciences (SPSS – versão 20). IBM Corp. Released 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp.

STROHECKER, R. L.; HENNING, H. M. **Analisis de vitaminas: métodos** comprobados. Madri: Paz Montalvo, 1967, 428 p.

WATERHOUSE, A. L. Polyphenolics: determination of total phenolics. In: WROLSTAD, R. E. **Current protocols in food analytical chemistry**. New York: J. Wiley, 2002. p. 11-18.

WROLSTAD, R.E. 2003 Analysis of Tocopherols and Tocotrienols. In: **Current Protocols in Food Analytical Chemistry** (CPFA), (Eds.): R. E. Wrolstad, John Wiley & Sons.

YOSHIKI MIYAKE, Y.; YAMAMOTO, K.; OSAWA, T. Metabolism of antioxidant in lemon fruit (*Citrus limon* BURM. f.) by human intestinal bacteria. **J. Agric. Food Chem.**, v. 45, p. 3738-3742, 1997.

ARTIGO 2

Utilização de mistura de especiarias em maionese visando redução de sódio e incremento de ação antioxidante

**Artigo redigido conforme norma da Revista Journal of medicinal food
 (“versão preliminar”)**

RESUMO

A hipertensão arterial é um problema de saúde pública que trás diversos agravos à saúde, associados principalmente a cardiopatias. Ela está associada à ingestão elevada de sódio proveniente, sobretudo de produtos industrializados, à exemplo da maionese. Isto motivou o desenvolvimento deste trabalho no qual o objetivo foi avaliar a contribuição da adição de mistura de especiarias para a redução do teor de sódio e incremento da atividade antioxidante em maionese. Foram desenvolvidas sete formulações de maionese com e sem adição de mistura de especiarias e níveis decrescentes da concentração de sódio (na forma de sal de mesa, NaCl). Foi feita a caracterização química (acidez, pH, lipídios, perfil de ácidos graxos) das sete formulações, e também mensurou-se a atividade antioxidante total (AAT), através do método DPPH e sistema β -caroteno/ ácido linoleico, os compostos fenólicos totais, utilizando o reagente Folin-Ciocalteu, carotenoides totais, tocoferóis e TBARS. Os resultados da análise sensorial indicaram boa aceitação da formulação M50 (maionese com redução de 50% do teor de sódio e adição de especiarias) e os resultados das análises químicas mostraram aumento ($p \leq 0,05$) da atividade antioxidante total e do teor de compostos fenólicos, valores esses quatro vezes maiores nas maioneses com adição de especiarias. Sendo assim, a adição da mistura de especiarias contendo limão, manjeriço e orégano, viabilizou redução de 50% do teor de sódio entre as formulações de maionese com adição da mistura e ainda agregou antioxidantes naturais ao produto, que foi relacionada principalmente à presença de compostos fenólicos.

Palavras-chave: Análise sensorial. Compostos fenólicos. Carotenoides. Tocoferóis. Atividade antioxidante.

ABSTRACT

Arterial hypertension is a public health problem which brings several harms to health, associated mainly to heart defects. It is associated to the high intake of sodium coming, above all, from industrialized products, such as mayonnaise. This motivated the development of this work in which the objective was to evaluate the contribution of the addition of mixture of spices for the reduction of sodium content and increase of the antioxidant activity in mayonnaise. Seven formulations of mayonnaise with and without addition of mixture of spices and decreasing levels of the concentration of sodium (as table salt, NaCl) were . The chemical characterization (acidity, pH, lipids, fatty acid profile) of the seven formulations and also the total antioxidant activity (TAA) was measured through the method DPPH and system β -carotene/ linoleic acid, the total phenolic compounds, by utilizing Folin-Ciocalteu reagent, total carotenoids, tocopherols and TBARS. The results of the sensorial analysis indicated a good acceptance of formulation M50 (mayonnaise with a reduction of 50% of the sodium content and addition of spices) and the results of the chemical analyses showed increase ($p \leq 0.05$) of the total antioxidant activity and of the content of phenolic compounds, values four times higher in the mayonnaises with the addition of spices. In this way, the addition of mixtures of spices containing lemon, basil and oregano, made the reduction of 50% of the sodium content viable among the mayonnaise formulation with the addition of mixtures and further added natural antioxidants to the product, which was related mainly to the presence of phenolic compounds.

Keywords: Sensorial analysis. Phenolic compounds. Carotenoids. Tocopherols. Antioxidant activity.

1 INTRODUÇÃO

A maionese é uma emulsão de óleo em água, provavelmente uma das mais consumidas no mundo. Tradicionalmente é elaborada utilizando ovo, vinagre, óleo e sódio, derivado do sal de mesa (NaCl). O teor médio de sódio em maioneses industrializadas é de 1100mg por 100g de maionese, valor considerado alto (DEPREE; SAVAGE, 2001, INFORME TÉCNICO, 2012).

O consumo excessivo de sódio e de alimentos que o contenha é fator importante para a incidência de doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs), a exemplo da hipertensão arterial que afeta aproximadamente 25% da população mundial adulta, prevê-se que em 2025 a prevalência será de 60%. Esta patologia também é o principal fator de risco para doenças cardiovasculares, que por sua vez, é a principal causa mundial de mortalidade (SANTOS 2009).

Estima-se que se o consumo diário de sal (NaCl) for reduzido para 5g, valor preconizado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), os óbitos por acidentes vasculares cerebrais (AVCs) podem diminuir em 15% e as mortes por infarto em 10%, além disso, 1,5 milhões de brasileiros não precisariam de medicação para hipertensão arterial e a expectativa de vida seria aumentada em até quatro anos (SARNO et al., 2009). Visando os benefícios à saúde consequentes da redução do consumo diário de sódio, o Ministério da Saúde Brasileiro definiu metas de redução deste em diversos alimentos industrializados, dentre os quais encontram-se os temperos, caldos, cereais matinais, presunto, salames, margarina, requeijão e a maionese (BRASIL, 2011).

Contudo, sabe-se que apenas reduzir o sódio adicionado aos alimentos não é uma medida eficaz, este tipo de intervenção de alta simplicidade é pouco aceito devido a aspectos culturais e queixas relacionadas à falta de sabor dos alimentos (BORJES et al., 2010), neste sentido, acredita-se que a redução do

sódio combinada a adição de especiarias seja uma forma de garantir a restrição, porém com sabor, o que favorece a aceitação (DALLEPIANE; BÓS, 2007).

As especiarias, além de agentes provedores de características organolépticas, também são fontes naturais de compostos antioxidantes e por isso têm sido apresentadas como alternativa para impactar diretamente na saúde da população por meio da redução dos danos oxidativos causados por radicais livres inibindo, por exemplo, o processo aterosclerótico ao evitar a peroxidação lipídica. De maneira geral, os antioxidantes vêm sendo associados com a redução de risco para coronariopatias e diversas doenças crônicas não transmissíveis associadas ao estresse oxidativo, tais como cânceres, diabetes mellitus, até mesmo o envelhecimento precoce (SINGH et al., 2009; AFONSO; SANT'ANA; MANCINI-FILHO, 2010).

Os compostos antioxidantes presentes nas especiarias são geralmente as vitaminas C, E e pro vitamina A, os minerais zinco e magnésio, e os compostos fenólicos, sendo que os fenólicos constituem os principais representantes desse grupo (NUUTILA et al., 2003; SILVA; NASCIMENTO; MOREIRA, 2007; OCZAN; EREL; HERCK, 2009).

Assim sendo, objetivou-se com este trabalho avaliar sensorialmente e quimicamente os efeitos da adição de mistura de especiarias na redução do teor de sódio e incremento da atividade antioxidante de maionese.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A maionese foi preparada no Laboratório de Nutrição e Dietética do Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA) da Universidade Federal de Lavras (UFLA). A análise sensorial da mesma foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial do DCA/UFLA. As análises microbiológicas foram concretizadas no Laboratório de Microbiologia Geral da Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS), Alfenas-MG. As análises químicas foram realizadas no Laboratório de Biquímica Nutricional do DCA/UFLA, e as análises cromatográficas foram efetivadas no Laboratório de Análise Avançada e Biotecnologia (DCA-UFLA) e Laboratório de Química da Universidade Federal de Viçosa.

2.1 Obtenção da maionese

Foram elaboradas neste trabalho sete diferentes formulações de maionese que consistiram em sete tratamentos. A metodologia utilizada para formulação da maionese foi a descrita por Salgado, Carrer e Danieli (2006), com adaptações. Os ingredientes utilizados foram o óleo de soja (69 g), vinagre de vinho branco (13 g), ovo integral desidratado e pasteurizado (10 g), sal de mesa - NaCl (quando conveniente), mistura de especiarias (quando conveniente) e o açúcar. As adições do sódio (na forma de sal de mesa) e a adição de mistura de especiarias foi em detrimento ao conteúdo de açúcar, perfazendo 100g de ingredientes.

Todos os ingredientes utilizados para elaborar as formulações de maionese deste estudo foram adquiridos no mercado local de Lavras, exceto o

ovo em pó pasteurizado, que foi adquirido no aviário Santo Antônio, cidade de Nepamuceno-MG.

A mistura de especiarias adicionada na maionese foi constituída por 60% de limão (*Citrus limonum*), 25% de manjeriço (*Ocimum basilicum*) e 15% de orégano (*Origanum vulgare*), todos eles desidratados e na forma de pó. Esta mistura de especiarias foi selecionada a partir de degustações e análises químicas de atividade antioxidante total (AAT) realizadas previamente em sete diferentes misturas de especiarias, onde a que se apresentou mais palatável no produto e se destacou com relação a AAT foi a selecionada para ser adicionada a maionese. A quantidade de mistura de especiarias a ser adicionada na maionese (1,5g/100g) foi definida em testes pilotos.

As variações dos sete tratamentos das maioneses (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7) foram em razão da adição ou não de mistura de especiarias e da redução do teor de sódio, que foi feita de forma gradativa em uma escala que variou de 100 a 0% de redução com intervalos de 25% a partir do valor máximo de 1040mg de sódio por 100g de maionese, que é o valor médio encontrado em maionese estabelecidas no mercado. Os T1 e T2 representaram os tratamentos controle, T1 foi constituído por maionese totalmente isenta de sódio (100% de redução de sódio) e sem adição da mistura de especiarias, e o T2 (0% de redução de sódio, ou seja, 1040 mg de sódio/100g de maionese) foi a maionese padrão, sem adição da mistura de especiarias. Os T3, T4, T5, T6 e T7 tiveram a adição padronizada de 1,5g de especiarias por 100g de maionese e redução de sódio de 100, 75, 50, 25 e 0%, respectivamente.

O sódio adicionado nas maioneses foi originado do sal de mesa (NaCl), portanto, foi necessário mensurar a concentração de sódio contido no sal de mesa para, a partir do resultado, calcular a quantidade de sódio (presente no sal de mesa) a ser adicionado nas maioneses. A quantificação do sódio foi realizada conforme metodologia descrita no item 2.4.1 (AOAC, 1990). O resultado foi

igual a 49% de sódio (Na) no sal de mesa analisado, sendo assim, os 1040mg de sódio da maionese correspondem a 2124 mg de sal de mesa (NaCl)/100g de maionese.

A descrição dos tratamentos, codificação e proporções dos ingredientes utilizados para a elaboração das formulações de maionese encontram-se dispostos na Tabela 1.

Tabela 1 Descrição das sete formulações de maionese com adição de especiarias e redução do teor de sódio

| Tratamento | Código | Ingredientes da maionese (g/100) | | | | | | Total (g) | Redução de Na (%) |
|------------|--------|----------------------------------|-----|---------|------|--------|---------------|-----------|-------------------|
| | | Açúcar | Ovo | Vinagre | óleo | NaCl * | Especiarias** | | |
| T1 | C100 | 8,00 | 10 | 13 | 69 | 0,00 | 0 | 100 | 100 |
| T2 | C0 | 5,88 | 10 | 13 | 69 | 2,12 | 0 | 100 | 0 |
| T3 | M100 | 6,50 | 10 | 13 | 69 | 0,00 | 1,5 | 100 | 100 |
| T4 | M 75 | 5,97 | 10 | 13 | 69 | 0,53 | 1,5 | 100 | 75 |
| T5 | M 50 | 5,44 | 10 | 13 | 69 | 1,06 | 1,5 | 100 | 50 |
| T6 | M 25 | 4,91 | 10 | 13 | 69 | 1,59 | 1,5 | 100 | 25 |
| T7 | M 0 | 4,38 | 10 | 13 | 69 | 2,12 | 1,5 | 100 | 0 |

*NaCl = cloreto de sódio, sal de mesa. Considerou-se neste estudo a redução de sódio partindo de 1,04g, equivalente a 2,12g de sal de mesa (NaCl) com teor de 49% de sódio.

**Mistura de especiarias = 65% de limão, 20% de manjeriço e 15% de orégano

Para o preparo das formulações de maionese foi feita inicialmente a homogeneização dos ingredientes ovo, açúcar e vinagre, durante 5 minutos em batedeira industrial com capacidade de 5L, adicionando fios do óleo de soja, até atingir a consistência própria do produto. Por fim, foi adicionado o sal (NaCl) e a mistura de especiarias (quando conveniente) nas proporções apresentadas na Tabela 1.

Após a produção todas as formulações de maioneses foram devidamente refrigeradas à temperatura de 3°C para posterior realização das análises microbiológicas, sensoriais e químicas.

2.2 Análises microbiológicas

a) Preparo das amostras de maionese para análise

Foram retiradas das sete formulações de maioneses 25g de amostras após 5 horas de armazenamento, estas foram inicialmente diluídas em 225 mL de solução salina a 0,85%, formando a diluição 10^{-1} , posteriormente seguiu as diluições decimais sucessivas de 10^{-2} e 10^{-3} , e estas foram utilizadas para as análises.

b) Contagem de coliformes a 35°C e 45°C pelo método do número mais provável

Das diluições citadas anteriormente, foram retiradas alíquotas de 1,0mL e estas foram inoculadas em tubos de ensaio. O meio de cultura empregado foi o caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) em série de 9 tubos para cada amostra, três diluições (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) em triplicata, contendo tubo de Durhan invertido. Todas as amostras foram incubadas a 35,5°C e 45°C por 48 horas. Neste caso não foi preciso realizar o teste confirmativo, pois nenhum dos tubos de Durhan apresentaram a formação de gás (SILVA et al., 2010).

c) Contagem de *Staphylococcus aureus*

Retirou-se de cada diluição alíquota de 0,1 mL e colocou no meio de cultura Agar Baird-Parker (BP), fazendo placas em duplicata. O espalhamento do inóculo na placa foi feito com o auxílio da alça de Drigaslky. As placas foram incubadas e invertidas a 35-37°C/48horas (SILVA et al., 2010). Não houve a formação de colônias.

d) Detecção de *Salmonella*

As análises para detecção de *Salmonella* foram realizadas em quatro etapas, seguindo metodologia proposta por Silva et al. (2010).

- a) Pré-enriquecimento: retirou-se assepticamente 25g da amostra e adicionou-se 225 mL de água peptonada tamponada. Incubou a 35-37°C/24horas.
- b) Enriquecimento seletivo: transferiu, assepticamente, do pré-enriquecimento, alíquotas de 1 mL para 9 mL de caldo selenito-cistina e para 9 mL de caldo de enriquecimento tetracionato verde brilhante. Incubou a 35-37°C/24horas em banho-maria.
- c) Plaqueamento em meio seletivo-indicador: do enriquecimento seletivo foram feitas estrias, com auxílio da alça de platina, nos seguintes meios sólidos: Hektoen e Agar Salmonella-Shigella. Incubou a 35-37°C/24horas;
- d) Triagem das colônias: transcorrido o período de incubação do plaqueamento seletivo, não foi observado o aparecimento de nenhuma colônia suspeita de *Salmonella* em nenhum dos meios sólidos utilizados.

2.3 Análise sensorial

Os testes de aceitação e de intenção de compra das formulações de maionese foram realizados em cabines individuais no laboratório de análise sensorial por 100 provadores não treinados, utilizando-se escala hedônica estruturada de 9 pontos para o teste de aceitação, variando de gostei muitíssimo (nota 9) a desgostei muitíssimo (nota 1), conforme descrito por Piggott (1984), e escala estruturada de 5 pontos para a intenção de compra, variando entre 5

(certamente compraria este produto) e 1 (certamente não compraria este produto). As sete formulações de maionese foram avaliadas pelos 100 provadores em uma única sessão, apresentando-se as amostras balanceadas conforme descrição de Macfie e Bratchell (1989).

Para a degustação das maioneses, formuladas neste estudo, foram utilizados como veículo biscoitos preparados no Laboratório de Nutrição e Dietética da UFLA, constituídos de trigo (67%), água (18%) e óleo (15%).

Na sessão de degustação foi entregue aos provadores uma bandeja contendo sete biscoitos, cada um com amostra de uma das formulações de maionese em quantidade aproximada de 1,5g, codificados aleatoriamente com números de três dígitos e acompanhados de um copo de água, para que fosse utilizada pelo provador entre as amostras, e das fichas para a avaliação do produto.

2.4 Análises químicas

2.4.1 Sódio

Para análise de sódio no sal de mesa (NaCl) foi preparado extrato do mesmo a partir de 0,5g de amostra. O extrato foi digerido com 6 mL de ácido nítrico/perclórico (2:1) em bloco digestor à temperatura final de 250°C. Adicionou-se água destilada ao extrato até o peso final de 15g.

A análise do teor de sódio no sal de mesa foi realizada utilizando-se o espectrômetro de absorção atômica, modelo spectrAA 110, Varian®, calibrado em condições específicas de comprimento de onda, fenda e mistura de gases para o elemento sódio. Para a construção da curva de calibração, foram utilizadas ampolas de padrões para absorção atômica da marca Merck,

devidamente diluídas com água deionizada. A análise foi realizada em triplicata e os resultados expressos em percentual (%) no produto integral (AOAC, 2006).

2.4.2 Caracterização química das formulações de maionese

2.4.2.1 Umidade e extrato etéreo

Para obtenção da umidade e do extrato etéreo das sete formulações de maionese, foram utilizados métodos gravimétricos.

A umidade foi feita de acordo com a metodologia de Pereira et al. (2001), onde placas de petri com areia purificada e um bastão de vidro apoiado na borda do recipiente foram colocados para dessecar em estufa a 105°C por 1 hora e foram deixadas para esfriar em dessecador. Posteriormente, aproximadamente 5g de amostra foram pesadas direto no recipiente. O material foi dessecado em estufa a 105°C até estabilização do peso. O resultado foi dado em % de umidade.

Para quantificação do extrato etéreo seguiu metodologia proposta por Wehr e Frank (2004) utilizando 30g de amostra de maionese liquefeita com 30mL de água destilada. Transferiu-se o material para funil de separação de 250mL e adicionou-se 5mL de hidróxido de amônio, agitando por 3 minutos. Logo após adicionou-se 20mL de éter de petróleo, agitando por 1 minuto. Permaneceu em repouso por 1 hora para separação das camadas. A camada inferior foi descartada e o processo de extração foi repetido por mais duas vezes, ao final do processo, depois de descartar a parte inferior, a parte superior foi filtrada com funil contendo papel de filtro Whatman n° 2 e 2,5g de sulfato de sódio anidro em béquer de 100mL previamente tarado. O extrato foi evaporado em capela de exaustão e posteriormente a gordura foi seca em estufa por 16 horas à 55°C. Pesou-se o béquer após esfriar em dessecador. O resultado foi dado em porcentagem (%) de gordura na matéria seca.

2.4.2.2 pH e acidez titulável

O potencial hidrogeniônico (pH) das formulações de maionese foi medido utilizando-se o pHmetro portátil marca Ingold, modelo pH206.

A acidez titulável de cada uma das sete formulações de maionese foi determinada conforme a metodologia descrita pela AOAC (1992), por titulação com hidróxido de sódio (NaOH) 0,1N. Foi preparado extrato com 5g de amostra em 50mL de água destilada e, após 10 minutos de agitação em agitador magnético o extrato foi filtrado em papel de filtro Whatman nº 2 e alíquota de 5mL do sobrenadante foi retirado e colocado em erlenmeyer de 250mL com mais 45mL de água destilada e 3 gotas de indicador fenolftaleína (1%), para que fosse possível observar a virada de cor ao adicionar o NaOH 0,1N. Os resultados foram expressos em percentual de ácido acético, que foi o ácido adicionado na produção de maionese.

2.4.2.3 Perfil de ácidos graxos

Os ácidos graxos das sete amostras de maionese foram extraídos de acordo com a metodologia proposta por Folch, Lees e Stanley (1957). Para tanto, homogeneizou-se 5 gramas de amostra com 50 mL de solução clorofórmio/metanol (2:1) mais butilhidroxitolueno ($0,025\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) por aproximadamente 3 minutos em politron na velocidade média. Após homogeneização, procedeu à filtração da amostra utilizando filtros semi-qualitativos (de filtração rápida), transferindo-se o filtrado ao funil de separação (500 mL), ao qual foram acrescentados 10 mL de solução de cloreto de potássio (KCl 0,72%). Após agitação manual, a solução permaneceu em repouso por 8 horas. Após o repouso foi observada a formação de duas fases com diferentes

polaridades (polar e apolar), a parte polar foi descartada do funil de separação, restando apenas a parte apolar. À parte remanescente foram acrescentados 6 mL de solução de cloreto de potássio (KCl 0,72%), permanecendo em repouso por mais 8 horas. Após esse período, novamente foi descartada a parte polar, recolhendo-se a parte apolar em balão volumétrico de 50mL, completado o volume com clorofórmio.

Para etapa de esterificação foi utilizado 5 mL da solução obtida na etapa anteriormente descrita. Os 5mL de solução foram transferidos para tubos falcon e o clorofórmio foi evaporado em banho-maria (45-55°C) com nitrogênio gasoso. Após a evaporação, foram adicionados 4 mL de NaOH 0,5M em metanol, levando, na sequência, a amostra ao banho fervente por 5 minutos. O material foi resfriado em banho de gelo e foram adicionados 5 mL de reagente esterificante, levando novamente para o banho fervente por 5 minutos com posterior resfriamento em banho de gelo. Após resfriamento, foram adicionados 4 mL de NaCl saturado e 5 mL de hexano. Deixando-se os sistemas em repouso por 10 minutos. A parte sobrenadante foi recolhida para frasco âmbar. Evaporou o hexano com nitrogênio gasoso em banho-maria a 45-55°C (FOLCH; LEES; STANLEY, 1957).

- Condições Cromatográficas

A identificação e quantificação dos ácidos graxos foi realizada em Cromatógrafo a gás modelo CG – 17 A Detector de Chama (FID), marca Shimadzu. Para registro e análise dos cromatogramas, o aparelho foi acoplado a um microcomputador, utilizando-se o programa GC Solution. Os compostos foram separados e identificados em uma coluna capilar Carbowax (30 m x 0,25 mm).

Foi injetado no cromatógrafo 1 μL da amostra com auxílio de seringa de 10 μL (Hamilton[®]) em sistema Split. O gás Nitrogênio foi utilizado como carreador com velocidade linear programada para 37,8 cm/s.

As temperaturas do injetor e do detector foram controladas em 220°C e 240°C. A temperatura inicial da coluna foi de 200°C (mantida por 2 minutos), aumentando em 4°C por minuto até atingir 240°C, totalizando 20 minutos de análise. O fluxo do gás de arraste na coluna foi de 1,0 mL/minuto.

A identificação dos compostos foi realizada através do tempo de retenção do padrão correspondente, foi utilizado o supelco 37 component fame mix chromatogram.

2.4.3 Atividade antioxidante total

A atividade antioxidante total das sete formulações de maionese foi determinada utilizando-se dois métodos distintos: método do sequestro do radical 2,2- difenil,1picril-hidrazil (DPPH), realizado de acordo com metodologia proposta por Brand-Wiliams; Cuvelier e Berset (1995) (com adaptações) e método do sistema β -caroteno/ácido linoleico, realizado conforme metodologia proposta por Rufino et al. (2006), sendo o primeiro método de análise de caráter predominantemente hidrofílico e o segundo lipofílico.

- Preparo dos extratos

Os extratos foram preparados com 12 g da amostra *in natura* utilizando três diferentes solventes, metanol absoluto, acetonitrila e hexano, adicionados na quantidade de 30 mL, 10 mL e 15 mL, respectivamente. Cada solvente era deixado em contato com a amostra por aproximadamente de 10 minutos, em seguida o sobrenadante era retirado e reservado ao abrigo da luz. A mistura de solventes foi evaporada em rotavapor até volume aproximado de 4 mL, filtrado

em papel filtro Whatman nº 2, e o volume completado para 25 mL com metanol absoluto conforme Longoberdi et al. (2012), com adaptações.

Para determinação da AAT pelo método do sequestro do radical livre DPPH, foi adicionado 0,1 mL do extrato de cada uma das sete amostras de maionese a 3,9 mL de solução de DPPH. As leituras foram realizadas após 40 minutos em espectrofotômetro a 515 nm e os resultados expressos em percentual de inibição de oxidação de radicais livres (% inibição de oxidação), conforme equação a seguir:

$$\% \text{ Inibição} = (Ac - Am).100/Ac \quad \text{em que:}$$

Ac = absorbância do controle

Am = absorbância da amostra

Para determinar a AAT pelo método sistema β -caroteno/ácido linoleico foram adicionados 0,4 mL de extrato a 5 mL de solução sistema, sendo as leituras realizadas no tempo 2 minutos e 120 minutos em espectrofotômetro a 470 nm e os resultados expressos em percentual de inibição da oxidação do β -caroteno (% Inibição de oxidação).

$$\% \text{ Inibição} = (Ac - Am).100/Ac$$

Ac = absorbância inicial do controle – absorbância final do controle

Am = absorbância inicial da amostra – absorbância final da amostra.

2.4.4 Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais foram mensurados conforme o método desenvolvido por Waterhouse (2002), com a utilização do reagente de Folin-

ciocalteu. Este é um método caracteristicamente colorimétrico, o azul produzido pela redução do reagente Folin-ciocalteu pelos fenólicos é medido espectrofotometricamente, na faixa de absorção de 750 nm. O extrato para análise de compostos fenólicos totais foi preparado conforme descrito no item 2.4.3.

Foram adicionados 0,5mL de extrato de cada amostra de maionese aos tubos contendo 2,5 mL de solução de Folin-Ciocalteu 10% (v/v). Em seguida, foram adicionados 2 mL de solução de carbonato de sódio 4% (v/v), com posterior agitação dos tubos em vortex e repouso, por 120 minutos, ao abrigo da luz. A cor azul produzida pela redução do reagente Folin-Ciocalteu pelos fenólicos foi medida espectrofotometricamente, na faixa de absorção de 750 nm. O cálculo do teor de compostos fenólicos totais nas sete formulações de maioneses foi realizado a partir da determinação da equação de regressão obtida da curva padrão do ácido gálico. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico por 100 g da amostra (mg AGE/100g⁻¹).

2.4.5 Carotenoides totais

A análise de carotenoides totais foi realizada seguindo metodologia proposta por Rodriguez-Amaya e Kimura (2004). Foi pesado em beckeres 1g das amostras de cada formulação de maionese com três repetições, adicionado de 1g de kisselgur e 50 mL de acetona, deixando em repouso por 30 minutos. Posteriormente, os extratos foram filtrados em papel de filtro Whatman (nº 2) e lavados 3 vezes com aproximadamente 30 mL de acetona. Após a filtragem, o volume final total do extrato foi adicionado em funil de separação, onde já havia 30 mL de água destilada e 30 mL de éter de petróleo.

O material do funil de separação foi lavado 3 vezes com 100 mL de água destilada, para remover a acetona residual, tomando o cuidado para não

descartar a parte lipossolúvel do extrato (disposta na porção superior). O material que permaneceu no funil de separação (extrato mais éter de petróleo) conservou-se durante período de 8 horas para separação.

No dia seguinte foi recolhida a fase com éter de petróleo em balão volumétrico de 50 mL, deixando a solução passar por um pequeno funil com algodão e sulfato de anidro, aproximadamente 15g, para remover o resíduo de água (Figura 1). O volume foi completado com éter de petróleo a leitura realizada no espectrofotômetro com comprimento de onda de 450 nm. Por vezes foi necessário concentrar ou diluir a solução de carotenoides para atingir absorvância ideal (mínimo de 0,2 e máximo de 0,8).

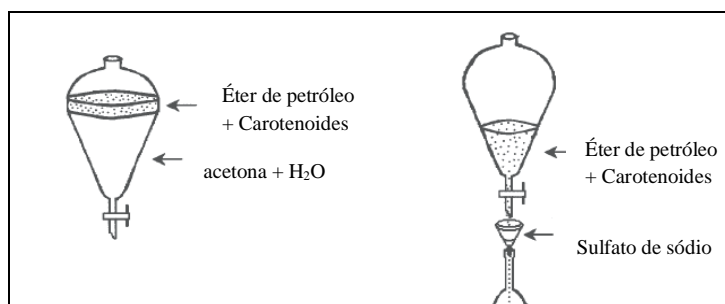


Figura 1 Ilustração da separação de éter de petróleo da análise de carotenoides totais em funil de separação. Fonte: Rodriguez-Amaya e Kimura (2004)

A concentração de carotenoides totais ($\mu\text{g/g}$) foi calculada utilizando a fórmula:

$$\text{Carotenoides} = \frac{A \times \text{volume (mL)} \times 10^4}{A^{1\%}_{1\text{cm}} \times \text{peso da amostra (g)}}$$

Onde A = absorvância, volume = volume total de extrato (50 mL);
 $A^{1\%}_{1\text{cm}}$ = coeficiente de absorção de β -caroteno em éter de petróleo (2592).

2.4.6 Tocoferóis

A análise de tocoferóis foi realizada por meio de cromatografia gasosa (CG) e para tanto foram utilizados 100mg de óleo das sete formulações de maionese extraídos conforme metodologia proposta por Folch; Lees e Stanley (1957), descrita no item 2.4.2.3.

Em tubos de ensaio com rosca foram adicionados os 100mg de óleo das amostras de maionese juntamente com 500mg de ácido ascórbico, para evitar a oxidação da amostra. Adicionou-se 5mL de etanol 90% e 0,5mL de hidróxido de potássio aquoso a 80% e agitou-se por 30 segundos. Os tubos fechados foram encubados em banho maria por 30 minutos à 70°C com agitação periódica. Posteriormente os tubos foram levados ao banho de gelo por 5 minutos e nestes foram adicionados 5mL de água deionizada e 5mL de n-hexano, agitou-se por 5 minutos em vortex. O material foi centrifugado por 10 minutos a 1000xg em temperatura ambiente. A fase superior com hexano foi transferida para outro tubo para evaporar e secar sobre o fluxo de nitrogênio (WROLSTAD, 2003).

- Condições cromatográficas

Foi adicionado 0,01mL da fase móvel em tubo de ensaio, juntamente com o extrato, e o tubo foi agitado por 30 segundos para dissolver o extrato, foi injetados 20µL da amostra. A coluna utilizada foi a Supelcosil LC-SI (250 x 4,6mm), a fase móvel utilizada foi etil/acetato/ácido acético/hexano (1:1:98, v/v/v) com fluxo de 1,5mL/minuto. A detecção foi monitorada a 295 nm.

A indentificação foi feita pela comparação dos tempos de retenção de padrões puros e quantificados com base na área de picos desconhecidos com os padroes puros (α -tocoferol, β -tocoferol, γ -tocoferol, δ - tocoferol, todos da marca sigma).

2.4.7 Determinação de Oxidação lipídica – TBARS

A oxidação lipídica é um fenômeno espontâneo e inevitável, com uma implicação direta no valor nutricional quer dos lipídeos, quer de todos os produtos que a partir deles são formulados.

O teste do ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), também conhecido como índice de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), consiste em detectar por espectrofotômetro a 531 nm o complexo de coloração amarelada formado pela condensação de dois moles do ácido 2-tiobarbitúrico com um mol de malonaldeído.

Para análise foram pesados 5g de cada formulação de maionese, com três repetições, e adicionou 40 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 5% mais 1 mL de BHT 0,15% (etanol), homogeneizou por 1 minuto. Posteriormente o material foi filtrado e o volume completado para 50mL, em balão volumétrico, com TCA 5%. Retirou-se 2mL do balão volumétrico e adicionou em tubo de ensaio em triplicata com 2mL de TBA 0,08M em ácido acético 50%. Homogeneizou e em seguida levou os tubos ao banho-maria fervente por 5 min. Após resfriar, foi realizada as leituras das amostras em espectrofotômetro à 531nm (VYNCKE, 1970).

Os valores de leitura obtidos foram multiplicados pelo fator 7,38 e os resultados expressos em miligramas de malonaldeído por quilo de amostra (mg MA.kg⁻¹).

2.5 Análises estatísticas

O delineamento experimental deste estudo foi o inteiramente casualizado (DIC). Os resultados do teste de aceitação e intenção de compras,

assim como os resultados das análises químicas, das sete formulações de maioneses foram submetidos à análise de variância seguida pelo teste de média Sckott Knott ao nível de 5% de significância no software SISVAR versão 5.3 (FERREIRA, 2008). Realizou-se também a representação gráfica dos componentes principais das médias das notas do teste de aceitação para possibilitar a visualização condensada dos mesmos e explorar a associação entre variáveis e tratamentos, a análise foi efetivada no Softwer Senso Maker (Nunes e Pinheiro, 2012). A análise correlação de Pearson foi feita entre compostos fenólicos totais x atividade antioxidante total (DPPH e β -caroteno/ácido linoleico) x carotenoides, utilizando Software Statistical Packge for Social Sciences (SPSS – versão 20).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado da análise de sódio (Na) no sal de mesa (NaCl) indicou que este continha 49% de sódio, ou seja, cada 1g de NaCl continha 0,49 g de Na.

3.1 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas de coliformes totais, *Staphylococcus aureus* coagulase gram positiva e *Salmonella* foram realizadas previamente à degustação das formulações de maionese com intuito de garantir a segurança microbiológica das mesmas.

Na análise de coliformes fecais, realizada com três diluições (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) e em triplicata não foi observada a formação de gases nos tubos de ensaio, ou seja, não existem coliformes nas amostras.

Nas três placas de petri com meio de cultura Agar Baird-parker (BP) não houve a formação de colônias de *Staphylococcus aureus*. A análise foi realizada para as sete amostras de maionese e em com três diluições (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}).

As placas de petri com meio de cultura Hektoen e Agar *Salmonella-Shigella*, não apresentam nenhuma colônia de bactéria, indicando que as amostras de maionese encontravam-se isentas de *Salmonella*.

Sendo assim, diante os resultados das análises microbiológicas, foi possível assegurar que as sete formulações de maionese encontravam-se microbiologicamente seguras para o consumo humano.

3.2 Análise sensorial

As médias dos resultados do teste sensorial para a aceitação das sete formulações de maionese com relação aos atributos aparência, aroma, sabor, impressão global, e as médias para intenção de compra, estão dispostos na Tabela 2 e a análise dos componentes principais das mesmas encontram-se disposta na Figura 2.

Tabela 2 Valores médios das notas do Teste de Aceitação (9=gostei muitíssimo e 1=desgostei muitíssimo) e do Teste de Intenção de Compras (5=certamente compraria e 1=certamente não compraria) das formulações de maionese com redução de sódio e adição de especiarias

| Tratamento | Código | Redução Na (%) [*] | Especiarias (g) ^{**} | Aceitação | | | Intenção de compra | |
|------------|--------|-----------------------------|-------------------------------|-------------------|-------|-------------------|--------------------|-------------------|
| | | | | Aparência | Aroma | Sabor | | |
| T1 | C100 | 100 | 0 | 7,21 ^a | 6,32 | 4,81 ^c | 5,60 ^c | 2,73 ^b |
| T2 | C0 | 0 | 0 | 7,26 ^a | 6,70 | 7,08 ^a | 7,14 ^a | 3,90 ^a |
| T3 | M100 | 100 | 1,5 | 6,56 ^b | 6,14 | 4,57 ^c | 5,16 ^c | 2,40 ^c |
| T4 | M75 | 75 | 1,5 | 6,80 ^b | 6,45 | 5,44 ^c | 5,79 ^c | 2,80 ^b |
| T5 | M50 | 50 | 1,5 | 6,79 ^b | 6,46 | 5,96 ^b | 6,25 ^b | 3,21 ^a |
| T6 | M25 | 25 | 1,5 | 6,94 ^b | 6,47 | 6,01 ^b | 6,30 ^b | 3,28 ^a |
| T7 | M0 | 0 | 1,5 | 5,55 ^b | 6,40 | 5,78 ^b | 6,05 ^b | 3,05 ^a |
| CV% | - | - | - | 23,42 | 19,36 | 25,29 | 25,29 | 21,02 |

* percentual de redução de sódio. Considerou-se neste estudo a redução de sódio partindo de 1,04g, equivalente a 2,12g de sal de mesa (NaCl) com teor de 49% de sódio.

**Mistura de especiarias = 65% de limão + 20% de manjerição + 15% de orégano.

***IG = Impressão Global. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância

A aceitação para o atributo aparência diferiu ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos e controles, houve menor aceitação das formulações com adição de mistura de especiarias, indicando que a adição da mesma interferiu negativamente neste atributo. Já a aceitação para o atributo aroma foi semelhante para todas as formulações de maionese, não apresentando diferença significativa ($p > 0,05$), o que indica que os degustadores não apresentaram aversão ao aroma

da mistura de especiarias adicionada as mesmas. As médias apresentadas para este atributo variaram entre 6,1 e 6,7, que correspondem à classificação gostei ligeiramente e moderadamente na escala hedônica onde a nota máxima é 9 (gostei extremamente).

A média das notas de aceitação para o atributo sabor das formulações M50, M25 e M0 não diferiram entre si ($p > 0,05$) e foram maiores ($p \leq 0,05$) do que a média para o controle sem adição de sódio (C100), indicado que a redução de até 50% do teor de sódio na formulação M50 não reduziu a aceitação dos provadores em comparação a M0, que não teve redução do sódio. No espaço para comentários da ficha de avaliação sensorial, alguns degustadores mencionaram que as formulações de maionese com adição de especiarias apresentavam sabor amargo. Foi verificado que o limão da mistura de especiarias provocou gosto ligeiramente amargo e esse fato pode ter sido determinante para redução da média da nota para os atributos sabor e impressão global.

Na impressão global o provador faz uma análise geral de todos os atributos sensoriais perceptíveis da amostra e nesse caso houve preferência pela amostra controle, sem redução de sódio e sem adição de especiarias (C0, $p \leq 0,05$), seguida pelas formulações M50, M25 e M0, que apresentaram média significativamente maior que as formulações de maionese com 100% de redução de sódio. A análise geral dos resultados para todos os atributos sensoriais avaliados indicaram que as formulações de maionese M100 e C100 (maioneses com 100% de redução de sódio) não foram bem aceitas, ou seja, a redução de 100% do sódio restringiu consideravelmente a aceitação dos produtos pelos provadores.

A média das notas para intenção de compra das formulações de maionese controle sem redução de sódio (C0) e dos tratamentos com redução de 50, 25% de sódio e adição de mistura de especiarias (M50 e M25) não diferiram ($p > 0,05$), dentro de uma escala cuja nota máxima é 5. Este resultado foi

satisfatório, pois, avigora a possibilidade de redução em até 50% de sódio na maionese com adição de mistura de especiarias.

A ingestão de uma porção de 12g de maionese com 0% de redução do teor de Na (M0), 312mg de Na/12g de maionese, fornece 12% do total de Na a ser consumido ao longo do dia. Já a porção de 12g de maionese com redução de 50% do Na de adição (M50), com 156mg de Na/12g de maionese, fornece 6% do valor diário de Na, ou seja, 6% a menos em comparação com a maionese controle deste estudo.

A representação gráfica dos componentes principais das médias das notas para análise sensorial pode ser observada na Figura 2.

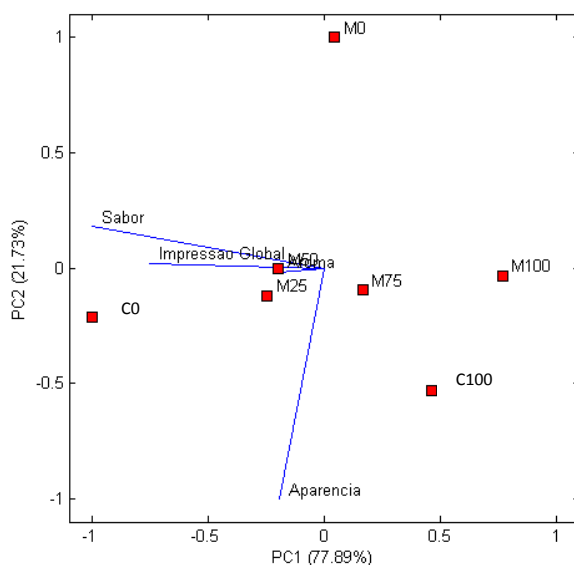


Figura 2 Análise de componentes principais das formulações de maionese e dos atributos avaliados na análise sensorial. C100: maionese controle com 100% de redução de sódio e isenta de mistura de especiarias; C0: maionese controle com quantidade padrão de sódio (1.04g/100g), 0% de redução, e isenta de especiarias; M100, M75, M50, M25, M0: maionese com 100%, 75%, 50%, 25%, 0% de redução de sódio e adição de 1,5g de mistura de especiarias/100g de maionese

Nota-se na Figura 2 que as formulações de maionese com 100% de redução de sódio (C100 e M100) se distanciaram de todos os atributos avaliados, enquanto que as formulações de maionese com redução de 25 e 50% do sódio e adição de mistura de especiarias (M25 e M50), apresentaram-se próximas dos atributos sabor, impressão global e aroma. O mesmo foi observado para a amostra controle sem redução de sódio (C0).

É possível afirmar que a adição da mistura de especiaria na maionese com redução de sódio contribuiu para manter a aceitação dessas para os atributos sabor e impressão global, o que corrobora aos dizeres de Simonetti, Batista e Carvalho (2002) de que, para restrições moderadas e severas de sódio o uso de especiarias contribui para melhorar a palatabilidade do alimento. Desde as civilizações antigas os temperos e as especiarias são amplamente utilizados como agentes provedores de características sensoriais favoráveis aos alimentos aos quais são adicionados. Desta forma, a utilização de substâncias naturais de origem vegetal torna o alimento mais atrativo ao consumidor (BATISTA, CARVALHO, 1999, DALLEPIANE; BÓS, 2007; DOYLE; GLASS, 2010).

Os benefícios sensoriais da adição de misturas de especiarias para redução do sódio adicionado pôde ser observado por Lopes et al. (2014). Foram demonstrados por meio de testes sensoriais que é possível reduzir em até 75% o percentual de sódio de margarina com adição de misturas de especiarias constituída por 40% de cebolinha verde, 35% de alho, 20% de manjerona e de 5% tomilho. Além disso, a maioria dos respondentes do questionário de apelo de

mercado de margarina com redução do teor de sal (NaCl) e adição de especiarias (61,3%) afirmaram que comprariam o produto.

É de suma importância reduzir a ingestão de sódio (sal), ele representa importante fator ambiental envolvido na gênese da hipertensão arterial sistêmica (HAS) e doenças cardiovasculares, além disso, a HAS é comprovadamente fator de risco para uma série de doenças crônicas não transmissíveis. Estudos clínicos e experimentais têm mostrado correlação positiva entre o sal ingerido na dieta, pressão arterial e morbidade por doenças cardiovasculares (RUIVO; HEIMANN, 2003). Não há dúvidas de que a HAS constitui sério problema de saúde pública em todo o mundo, em relação aos dados brasileiros, sua prevalência oscila entre 15 e 20% na população adulta (MONFROI; OLIVEIRA, 2006).

A maionese com redução de sódio e adição de especiarias desenvolvida neste trabalho pode vir a contribuir positivamente na prevenção de tais agravos nos consumidores, já que, estima-se que a maioria de sódio ingerido, 60% à 90%, é originada dos alimentos industrialmente processados (SARNO et al., 2009).

3.3 Análises químicas

3.3.1 Caracterização química

Os resultados referentes à caracterização físico química das formulações de maionese com e sem adição de especiarias e com redução do teor de sódio estão dispostos na Tabela 3.

Tabela 3 Valores médios da composição físico química das sete formulações de maionese com redução do teor de sódio e adição de mistura de especiarias

| Tratamento | Código | Redução Na (%)* | Especiarias (g)** | pH | Acidez | Umidade % | Lipídio (%MS) |
|------------|--------|-----------------|-------------------|-----|-------------------|--------------------|---------------|
| T1 | C100 | 100 | 0 | 3,5 | 0,48 ^b | 16,30 ^a | 95,23 |
| T2 | C0 | 0 | 0 | 3,4 | 0,38 ^b | 16,35 ^a | 95,91 |
| T3 | M100 | 100 | 1,5 | 3,5 | 1,05 ^a | 16,41 ^a | 97,40 |
| T4 | M 75 | 75 | 1,5 | 3,5 | 0,89 ^a | 15,87 ^b | 96,82 |
| T5 | M50 | 50 | 1,5 | 3,6 | 0,93 ^a | 15,25 ^b | 96,91 |
| T6 | M25 | 25 | 1,5 | 3,6 | 0,95 ^a | 16,62 ^a | 96,55 |
| T7 | M0 | 0 | 1,5 | 3,5 | 1,02 ^a | 15,32 ^b | 96,94 |
| CV% | - | - | - | 1,2 | 12,4 | 11,21 | 2,16 |

* percentual de redução de sódio. Considerou-se neste estudo a redução de sódio partindo de 1,04g, equivalente a 2,12g de sal de mesa (NaCl) com teor de 49% de sódio.

**Mistura de especiarias = 65% de limão + 20% de manjericão + 15% de orégano. MS = matéria seca. CV = coeficiente de variação. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância

O pH não variou ($p > 0,05$) entre os tratamentos e foi mantido próximo ao recomendado, que é de 3 a 3,5 (HARRISON; CUNNINGHAM, 1985). Houve diferença significativa para a acidez titulável entre os tratamentos, sendo a acidez maior nas maioneses controle (M100 e M0). A maior acidez nas maioneses controles pode ser em razão do início de um processo de decomposição dos lipídios, que é caracterizado pelo aumento da acidez devido ao aumento de ácidos graxos livres (LUTZ, 1985).

O pH baixo e acidez elevada em todas as amostras é devido ao ácido acético contido no vinagre adicionado nas formulações de maionese. Este ingrediente é utilizado para acidificar a maionese e, desta forma, garantir maior controle microbiológico.

A maionese é um produto com teor de umidade relativamente baixo e elevado teor de gordura, pois, o principal ingrediente adicionado é o óleo, nesse

estudo o óleo de soja, que foi usado na proporção de 69%. Esse fato pode ser observado na Tabela 3. O teor de gordura em maionese tradicional, de acordo com Phillipi (2006), é de 78,67% em matéria integral, valor próximo ao encontrado neste estudo, levando em consideração o teor de umidade.

O perfil e quantificação dos ácidos graxos encontrados nas amostras de maionese estão dispostos na Tabela 4.

Tabela 4 Perfil de ácidos graxos (g/100g) das sete formulações de maionese com redução de sódio e adição de mistura de especiarias

| Ácidos Graxos | | Ácidos graxos em g/100g de lipídio | | | | | | |
|---------------|-------------------|------------------------------------|-------|-------|-------|-------|------|-------|
| | | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T7 |
| | | C100 | C0 | M100 | M75 | M50 | M25 | M0 |
| Palmítico | C _{16:0} | 10,9 | 10,9 | 11,1 | 10,1 | 11,05 | 10,9 | 11,02 |
| Palmitoléico | C _{16:1} | - | 0,11 | - | - | - | - | - |
| Oléico | C _{18:1} | 23,6 | 24,8 | 29,1 | 25,9 | 25,2 | 25,2 | 24,7 |
| Linoléico | C _{18:2} | 52,2 | 52,6 | 52,6 | 52,4 | 52,2 | 52,4 | 52,3 |
| Esteárico | C _{18:0} | 5,5 | 3,9 | 0,23 | 3,9 | 3,9 | 3,8 | 4,1 |
| γ-linolênico | C _{18:3} | 6,24 | 6,43 | 6,37 | 6,3 | 6,2 | 6,2 | 6,3 |
| α-linolênico | C _{18:3} | 0,36 | 0,42 | 0,31 | 0,4 | 0,5 | 0,3 | 0,4 |
| Araquidônico | C _{20:4} | - | 0,40 | 0,24 | 0,27 | 0,3 | 0,2 | 0,4 |
| Total | | 98,8 | 99,56 | 99,95 | 99,27 | 99,35 | 99 | 99,22 |

Não detectado = - T1: maionese controle com 100% de redução de sódio e isenta de mistura de especiarias; T2: maionese controle com quantidade padrão de sódio (1.04g/100g), 0% de redução, e isenta de especiarias; T3, T4, T5, T6 e T7: maionese com 100%, 75%, 50%, 25%, 0% de redução de sódio e adição de 1,5g/100g de mistura da especiarias

Os ácidos graxos identificados foram apresentados em quantidades próximas para todas as formulações de maionese e o ácido graxo predominante foi o linoleico, em média 52,3%. Considerando que as maioneses desse estudo apresentaram em média 96,5% de gordura em matéria seca (Tabela 4), pode-se afirmar que elas são boa fonte do ácido linoléico, que é um ácido graxo polinsaturado essencial ao ser humano.

O ácido graxo oleico também está presente em grandes proporções nas formulações de maionese, é o segundo ácido graxo predominante, representando em média 25,5% do total de ácidos graxos. Esses dois ácidos graxos, linoleico e oleico, são os predominantes no óleo de soja (VIEIRA; CABRAL; PAULA, 1999), que foi o ingrediente utilizado em maior quantidade na elaboração das formulações maioneses, indicando que tais ácidos graxos foram derivados principalmente desse óleo.

O perfil de ácidos graxos do óleo de soja, de acordo com Phillipi (2006), é de 57,9% de ácidos graxos poliinsaturados, 23,3% de ácidos graxos monoinsaturados, 14,4% de ácidos graxos saturados, valores muito próximos aos encontrados nesse estudo, que foram de 59,2%, 25,6% e 13,9%, respectivamente.

O ácido linoleico (ω 6) é de grande importância para o organismo do ser humano, ele participa de diversas ações, tais como, funções cerebrais, transmissão de impulsos nervosos, transferência do oxigênio atmosférico para o plasma sanguíneo, síntese da hemoglobina e divisão celular, sendo denominado essencial por não ser sintetizado pelo organismo (MARTIN et al., 2006).

O ácido graxo insaturado oleico não é essencial, porém, ele desempenha funções importantes no organismo, como a expressão de diversos genes em linfócitos B, fatores de transcrição, proteínas quinases envolvidas na sinalização celular e síntese de DNA (HATAKANA; CURI, 2007).

3.3.2 Atividade antioxidante total e compostos antioxidantes

A mistura de especiarias adicionada na maionese não contribui para melhorar o perfil de ácidos graxos das formulações de maionese, entretanto, as especiarias são reconhecidas por apresentarem mistura complexa de substâncias naturais bioativas com capacidade antioxidante (NUUTILA et al., 2003;

OCZAN; EREL; HERCK, 2009). Sendo assim, a atividade antioxidante total (AAT) das formulações de maioneses foi investigada e os resultados obtidos através do método DPPH estão apresentados no Gráfico 1.

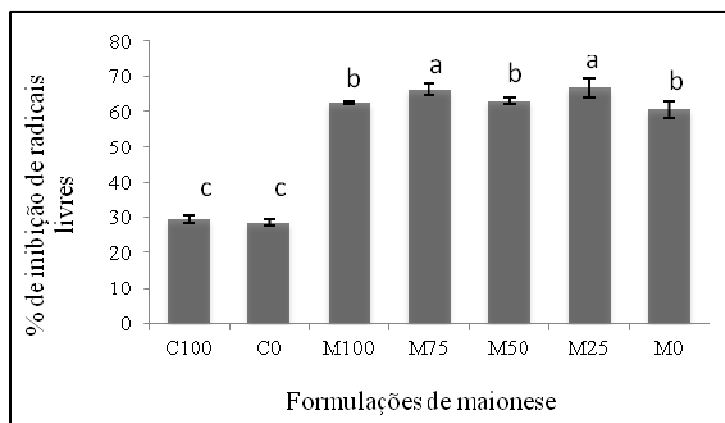


Gráfico 1 Representação dos valores médios da atividade antioxidante pelo método DPPH em % de inibição utilizando extrato na concentração de 48mg/mL. C100: maionese controle com 100% de redução de sódio e isenta de mistura de especiarias; C0: maionese controle com quantidade padrão de sódio (1,04g/100g de maionese), 0% de redução, e isenta de especiarias; M100, M75, M50, M25, M0: maionese com 100, 75, 50, 25 e 0% de redução de sódio e adição de 1,5g de mistura da especiarias/100g de maionese. Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância

Observou-se diferença ($p \leq 0,05$) da atividade antioxidante total entre os grupos controles (C100 e C0) e os tratamentos (M100, M75, M50, M25 e M0) contendo mistura de especiarias, sendo a atividade antioxidante total significativamente maior nas maioneses com adição de mistura de especiarias. A atividade antioxidante de cada formulação, em ordem crescente, foi $C0 < C100 < M0 < M100 < M50 < M75 < M25$, sendo os valores em % de inibição de radicais livres iguais a 28,57; 29,5; 60,57; 62,41; 63,01; 66,33; 66,57; respectivamente.

Ficou evidente que a adição da mistura de especiarias nas formulações de maionese contribuiu de forma positiva para elevar significativamente a atividade antioxidante total das mesmas.

Para mensurar a provável AAT derivada dos compostos lipofílicos foi empregado o sistema β -caroteno/ácido linoleico, os resultados estão apresentados no Gráfico 2.

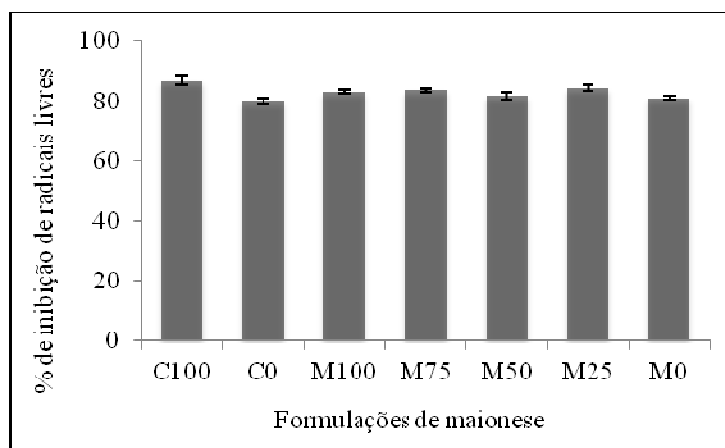


Gráfico 2 Representação dos valores médios da atividade antioxidante pelo método β -caroteno-ácido/linoleico em % de inibição para 12g de amostra. C100: maionese controle com 100% de redução de sódio e isenta de mistura de especiarias; C0: maionese controle com quantidade padrão de sódio (1,04g/100g), 0% de redução, e isenta de especiarias; M100, M75, M50, M25, M0: maionese com 100, 75, 50, 25 e 0% de redução de sódio e adição de 1,5g de mistura da especiarias/100g de maionese. Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância

Foi detectada atividade antioxidante pelo sistema β -caroteno/ ácido linoleico, porém, não foi observada diferença ($p \leq 0,05$) entre os controles e tratamentos, inferindo que a atividade antioxidante mensurada por este método foi derivada principalmente de compostos lipofílicos de ingredientes que foram

utilizados em todas as formulações de maionese e nas mesmas proporções, por exemplo, óleo de soja e ovo de galinha desidratado e pasteurizado.

As análises de compostos fenólicos totais e carotenoides totais foram realizadas a fim de quantificar os mesmos e correlacionar com os resultados das análises de AAT (método DPPH e sistema β -caroteno/ácido linoleico).

O teor de compostos fenólicos totais nas formulações de maionese são apresentados no Gráfico 3 em $\text{mg AGE}/100\text{g}^{-1}$.

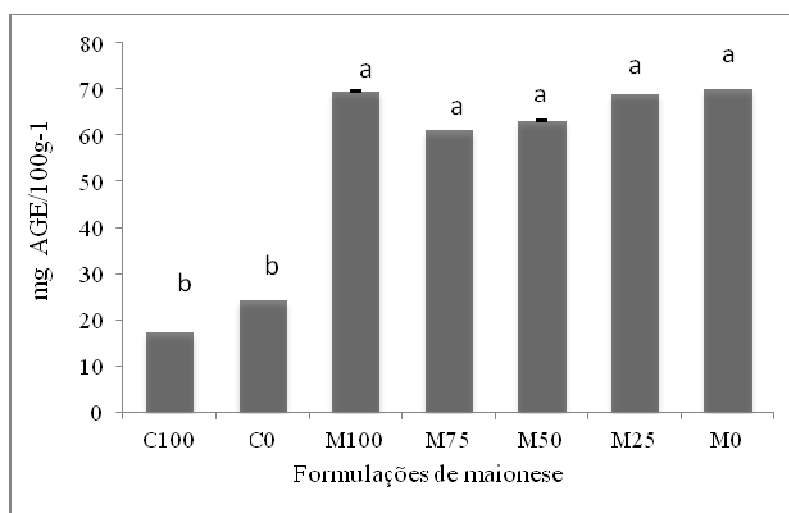


Gráfico 3 Valores médios de compostos fenólicos ($\text{mg AGE}/\text{g}^{-1}$) nos extratos etanoicos das formulações de maionese. C100: maionese controle com 100% de redução de sódio e isenta de mistura de especiarias; C0: maionese controle com quantidade padrão de sódio ($1,04\text{g}/100\text{g}$), 0% de redução, e isenta de especiarias; M100, M75, M50, M25, M0: maionese com 100, 75, 50, 25 e 0% de redução de sódio e adição de $1,5\text{g}$ de mistura da especiarias/ 100g de maionese. Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância

É possível observar que houve aumento significativo do teor de compostos fenólicos nas formulações de maionese com adição da mistura de

especiarias (M100, M75, M50, M25 e M0) em detrimento aos controles (C100 e C0), tendo os tratamentos com adição de mistura de especiarias apresentado concentração de compostos fenólicos 4 vezes maior em relação aos controles.

A ordem crescente para a concentração de compostos fenólicos nas formulações de maionese foi C100, C0, M75, M50, M100, M25 e M0, respectivamente, sendo as médias das concentrações iguais a 0,17; 0,24; 0,61; 0,63; 0,69; 0,69; 0,71.

As especiarias que constituíram a mistura adicionada nas formulações de maionese, o limão, manjericão e orégano, são reconhecidas por conterem de média a alta concentração de compostos fenólicos. Para o limão, foi descrito teor de 0,463 mgAGE/g⁻¹ (RAMFUL et al., 2011), e os compostos fenólicos, dessa especiaria, que apresentam considerável atividade antioxidante são a catequina, epicatequina, ácido vanílico, miricetina, campferol e naringenina (SOMANNO; KARFIN; KERVEN, 2013; BELITZ; GROSCH, 2004). No orégano a concentração de compostos fenólicos é de 28.800 mgAGE/g⁻¹ (AMAROWICZ et al., 2009), e os principais compostos presentes são o terpineol e timol (OLMEDO; NEPOTE; GROSSO, 2013)

O manjericão contém valor considerável de compostos fenólicos, 98,5 mgAGE/g¹ (DORMAN; HILTUNEN, 2011) e os compostos fenólicos responsáveis pela atividade antioxidante do manjericão estão presentes em ácidos fenólicos, como o ácido rosmarínico, derivado do ácido caféico (MELO et al., 2006). Os autores Del Ré e Jorge (2012) descreveram a presença de outros compostos presentes nos extratos de manjericão, em particular eugenol, timol e carvacrol, que são potentes antioxidantes naturais capazes de inibir a oxidação comparável aos antioxidantes conhecidos, BHT e β-tocoferol. Essas informações reafirmam a consideração de que o teor de compostos fenólicos na formulações de maionese (M100, M75, M50, M25 e M0) foi incrementado devido a adição da mistura de especiarias.

Com relação aos carotenoides, esses são substâncias de alta capacidade antioxidante com característica predominantemente lipofílica (FAULKES; SOUTHON, 2005). Eles foram investigados neste estudo a fim de avaliar a associação desses com a atividade antioxidante total. Os teores médios de carotenoides nas formulações de maionese encontram-se no Gráfico 4.

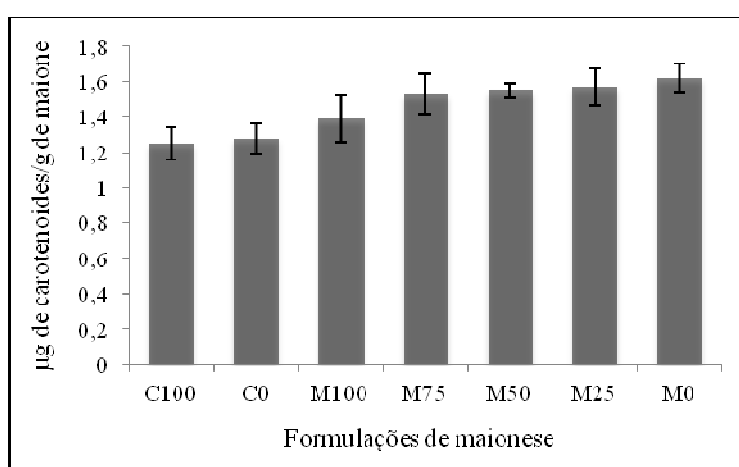


Gráfico 4 Valores médios da concentração de carotenoides totais das formulações de maionese em µg/g. C100: maionese controle com 100% de redução de sódio e isenta de mistura de especiarias; C0: maionese controle com quantidade padrão de sódio (1,04g/100g), 0% de redução, e isenta de especiarias; M100, M75, M50, M25, M0: maionese com 100, 75, 50, 25 e 0% de redução de sódio e adição de 1,5g de mistura da especiarias/100g de maionese. Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância

Mesmo sendo em níveis baixos, foi detectada a presença de carotenoides nas formulações de maionese, contudo, não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos, o que infere que este composto foi derivado de ingredientes utilizados no preparo de todos os tratamentos e na mesma proporção. Conforme descrito na metodologia, os ingredientes padrões para elaboração da maionese foram: óleo de soja, ovo de galinha desidratado e

pasteurizado, vinagre e açúcar. Portanto, é provável que os carotenoides sejam oriundos do óleo de soja e dos ovos. De acordo com Soares et al. (2004), o teor de carotenoides presente em óleo comercial é de 0,71 µg/g. Estudo realizado por Sommerburg et al. (1998) revela que a gema dos ovos contem altos teores de luteína e zeaxantina, dois carotenoides.

Os carotenoides, dado essa função antioxidante, têm sido associados à prevenção de neoplasias, ao aumento da atividade do sistema imunológico, prevenção de envelhecimento precoce, além de estarem relacionados à prevenção da maioria das doenças crônicas não transmissíveis, tais como cardiopatias, diabetes melitus (KAUR; KAPOOR, 2001; TAPIERO et al., 2004; LIMA et al., 2012).

Na Tabela 5 é possível visualizar a análise de correlação entre os dados da AAT (DPPH e Sistema β-caroteno/ácido linoleico), compostos fenólicos totais e carotenoides totais.

Tabela 5 Análise de correlação de Pearson entre resultados para atividade antioxidante total (DPPH e Sistema β-caroteno/ácido linoleico), compostos fenólicos e carotenoides das formulações de maionese

| | Compostos Fenólicos | Sistema β-caroteno | DPPH | Carotenoides Totais |
|---------------------|---------------------|--------------------|---------|---------------------|
| Compostos fenólicos | 1 | 0,623* | 0,903** | 0,192 |
| Sistema β-caroteno | 0,623* | 1 | 0,253 | 0,853** |
| DPPH | 0,903** | 0,253 | 1 | 0,268 |
| Carotenoides totais | 0,192 | 0,853** | 0,268 | 1 |

* Correlação significativa ao nível de 0,05 **Correlação significativa ao nível de 0,01

A análise de correlação de Pearson indicou que existe correlação positiva forte ($p \leq 0,01$) entre compostos fenólicos e a atividade antioxidante total mensurada pelo método DPPH, e também correlação positiva forte ($p \leq 0,01$)

entre carotenoides totais e atividade antioxidante total mensurada pelo método β -caroteno/ácido linoleico.

Comparando os resultados da AAT pelo método de sequestro de radicais livres DPPH (Gráfico 1) com a AAT pelo sistema β -caroteno/ácido linoleico (Gráfico 2), e considerando a forte correlação positiva destes resultados com os compostos fenólicos totais (Tabela 5), pode-se afirmar que a maior atividade antioxidante para as formulações M100, M76, M50, M25 e M0, foi derivada da adição de especiarias nas mesmas e os antioxidantes da mistura de especiarias têm caráter principalmente hidrofílico (a exemplo dos compostos fenólicos totais).

A forte correlação positiva entre AAT pelo sistema β -caroteno/ácido linoleico e carotenoides totais reafirma que a capacidade antioxidante mensurada neste sistema é derivada principalmente de substâncias com caráter lipofílico.

A vitamina E, termo genérico utilizado para designar diferentes compostos nomeados α , β , γ e δ (alfa, beta, gama e delta) tocoferóis e tocotrienóis, está contido na maioria dos óleos vegetais e em quantidades variáveis nas especiarias, sendo importantes antioxidantes que auxiliam na prevenção de rancidez oxidativa (VACLAVIK; CHRISTIAN, 2003). Por isso os tocoferóis foram quantificados nas formulações de maionese, os resultados estão dispostos na Tabela 6.

Tabela 6 Teor médio de tocoferóis nas formulações de maionese com redução do teor de sódio e adição de mistura de especiarias

| Tratamentos | Códigos | Redução Na (%) [*] | Especiarias (g) ^{**} | Variáveis (mg/kg ⁻¹) | | |
|-------------|---------|-----------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-------------|-------------|
| | | | | α-tocoferol | δ-tocoferol | γ-tocoferol |
| T1 | C100 | 100 | 0 | 0,67 | 26,63 | 474,12 |
| T2 | C0 | 0 | 0 | 0,66 | 27,13 | 463,01 |
| T3 | M100 | 100 | 1,5 | 0,73 | 25,41 | 453,75 |
| T4 | M75 | 75 | 1,5 | 0,68 | 24,96 | 464,58 |
| T5 | M50 | 50 | 1,5 | 0,71 | 25,91 | 473,51 |
| T6 | M25 | 25 | 1,5 | 0,67 | 26,01 | 463,73 |
| T7 | M0 | 0 | 1,5 | 0,66 | 25,96 | 469,08 |

* percentual de redução de sódio. Considerou-se neste estudo a redução de sódio partindo de 1,04g, equivalente a 2,12g de sal de mesa (NaCl) com teor de 49% de sódio.

**Mistura de especiarias = 65% de limão, 20% de manjeriço e 15% de orégano

Os valores de tocoferóis encontrados nas sete formulações de maionese foram bastante próximos entre si, indicando que a mistura de especiarias não contribuiu para o aumento de tocoferóis na maionese e que os tocoferóis detectados foram derivados dos ingredientes utilizados para o preparo das maioneses, provavelmente do óleo de soja e ovo de galinha desidratado.

Estudos mostram que os diferentes tipos de óleos são importantes fontes de tocoferóis. O óleo de buriti, por exemplo, em estudo realizados por Albuquerque et al. (2005) apresentou 800 mg/kg⁻¹ de tocoferóis em sua composição. Sanibald e Filho (2002) citaram valor igual a 603 mg/kg⁻¹ para óleo de girassol, que é um valor próximo a média encontrada para os tocoferóis nas maioneses (505 mg/kg⁻¹).

Com relação ao perfil de tocoferóis, o γ-tocoferol foi o predominante nas sete formulações de maionese, este também corresponde ao principal tocoferol presente no óleo de soja (GUINAZI; PINHEIRO-SANT ANA; CHAVES, 2009). O α-tocoferol detectado nas amostras pode ter sido originado do ovo adicionado como ingrediente no preparo da maionese, Guinazi; Pinheiro-Sant Ana e Chaves (2009) relataram teor igual a 0,09 mg kg⁻¹ em ovo de galinha cru.

Os óleos vegetais comestíveis são bastante consumidos em nível mundial, constituindo-se, portanto, em um dos alimentos de maior contribuição para a ingestão de vitamina E, que é um importante antioxidante natural. O β -tocoferol não foi detectado em nenhuma das sete formulações de maionese.

Os antioxidantes são compostos que protegem os sistemas biológicos contra efeitos nocivos dos processos, ou reações, que podem causar oxidação excessiva. A ingestão desses compostos pode ajudar a prevenir danos *in vivo*, como a oxidação lipídica, proteica, danos ao DNA, que estão associados ao câncer, envelhecimento precoce, aterosclerose e diabetes (DEL RÉ; JORGE, 2012).

Além dos benefícios *in vivo*, os extratos antioxidativos naturais são eficientes em retardar a degradação oxidativa de lipídios, e desta forma melhorar a qualidade e valor nutricional dos alimentos (OCZAN; EREL; HERCK, 2009). A utilização de substâncias naturais, de origem vegetal, torna o alimento mais atrativo ao consumidor por não apresentarem efeito tóxico, mesmo quando empregadas em concentrações relativamente elevadas, ao contrário dos compostos antioxidantes sintéticos, que podem apresentar efeitos indesejáveis para saúde dos consumidores (DEANS; RITCHIE, 1987; LEE et al., 2005), sendo assim, esses componentes antioxidativos naturais são de interesse cada vez maior na indústria alimentícia.

Diversos estudiosos estão trabalhando neste sentido, Olmedo; Nepote e Grosso (2013), por exemplo, adicionaram óleo essencial de orégano e alecrim em requeijão cremoso e observaram que estes melhoraram a estabilidade oxidativa e fermentativa no produto, impedindo a oxidação lipídica e o desenvolvimento de sabor rançoso e fermentado e conseqüentemente prolongando a vida útil do mesmo.

Bandyopadhyay; Chakraborty e Raychaudhuri (2008) adicionaram beterraba, menta e gengibre em queijo tipo cottage e utilizaram também antioxidantes sintéticos terciário butil hidroquinona (TBHQ), butil

hydroxyanisole (BHA) e butil-hidroxitolueno (BHT) a fim de comparar o efeitos entre os antioxidantes naturais e os sintéticos. O gengibre apresentou a maior atividade antioxidante, que foi semelhante aos antioxidantes sintéticos TBHQ e BHA-BHT combinados. De forma geral, todas as fontes antioxidantes naturais e suas combinações melhoraram significativamente a estabilidade oxidativa do queijo tipo cottage.

Devido a essa propriedade de conservação de alimentos dos compostos antioxidantes presentes em especiarias e a característica da maionese de ser um produto propício a rancificação por seu alto teor de lipídios, foi realizada a análise de TBARS para averiguar se a mistura de especiarias adicionada as formulações de maionese contribuiu para o aumento da estabilidade oxidativa das mesmas. Os resultados estão dispostos no Gráfico 5.

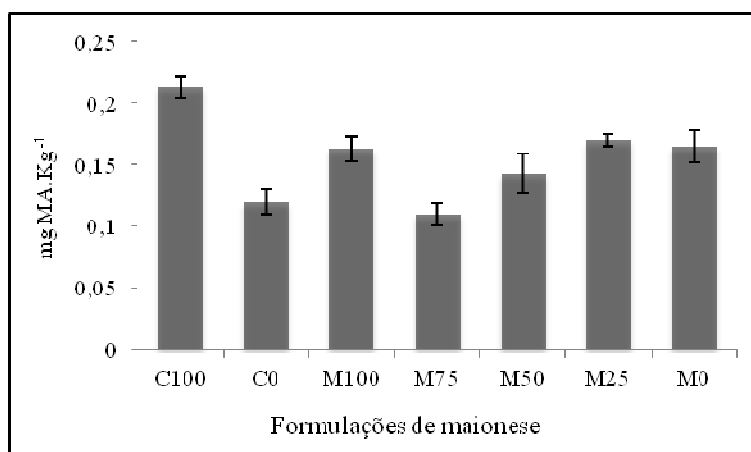


Gráfico 5 Ilustrativo do teor médio de malonaldeído em mg/kg⁻¹ nas sete formulações de maionese. C100: maionese controle com 100% de redução de sódio e isenta de mistura de especiarias; C0: maionese controle com quantidade padrão de sódio (1,04g/100g), 0% de redução, e isenta de especiarias; M100, M75, M50, M25, M0: maionese com 100, 75, 50, 25 e 0% de redução de sódio e adição de 1,5g de mistura da especiarias/100g de maionese. Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância

A rancidez hidrolítica, ou oxidativa, podem ocorrer durante o armazenamento inadequado no processamento e no produto final, e os valores do TBARS (Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico) são utilizados como indicador do grau de oxidação lipídica por meio da quantificação do malonaldeído, que é um dos principais produtos da decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos polinsaturados formado durante o processo oxidativo (KIRSCHNIK; MACEDO-VIEGAS, 2009).

No presente estudo não foi observada diferença significativa dos níveis de malonaldeído nas amostras controle (C100 e C0) em relação os tratamentos (M100, M75, M50, M25 e M0) com adição de especiarias, indicando que os compostos antioxidantes presentes nas especiarias não foram eficientes em proteger as amostras de maionese da lipoxidação, sugerindo que a quantidade de mistura de especiarias adicionada (1,5g/100g) nas formulações de maionese foi insuficiente para promover a proteção contra a oxidação.

Além da produção de malonaldeído o processo de decomposição de lipídios, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, altera quase sempre a concentração dos íons hidrogênio, se manifestando, portanto, no aumento da acidez e redução do pH (LUTZ, 1985), que não foi observado neste estudo (Tabela 3). Provavelmente a quantificação de ácidos graxos livres, índice de iodo, além de outras, poderão complementar esses estudos de oxidação ao longo do tempo de armazenamento.

4 CONCLUSÕES

A adição da mistura de especiarias contendo limão, manjerição e orégano viabilizou a redução de 50% do teor de sódio nas formulações de maionese estudadas e ainda acrescentou ação antioxidante natural ao produto, ação esta derivada principalmente dos compostos fenólicos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sugere-se a determinação da vida útil das formulações de maionese e ainda a variação da proporção da mistura de especiarias adicionada para possibilitar a determinação da concentração eficaz na proteção da maionese contra a peroxidação.

REFERÊNCIAS

- AFONSO, M. S.; SANT'ANA, L. S.; MANCINI-FILHO, J. Interação entre antioxidantes naturais e espécies reativas do oxigênio nas doenças cardiovasculares: perspectivas para a contribuição do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.). *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.= J. Brazilian Soc. Food Nutr.*, v. 35, n. 1, p. 129-148, 2010.
- ALBUQUERQUE, S. R. S; REGIANI, A. M. Estudo do fruto do buriti (*Mauritia flexuosa*) para obtenção de óleo e síntese de biodiesel. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 29, 2006, Anais: Águas de Lindóia. Sociedade Brasileira de Química (SBQ)
- AMAROWICZ, R.; EGARSKA, Z. Z.; RAFAŁOWSKI, R.; PEGG, R. B.; KARAMAC, M.; SKA, A. K. Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of ethanolic extracts of thyme, oregano, and marjoram. **Eur. J. Lipid Sci. Technol.**, v. 111, p. 1111–1117, 2009.
- ASSOCIATION OF AGRICULTURAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. v. 2 (18rd ed.). Gaithersburg: AOAC International, 2006. 1141 p.
- BANDYOPADHYAY, M.; CHAKRABORTY, R.; RAYCHAUDHURI, U. Incorporation of herbs into sandesh, an Indian sweet dairy product, as a source of natural antioxidants. **International Journal of Dairy Technology**, v. 60, n. 3, 2007.
- BATISTA, S. M.; CARVALHO, T. In: BOREINSTAIN, M., Sussking. **Organização. Manual de Hipertensão**. Porto Alegre: Editora Sagra Luzzato, 1999.
- BELITZ, H. D.; GROSCH, W. **Food chemistry**. New York: Springer Verlag, 2004. 774 p.

BORJES, L. C.; TECHIO, S. F.; OLIVEIRA, M. P. Análise sensorial de feijões. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.* = **J. Brazilian Soc. Food Nutr.**, v. 36, n. 3, p. 15-26, dez. 2011.

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

BRASIL, 2011. Ministério da Saúde. Termo de Compromisso entre o Ministério da Saúde, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e as Associações Brasileiras das Indústrias de Alimentação, das Indústrias de Massas Alimentícias, da Indústria de Trigo e da Indústria de Panificação e Confeitaria, de 13 de Dezembro de 2011. Brasília: 2011. Disponível em: http://189.28.128.100/nutricao/docs/geral/termo_de_compromisso_plano_monitoramento.pdf. Acessado em janeiro de 2014.

DALLEPIANE, L. B.; BÓS, J. A. G. O uso de condimentos na dieta de um grupo de hipertensos: estudo de intervenção randomizado. **Rev. bras. nutr. clin.**, v. 22, n. 4, p. 286-291, 2007.

DEANS, S. G.; RITCHIE, G. Antibacterial properties of plant essential oils. **International Journal of Food Microbiology**. Amsterdam, n. 5, p. 165-171, 1987.

DEL RÉ, P.V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.14, n.2, p.389-399, 2001.

DELIA, B.; RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA, M. **Harvestplus handbook for carotenoid analysis**. Washington, DC and Cali: International Food Policy Research Institute (IFPRI) and International Center for Tropical Agriculture (CIAT). p. 35-36, 2004.

DEPREE, J. A.; SAVAGE, G. P.; Physical and flavour stability of mayonnaise. *Trends in food science & technology*, v. 12, n. 5, p. 157-163, 2001.

DOYLE, M.E.; GLASS, K.A. Sodium reduction and its effect on food safety, food quality, and human health. **Rev. Food Sci. Food Saf.** v. 9, p. 44–56, 2010.

FAULKS, R. M.; SOUTHON, S. Challenges to understanding and measuring carotenoid bioavailability. **Biochim Biophys Acta**, v. 1740, n. 2, p. 95-100, 2005.

FERREIRA, D. F. Sisvar: Um programa para análise e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Lavras, v. 6, n. 4, p. 36-41, . 2008.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, v.226, n.1, p.497-509, 1957.

FRANÇA, L.F.; REBER, G.; MEIRELES, M.A.A.; MACHADO, N.T.; BRUNNER, G. Supercritical extraction of carotenoids and lipids from buriti (*Mauritia flexuosa*), a fruit from the Amazon region. **Journal of Supercritical Fluids**, v.14, p.247–256, 1999.

GUINAZI, M.; MILAGRES, R. C. R. M.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M.; CHAVES, J. B. P. Tocoferóis e tocotrienóis em óleos vegetais e ovo. **Quim. Nova**, v. 32, n. 8, p. 2098-2103, 2009.

HARRISON, L. J.; CUNNINGHAM, F. E. Factors influencing the quality of mayonnaise: A review. **Journal of food quality, wesport**, n. 8, v. 1, p. 1-20, sept. 1985.

HATANAKA, E.; CURI, R. Ácidos graxos e cicatrização: uma revisão. **Rev. Bras. Farm.**, v. 88, n. 2, p. 53-58, 2007.

INFORME TÉCNICO N.50/2012. **Teor de sódio dos alimentos processados.** Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, 27 p., disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/856c37804d19e24d9d7aff4031a95fac/INFORME+T%C3%89CNICO+2012-+OUTUBRO.pdf?MOD=AJPERES>

KAUR, C.; KAPOOR, H.C. Antioxidants in fruits and vegetables. **International Journal of Food Science and Technology**, n. 36, p. 703-725, 2001.

KIRSCHNIK, P. G.; MACEDO-VIEGAS, E. M. Efeito da lavagem e da adição de aditivos sobre a estabilidade de carne mecanicamente separada de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante estocagem a -18°C . **Ciênc. Tecnol. Aliment.**; v. 29; p. 200-206; 2009.

LEE, S. J.; UMANO, K.; SHIBAMOTO, T.; LEE, K. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, n. 91 131–137, 2005.

LONGOBARDI, F.; VENTRELLA, A.; CASIELLO, G.; SACCO, D.; TASIIOULA-MARGARI, M.; KIRITSAKIS, A. K.; KONTOMINAS, M. G. Characterization of the geographical origin of western greek virgin olive oils based on instrumental and multivariate statistical analysis. **Food Chemistry**, v. 133, p. 169–175, 2012.

LOPES, C. O.; BARCELOS, M. D. F. P.; DIAS, N. A. A.; CARNEIRO, J. D. D. S.; ABREU, W. C. Effect of the addition of spices on reducing the sodium content and increasing the antioxidant activity of margarine. **LWT - Food Science and Technology**, v. 58, n. 1, p. 63-70, 2014.

LUTZ, I. A. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: **Métodos físicos e químicos para análises de alimentos**. 3.ed., São Paulo: IMESP, 1985. v.1. 533p.

MACFIE, H. J.; BRATCHELL, N. Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry over effects in hall tests. **Journal of Sensory Studies**, v. 4, p. 129-148, 1989.

MANFROI, A.; OLIVEIRA, F. A. Dificuldades de adesão ao tratamento na hipertensão arterial sistêmica: considerações a partir de um estudo qualitativo em uma unidade de Atenção Primária à Saúde. **Rev Bras Med Fam**, v.2, n° 7, 2006.

MARTIN, C. A.; ALMEIDA, V. V.; RUIZ, M. R.; VISENTAINER, J. E. L.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos polinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Rev. Nutr.**, v. 19, n. 6, p.761-770, 2006.

MELO, A.S. et al. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum L.*) essential oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.1, p.24-30, 2006.

NUNES, C. A., PINHEIRO, A. C. M. Senso Maker, version 1.0. UFLA, Lavras, 2012.

NUUTILA, A. M.; PUUPPONEN-PIMIA, R.; AARNI, M. OKSMAN-CALDENTY, K. M. Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity. **Food Chemistry**, n. 81, p. 485–493, 2003.

OZCAN, M. M.; EREL, O.; HERKEN, E.E. Antioxidant activity, phenolic content, and peroxide value of essential oil and extracts of some medicinal and aromatic plants used as condiments and herbal teas in turkey. **J Med. Food.**, v.12, n 1, p. 198–202, 2009.

OLMEDO, R. H.; NEPOTE, V.; GROSSO, N. R. Preservation of sensory and chemical properties in flavored cheese prepared with cream cheese base using oregano and rosemary essential oils. **LWT - Food Science and Technology**, 53, 409-417, 2013.

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

OZCAN, M. M.; EREL, O.; HERKEN, E.E. Antioxidant activity, phenolic content, and peroxide value of essential oil and extracts of some medicinal and aromatic plants used as condiments and herbal teas in turkey. **J. Med. Food.**, v.12, n 1, p. 198–202, 2009.

PEREIRA, D. B. C.; SILVA, P. H. F.; COSTA JUNIOR, L. C. G.; OLIVEIRA, L. L. Fisiológica do leite e derivados: métodos analíticos. P. 112-113, 2 ed., 2001, Juiz de Fora: EPAMIG, 2001, 234 p.

PHILIPPI, S. T. **Tabela de Composição de Alimentos - Suporte Para Decisão Nutricional**. 4ª Ed., editora: Manole, 2013, 164 p.

PIGGOTT, J. R. Sensory analysis of foods. New York, USA: Elsevier Applied Science Publishers, p. 157-161, 1984.

RUFINO, M. S. M., ALVES, R. E., BRITO, E. S., FILHO, J. M., MOREIRA, A. V. B. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas no sistema β -caroteno/Ácido Linoléico**. Brasília: EMBRAPA, 2006. 16 p. (Comunicado Técnico, 126).

SALGADO, J. M.; CARRER, J. C.; DANIELI, F. Avaliação sensorial de maionese tradicional e maionese enriquecida com ervas aromáticas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, n. 26, v.4, p. 731-734, 2006.

SANIBAL, E. A. A.; FILHO, J. M. Alterações Físicas, químicas e nutricionais de óleos submetidos ao processo de fritura. **Caderno de tecnologia de alimentos e bebidas**, p. 48 -54, 2002.

SANTOS, A. Sódio, potássio, cloro e bicarbonato da dieta: efeitos na pressão arterial e doença cardiovascular. **Revista Factores de Risco**, n. 14, p.44-49, 2009.

SARNO, F.; CASTRO, A. P.; BANDONI, D. H.; BOMBEM, K. C.; JAIME, P. C. Hipertensão arterial em funcionários beneficiados pelo Programa de Alimentação do Trabalhador na cidade de São Paulo. **Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.**, v. 32, p. 98, out. 2007.

SILVA, D. C. F.; NASCIMENTO, M. A.; MOREIRA, A. V. B. Verificação da presença de compostos fenólicos com propriedades antioxidantes em amostras de café. **Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.**; v. 32; p. 41-58, 2007.

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S. dos; GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. 4 ed. São Paulo: Livraria Varela, 2010. 632 p.

SIMONETTI, J. P.; BATISTA, L.; CARVALHO, L. R. Hábitos da saúde e fatores de risco em pacientes hipertensos. **Ver. Latino am. Enfermagem**, n. 10, v.3, p. 415-22, 2002.

SINGH, B.N.; SINGH, B. R.; SINGH, R. L.; PRAKASH, D. SINGH, D. P.; SARMA, B. K.; UPADHYAY, G.; SINGH, H. B. Polyphenolics from various extracts/fractions of red onion (*Allium cepa*) peel with potent antioxidant and antimutagenic activities. **Food and Chemical Toxicology**, n. 47, p. 1161–1167, 2009.

SOARES, M. S.; RIBEIRO, A. P. B.; GONÇALVES, L. A. G.; FERNADES, G.; BOLINI, H. M. A. Aceitação sensorial do óleo de soja degomado por ultrafiltração e desodorizado. **Ceppa**, v. 22, n. 2, p. 283-294, 2004.

SOFTWARE STATISTICAL PACKAGE FOR SOCIAL SCIENCES (SPSS – versão 20). IBM Corp. Released 2011. **IBM SPSS Statistics for Windows**, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp.

SOMMANO, S.; CAFFIN, N.; KERVEN, G. Screening for antioxidant activity, phenolic content, and flavonoids from Australian native food plants. **International Journal of Food Properties**, v. 16, p. 1394-1406, 2013.

SOMMERBURG, O.; KEUNEN, J. E. E.; BIRD, A. C.; VAN KUIJK, F. J. G. M. Fruits and vegetables that are sources for lutein and zeaxanthin: the macular pigment in human eyes. **Br. J. Ophthalmol**, v. 82, p. 907-910, 1998.

TAPIERO, H.; TOWNSEND, D. M.; TEW, K. D. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. **Biomedicine e Pharmacotherapy**, v. 58, 100–110, 2004.

VACLAVIK, V. A.; CHRISTIAN, E. W. Essentials of food science. 2nd ed. New York: Klumer Academic/ Plenum Publishers, 2003.

VIEIRA, C. R.; CABRAL, L. C.; PAULA, A. C. O. Composição centesimal e conteúdo de aminoácidos, ácidos graxos e minerais de seis cultivares de soja destinadas à alimentação humana. **Pesq. agropec. bras.**, v.34, n.7, p.1277-1283. 1999.

VYNCKE, B.W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette Seifen Anstrichm.**, v.72, n.12, p.1084- 1087, 1970.

WATERHOUSE, A. L. Polyphenolics: determination of total phenolics. In: WROLSTAD, R. E. **Current protocols in food analytical chemistry**. New York: J. Wiley, 2002. p. 11-18.

WEHR, H.M.; FRANK, J.F. **Standard methods for the examination of dairy products**. 17th edn. American Public Health Association, Washington, DC, 2004.

WROLSTAD, R.E. Analysis of Tocopherols and Tocotrienols. In: Current Protocols in Food Analytical Chemistry (CPFA), (Eds.): R. E. Wrolstad, John Wiley & Sons 2003.

ARTIGO 3

Requeijão cremoso com adição de mistura de especiarias visando reduzir o sódio e agregar ação antioxidante

**Artigo redigido conforme norma da Revista Food research international
("versão preliminar")**

RESUMO

Cream cheese is an industrialized product which contains high amounts of sodium. It is widely utilized in the daily life of a great part of the population in the making of bread, biscuits and in the culinary. That fact has motivated the development of this work which intended to evaluate the contribution of the addition of mixture of spices in the reduction of the sodium content and increase of the antioxidant activity in cream cheese. Seven formulations of cream cheese, with and without the addition of mixture of spices and decreasing levels of the addition sodium were prepared. The mixture of spices was composed of dehydrated and powder garlic, onion and oregano. The addition of the formulations was evaluated in sensorial analysis test with 100 panelists, afterwards, the chemical characterization was done: determination of the centesimal composition, total antioxidant activity (ATT) measured through the DPPH method and β -carotene/linoleic acid system, analysis of total phenolic compounds, total carotenoids, tocopherols by high performance liquid chromatography (HPLC) and oxidation evaluation utilizing the TBARS method. The results of the sensorial analysis indicated good acceptance of the R75 formulation (cream cheese with a reduction of 75% of addition sodium and addition of the mixture of spices). There was a significant increase of the ATT measured by the method DPPH and an increase greater than five times of total phenolic compounds in all the formulations of cheese with the addition of mixture of spices (R100, R75, R50, R25 e R0) on the grounds of the control formulations without the addition of mixtures of spices (C100, C0). The analysis of TBARS did not indicate protection against oxidation in the formulations of cream cheese. The addition of the spice mixture made the reduction of up to 75% of the addition sodium in the cream cheese viable and further raised naturally the antioxidant activity, which was correlated with the phenolic compounds.

Keywords: Sensorial analysis. DPPH. Phenolic compounds. Tocopherols. TBARS.

ABSTRACT

The cream cheese is a manufactured product that contains high amount of sodium. It is widely used in daily life for much of the population in breads, cookies and cooking. This fact motivated the development of this work was to evaluate the contribution of adding spice mixture in reducing sodium and increasing antioxidant activity in cream cheese. Seven cream cheese formulations with and without addition of spice mix, and decreasing levels of added sodium were produced. The spice mixture was composed of garlic, onion and oregano and dehydrated powder. The acceptance of the formulations was evaluated in sensory analysis test with 100 tasters later chemical characterization was done: chemical composition, total antioxidant activity (ATT) measured by the DPPH method and β -caroteno/ linoleic ácido system, analysis of compounds total phenolics, total carotenoids, tocopherols by high performance liquid chromatography (HPLC) and assessment of oxidation using the TBARS method. The results of sensory evaluation indicated good acceptance of R75 formulation (cream cheese with 75% reduction in sodium addition and adding spice mixture). There was a significant increase in ATT measured by DPPH assay and greater than 5 times the total phenolic compounds in all formulations of cream cheese with added spice blend (R100, R75, R50, R25 and R0) increased, due to the control formulations weeks adding spice blend (C100, C0). TBARS analysis indicated no protection against oxidation in the formulations of cream cheese. The addition of the mixture of spices enabled reduction of up to 75% of sodium added in cream cheese and even raised naturally antioxidant activity, which was correlated with the phenolic compounds.

Keywords: Sensory Analysis. DPPH. Phenolic compounds. Tocopherols. TBA.

1 INTRODUÇÃO

O requeijão cremoso é um tipo de queijo fundido, produto tipicamente brasileiro, bastante utilizado em pães, massas, biscoitos além de diversas preparações culinárias. É constituído por água, gordura, proteína, carboidratos, sódio, na proporção de 1 a 2%, e ainda aditivos a base de sódio, tais como os sais fundentes citrato de sódio, ortofosfato de sódio e polifosfato de sódio (OLIVEIRA, 1990; GIGANTE et al., 1999).

O sódio (Na) é um elemento químico essencial para o funcionamento adequado do organismo humano, mas a sua ingestão excessiva relaciona-se com o desenvolvimento de diversas doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs), dentre elas a hipertensão arterial (HA), que é o principal fator de risco para doenças cardiovasculares, principais causas de mortalidade a nível mundial. Preve-se que em 2025 aproximadamente 1,56 milhões de pessoas poderão apresentar HA (SANTOS et al., 2009). A Organização Mundial da saúde preconiza ingestão máxima de 2000mg de sódio/dia, porém estudos epidemiológicos revelam que os brasileiros ingerem mais que o dobro do valor citado (WHO, 2003; MARTELLI, 2014).

O sódio encontra-se presente naturalmente nos alimentos, entretanto a maior parte é proveniente do consumo do sal de mesa (NaCl) e de alimentos industrializados com adição de compostos sódicos (WILLETTI, 2002). Sabendo que a restrição do consumo de sódio é uma das mais eficientes ferramentas terapêuticas no controle da HA e dos agravos relacionados (KAWASAKI et al., 2009), o governo brasileiro vem firmando acordos com a Associação Brasileira das Indústrias de Alimentação (ABIA) estabelecendo metas para redução do teor de sódio em alimentos processados. O quarto e último acordo assinado até o

momento prevê a redução de sódio em diversos alimentos derivados de carne e leite, dentre eles o requeijão cremoso (BRASIL, 2011).

A diminuição do sódio nos alimentos por meio da redução do sal é um processo de difícil realização, visto que a mudança de sabor provoca rejeição destes produtos pelos consumidores. Autores sugerem então que esta ação deva ser combinada com a adição de especiarias, para dessa forma tornar o sabor dos alimentos mais agradável e garantir o consumo dos mesmos (DALLEPIANE; BÓS, 2007). Além disso, as especiarias contêm um complexo de compostos bioativos naturais com capacidade antioxidante, a exemplo dos compostos fenólicos, carotenoides e vitamina E (OCZAN; EREL; HERCK, 2009; NUUTILA et al., 2003) que podem proteger os sistemas biológicos contra efeitos nocivos das reações de oxidação e desta forma prevenir o envelhecimento precoce e desenvolvimento DCNTs, tais como a aterosclerose, cânceres, HA, dentre outras (OCZAN; EREL; HERCK, 2009).

Portanto, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito da redução do teor de sódio com adição de mistura de especiarias na aceitação sensorial e atividade antioxidante de requeijão cremoso.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O requeijão cremoso foi produzido na planta de produção do setor de Laticínios do Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA) da Universidade Federal de Lavras (UFLA). A análise sensorial foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial do DCA/UFLA. As análises microbiológicas foram efetivadas no Laboratório de Microbiologia Geral da Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS), Alfenas-MG. A maior parte das análises químicas foi realizada no Laboratório de Biquímica Nutricional do DCA/UFLA, sendo as análises cromatográficas realizadas no Laboratório de Análise Avançada e Biotecnologia (DCA-UFLA) e Laboratório de Química da Universidade Federal de Viçosa (UFV) e a análise de sódio no Departamento de Química (DQI/UFLA).

2.1 Produção do requeijão cremoso

Foram elaboradas neste trabalho sete diferentes formulações de requeijão cremoso, constituindo sete tratamentos. A metodologia utilizada para elaboração do requeijão foi a descrita por Silva, Van Dender e Mell (2004), com adaptações. Os ingredientes utilizados foram 30L de leite pasteurizado desnatado e 3,5 kg de creme de leite pasteurizado com 45% de gordura, sal de mesa - NaCl (quando conveniente), mistura de especiarias (1,5g de mistura/100g de requeijão cremoso, quando conveniente) e 2% do sal fundente a base de polifosfatos de sódio (marca JOHA[®] S10).

O leite e creme de leite utilizados para elaborar as formulações de requeijão cremoso deste estudo foram adquiridos na indústria Verde Campo, cidade de Lavras-MG, e os demais ingredientes, as especiarias, sal de mesa e sal fundente, também foram adquiridos no mercado local.

A mistura de especiarias adicionada no requeijão cremoso foi constituída por 45% de alho (*Allium sativum*), 30% de cebola (*Allium cepa*) e 25% de orégano (*Origanum vulgare*), todas as especiarias encontravam-se desidratadas e na forma de pó. A mistura de especiarias utilizada neste estudo foi selecionada dentre outras seis misturas a partir de degustações prévias realizadas por avaliadores adultos consumidores de requeijão cremoso e de análises químicas de atividade antioxidante total. O principal fator considerado para a seleção da mistura de especiarias foi o sabor, sendo selecionada aquela que se apresentou mais palatável no produto requeijão cremoso, e em segundo plano aquela mistura de especiarias que apresentou destaque em relação à atividade antioxidante total. A proporção de mistura de especiarias adicionada ao requeijão cremoso (1,5g/100) também foi definida em teste piloto.

As variações dos sete tratamentos dos requeijões cremosos (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7) foram em detrimento da adição ou não de mistura de especiarias e da redução do teor do sódio de adição (utilizado para proporcionar salinidade ao produto), que foi feita de forma gradativa em uma escala que variou de 100 a 0% de redução, com intervalos de 25%, a partir do valor máximo de 412 mg do sódio de adição por 100g de requeijão cremoso (na forma de sal de mesa), que somado ao sódio do sal fundente (aproximadamente 308 mg/100g de requeijão cremoso) totalizou 720mg de sódio/100g de requeijão cremoso, média encontrada em marcas de requeijões cremosos estabelecidas no mercado. Os T1 e T2 foram os tratamentos controles, T1 foi constituído por requeijão cremoso isento do sódio de adição (100% de redução dos 412 mg de sódio/100g de requeijão cremoso) e sem adição da mistura de especiarias, e o T2 foi o requeijão cremoso padrão, sem redução do sódio de adição (0% de redução, ou seja, 412 mg do sódio de adição mais 308 mg do sal fundente, total de 720 mg de sódio/100g de requeijão cremoso) e sem adição da mistura de especiarias. Os T3, T4, T5, T6 e T7 tiveram a adição padronizada de 1,5g de mistura de

especiarias por 100g de requeijão cremoso, e redução de sódio de 100, 75, 50, 25 e 0%, respectivamente.

O sódio de adição dos requeijões cremosos foi derivado do sal de mesa (NaCl), portanto, foi necessário mensurar a concentração de sódio contido no mesmo para, a partir do resultado, calcular a quantidade de sódio (presente no sal de mesa) a ser adicionado nos requeijões cremosos. A quantificação do sódio foi realizada conforme metodologia descrita no item 2.4.1 (AOAC, 1990). O resultado foi igual a 49% de sódio (Na) no sal de mesa analisado, sendo assim, os 412 mg de sódio dos requeijões cremosos correspondeu a 840,8 mg do sal de mesa (NaCl).

A descrição dos sete tratamentos, codificação e proporções dos ingredientes utilizados para a elaboração das formulações de requeijão cremoso encontram-se dispostos na Tabela 1.

Tabela 1 Descrição das sete formulações de requeijão cremoso com redução de sódio e adição de mistura de especiarias

| Tratamentos | Códigos | Requeijão cremoso (g/100g) | | | % redução de Na |
|-------------|---------|-----------------------------|------|--------------|-----------------|
| | | Sem NaCl e sem especiarias* | NaCl | *Especiarias | |
| T1 | C100 | 100 | 0,0 | 0 | 100 |
| T2 | C0 | 99,16 | 0,84 | 0 | 0 |
| T3 | R100 | 98,50 | 0,0 | 1,5 | 100 |
| T4 | R 75 | 98,29 | 0,21 | 1,5 | 75 |
| T5 | R 50 | 98,08 | 0,42 | 1,5 | 50 |
| T6 | R 25 | 97,87 | 0,63 | 1,5 | 25 |
| T7 | R 0 | 97,66 | 0,84 | 1,5 | 0 |

Considerou-se neste estudo a redução de sódio partindo de 0,41g do sódio de adição, equivalente a 0,84g de sal de mesa (NaCl) com teor de 49% de sódio, seguindo 0,10 (0,21); 0,20 (0,42) e 0,31 g de Na (0,63g de NaCl). **Mistura de especiarias: 45% de alho, 30% de cebola e 25% de orégano

A fabricação do requeijão cremoso foi dividida em duas etapas: preparo da massa magra fresca (MMF) e fusão da massa.

O preparo da MMF foi realizado pelo método da coagulação ácida (ácido láctico a 85%, grau alimentício, previamente diluído em água destilada na proporção de 1:10) associado a fermentação, com adição de fermento termofílico (concentração de 1%). O leite pasteurizado foi aquecido até temperatura de 42°C e colocado em um tanque de fabricação de queijo, o ácido láctico foi adicionado bem lentamente para evitar a precipitação instantânea do leite, logo após foi adicionado também o fermento termofílico. Iniciou-se então a mexedura de forma lenta, durante 15 minutos para a incorporação do ácido ao leite.

Quando atingiu o ponto de precipitação, a massa foi cortada para facilitar a dessoragem e o soro restante foi transferido para um outro tanque menor, acoplado ao tanque maior. Retirou-se essa massa e deixou em estufa a 44°C durante 8 horas para que as bactérias termófilas continuassem agindo e acidificando até atingir o pH entre 5,3 - 5,5.

Ao atingir o pH de 5,4 a massa foi cortada em cubos pequenos e lavada três vezes com água potável para diminuir a acidez. Pesou-se a MMF para definir a proporção de ingredientes a serem adicionados na etapa de fusão da massa (sal de mesa, sal fundente, creme de leite e água).

Seguiu-se então a etapa de fusão, onde, 5kg de MMF cortada e lavada foi colocada em taxa de ácido inoxidável e misturada com o sal fundente (2% da massa, 100 g) e iniciou o aquecimento e agitação, quando já em processo de fundição da massa, foram adicionados o 3,5 kg de creme de leite e metade do volume de água (1,75L), após atingir aproximadamente 90°C e fundição praticamente completa, foi adicionado o restante da água (1,75L), e continuou o aquecimento e agitação até atingir o ponto desejado do requeijão. Por último foi acrescentado o sal de mesa (NaCl), quando conveniente e na proporção pré

definida, e a mistura de especiarias (sempre na proporção de 1,5g de mistura de especiarias/100g de requeijão cremoso, quando presente), conforme exposto na Tabela 1. O requeijão cremoso foi embalado ainda quente, manualmente, em recipientes de polietileno rígidos com capacidade para 400g, devidamente higienizados e fechados, em seguida o material foi armazenado em câmara fria, à temperatura de $5 \pm 1^\circ\text{C}$, até realização das análises microbiológicas, sensoriais e químicas.

Para averiguar o teor de sódio no produto final, devido a adição do sal fundente, foi feita a quantificação desse nas amostras de requeijão cremoso liofilizado, conforme descrito no item 2.4.1.

2.2 Análises microbiológicas das formulações de requeijão cremoso

a) Preparo das amostras de requeijão cremoso para as análises

Foram retiradas das sete formulações de requeijão cremoso 25g de amostras que foram inicialmente diluídas em 225 mL de solução salina a 0,85%, formando a diluição 10^{-1} , posteriormente seguiu as diluições decimais sucessivas de 10^{-2} e 10^{-3} , e estas foram utilizadas para as análises.

b) Contagem de coliformes a 35°C e 45°C pelo método do número mais provável

Foi retirado de cada uma das diluições descritas acima alíquotas de 1,0mL e estas foram inoculadas em tubos de ensaio. O meio de cultura empregado foi o caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) em série de 9 tubos para cada amostra, três diluições (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) em triplicata, contendo tubo de Durhan invertido. Todas as amostras foram incubadas a $35,5^\circ\text{C}$ e 45°C por 48 horas (SILVA et al., 2010). Neste caso não foi preciso realizar o teste

confirmativo, pois nenhum dos tubos de Durhan apresentaram a formação de gás.

c) Contagem de *Staphylococcus aureus* coagulase positiva

Retirou-se de cada diluição alíquota de 0,1 mL e colocou no meio de cultura Agar Baird-Parker (BP), fazendo placas em duplicata. O espalhamento do inóculo na placa foi feito com o auxílio da alça de Drigasly. As placas foram incubadas e invertidas a 35-37°C/48horas (SILVA et al., 2010).

d) Detecção de *Salmonella*

A análise para detecção de *Salmonella* foi realizada em quatro etapas, seguindo metodologia proposta por Silva et al. (2010).

- a) pré-enriquecimento: retirou-se assepticamente 25g da amostra de requeijão cremoso e adicionou-se 225 mL de água peptonada tamponada. Incubou a 35-37°C/24horas;
- b) enriquecimento seletivo: transferiu, assepticamente, do pré-enriquecimento, alíquotas de 1 mL para 9 mL de caldo selenito-cistina e para 9 mL de caldo de enriquecimento tetracionato verde brilhante. Incubou a 35-37°C/24horas em banho-maria;
- c) plaqueamento em meio seletivo-indicador: do enriquecimento seletivo foram feitas estrias, com auxílio da alça de platina, nos seguintes meios sólidos: Hektoen e Agar Salmonella-Shigella. Incubou a 35-37°C/24horas;
- d) triagem das colônias.

2.3 Análise sensorial

Os testes de aceitação e de intenção de compra das formulações de requeijões cremosos foram realizados em cabines individuais no laboratório de análise sensorial por 100 provadores não treinados, utilizando-se escala hedônica estruturada de 9 pontos para o teste de aceitação, variando de gostei muitíssimo (nota 9) a desgostei muitíssimo (nota 1), conforme descrito por Piggott (1984), e escala estruturada de 5 pontos para a intenção de compra, variando entre 5 (certamente compraria este produto) e 1 (certamente não compraria este produto). As sete formulações de requeijão cremoso foram avaliadas pelos 100 provadores em uma única sessão, apresentando-se as amostras balanceadas conforme descrição de Macfie e Bratchell (1989).

Para a degustação das amostras de requeijões cremosos formuladas neste estudo, foram utilizados como veículo biscoitos preparados no Laboratório de Nutrição e Dietética da UFLA, constituídos somente por trigo, água e óleo.

Na sessão de degustação foi entregue aos provadores bandeja contendo sete biscoitos, cada um dos mesmos contendo amostra de uma das sete formulações de requeijões cremosos em quantidade aproximada de 1,5g, acompanhadas de copo de água para que fosse utilizada pelo provador entre as amostras e das fichas de avaliação sensorial e intenção de compra. As amostras foram codificadas aleatoriamente com números de três dígitos.

2.4 Análises químicas

2.4.1 Sódio

O extrato para análise foi preparado a partir de 0,5g de amostra do sal de mesa (NaCl) a ser utilizado no preparo das formulações de requeijão cremoso e também de 0,5 g das amostras de requeijões cremosos liofilizados. As amostras foram digeridas com 6 mL de ácido nítrico/perclórico (2:1) em bloco digestor à temperatura final de 250°C. Após a digestão adicionou-se água destilada ao extrato até o peso final de 15g.

A análise foi realizada utilizando-se o espectrômetro de absorção atômica, modelo spectrAA 110, Varian, calibrado em condições específicas de comprimento de onda, fenda e mistura de gases para o elemento sódio. Para a construção da curva de calibração, foram utilizadas ampolas de padrões para absorção atômica da marca Merck, devidamente diluídas com água deionizada. A análise foi realizada em triplicata e os resultados expressos em mg/100 de produto integral (AOAC, 2006).

2.4.2 Caracterização química

2.4.2.1 Composição centesimal, calorías e pH

A determinação da composição centesimal das sete formulações de requeijão cremoso foi realizada com três repetições.

A umidade foi feita de acordo com a metodologia de Pereira et al. (2001), onde placas de Petri com areia purificada e um bastão de vidro apoiado na borda do recipiente foram colocados para dessecar em estufa a 105°C por 1 hora, posteriormente foram deixadas para esfriar em dessecador. Após, aproximadamente 5g das amostras de requeijões cremosos foram pesados direto no recipiente. O material foi submetido a secagem em estufa a 105°C até estabilização do peso. O resultado foi dado em % de umidade.

O teor de gordura total das formulações de requeijão cremoso foi determinado seguindo a metodologia proposta por Van Gulik. Pesou-se 3g das amostras no copinho do butirômetro de Van Gulik, colocou 5 mL de água destilada, mais 10 mL de ácido sulfúrico (1,82g/L). Envolveu em uma toalha e agitou vigorosamente por 3 minutos cada amostra, até completa dissolução das proteínas. Adicionou 1mL de álcool isoamílico (881g/L) e água destilada até o número 30 da escala. Tampou o butirômetro e agitou vigorosamente, esperou aproximadamente 3 minutos para fazer a leitura, que é dada em escala própria do butirômetro, sendo o resultado direto em % (m/m).

A proteína foi determinada pelo método de Kjeldahl, que consiste na digestão, destilação e titulação da amostra. Para conversão de nitrogênio em proteína foi utilizado o fator de conversão 6,25 (AOAC, 2006).

Para determinação das cinzas, ou resíduo mineral fixo, foi pesado em cadinho previamente tarado 1g de amostra seca e desengordurada de cada amostra. Estas foram incineradas em bico de Bunsen e posteriormente levadas a mufla a 550°C por 6 horas. Os cálculos para determinação de cinzas foram feitos pela diferença da massa inicial e final da amostra (AOAC, 2006).

O extrato não nitrogenado (carboidrato) foi determinado por diferença dos valores encontrados para extrato etéreo, proteína e cinzas em 100g do produto seco (AOAC, 206).

As calorias das formulações de requeijão foram calculadas multiplicando a média de cada macronutriente por seu respectivo fator de conversão. A média da quantidade de carboidrato existente na amostra e também de proteína, foram multiplicadas por 4 e a média do teor de lipídio foi multiplicada por 9. A soma destes resultados correspondeu às calorias de 100g da farinha seca (ATWATER; WOODS, 1896).

Para determinação do pH foi preparado extrato com 5g de amostra em 50mL de água destilada e após 10 minutos de agitação em agitador magnético o

extrato foi filtrado em papel de filtro Whatman (n° 2), alíquota de 5mL do sobrenadante foi retirada e colocada em erlenmeyer de 250mL. O potencial hidrogeniônico (pH) foi medido utilizando-se o pH metro portátil marca Ingold, modelo pH206.

2.4.2.2 Perfil de ácidos graxos

Os ácidos graxos foram extraídos das amostras de acordo com a metodologia proposta por Folch; Lees, Stanley (1957). Para tanto, homogeneizou-se 5 gramas das amostra de requeijão cremoso com 50 mL de solução clorofórmio/metanol (2:1) mais butilhidroxitolueno ($0,025 \text{ g/L}^{-1}$) por aproximadamente 3 minutos em politron na velocidade média. Após homogeneização, procedeu à filtração da amostra utilizando filtros semi-qualitativos (de filtração rápida), transferindo-se o filtrado ao funil de separação (500 mL), ao qual foram acrescentados 10 mL de solução de cloreto de potássio (KCl 0,72%); após agitação manual, a solução permaneceu em repouso por aproximadamente oito horas. Após o repouso foi observada a formação de duas fases com diferentes polaridades (polar e apolar). A parte polar foi descartada do funil de separação, restando apenas a parte apolar. À parte remanescente foram acrescentados 6 mL de solução de cloreto de potássio (KCl 0,72%), permanecendo 12 horas em repouso. Após esse período, novamente foi descartada a parte polar, recolhendo-se a parte apolar em balão volumétrico de 50mL, completado o volume com clorofórmio.

Para etapa de esterificação, utilizou-se 5 mL da solução obtida na etapa anteriormente descrita. Os 5mL de solução foram transferidos para tubos falcon e o clorofórmio foi evaporado em banho-maria (45-55°C) com nitrogênio gasoso. Após a evaporação, foram adicionados 4 mL de NaOH 0,5M em metanol, levando, na sequencia, a amostra ao banho fervente por 5 minutos. O

material foi resfriado em banho de gelo e posteriormente foram adicionados 5 mL de reagente esterificante, levando novamente para o banho fervente por 5 minutos com posterior resfriamento em banho de gelo. Após resfriamento, foram adicionados 4 mL de NaCl saturado e 5 mL de hexano. Deixando-se os sistemas em repouso por 10 minutos. A parte sobrenadante foi recolhida para frasco âmbar. Evaporou o hexano com nitrogênio gasoso, em banho-maria a 45-55°C (FOLCH; LEES, STANLEY, 1957).

- Condições Cromatográficas

A identificação e quantificação dos ácidos graxos das formulações de requijão foram realizadas em Cromatógrafo a gás modelo CG – 17 A Detector de Chama (FID), marca Shimadzu. Para registro e análise dos cromatogramas, o aparelho foi acoplado a um microcomputador, utilizando-se o programa GC Solution. Os compostos foram separados e identificados em uma coluna capilar Carbowax (30 m x 0,25 mm).

Foi injetado no cromatógrafo 1 µL das amostras com auxílio de seringa de 10 µL (Hamilton®) em sistema Split. O gás Nitrogênio foi utilizado como carreador com velocidade linear programada para 37,8 cm/s .

As temperaturas do injetor e do detector foram controladas em 220°C e 240°C. A temperatura inicial da coluna foi de 200°C (mantida por 2 minutos), aumentando em 4°C por minuto até atingir 240°C, totalizando 20 minutos de análise. O fluxo do gás de arraste na coluna foi de 1,0 mL/minuto.

A identificação e quantificação dos compostos foi realizada por meio do tempo de retenção do padrão correspondente, foi utilizado o padrão supelco 37 component fame mix chromatogram.

2.4.3 Atividade antioxidante total

A atividade antioxidante total (AAT) das sete formulações de requeijões cremosos foi determinada utilizando-se dois métodos distintos: método do sequestro do radical 2,2- difenil,1picril-hidrazil (DPPH), realizado de acordo com metodologia proposta por Brand-Wiliams; Cuvelier e Berset (1995) (com adaptações) e método do sistema ácido linoleico/ β -caroteno, realizado conforme metodologia proposta por Rufino et al. (2006), sendo o primeiro método de análise de caráter predominantemente hidrofílico e o segundo de caráter predominantemente de caráter lipofílico.

- Preparo dos extratos

Os extratos foram preparados com 12 g das amostras de requeijão cremoso *in natura* utilizando três diferentes solventes, metanol absoluto, acetonitrila e hexano, adicionados na quantidade de 30 mL, 10 mL e 15 mL, respectivamente. Cada solvente era deixado em contato com a amostra por aproximadamente de 10 minutos, em seguida o sobrenadante era retirado e reservado ao abrigo da luz. A mistura de solventes foi evaporada em rotavapor até volume aproximado de 4 mL, filtrado em papel filtro Whatman nº 2, e o volume completado para 25 mL com metanol absoluto conforme Longoberdi et al. (2012), com adaptações.

Para determinação da AAT pelo método do sequestro do radical livre DPPH, foi adicionado 0,1 mL do extrato de cada uma das sete amostras de requeijão cremoso na concentração de $0,2\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ a 3,9 mL de solução de DPPH. As leituras foram realizadas após 40 minutos em espectrofotômetro a 515 nm e os resultados expressos em percentual de inibição (% inibição de radicais livres), conforme equação a seguir:

$$\% \text{ Inibição} = (\text{Ac} - \text{Am}) \cdot 100 / \text{Ac} \quad \text{em que:}$$

Ac = absorvância do controle

Am = absorvância da amostra

Para determinar a AAT pelo método sistema β -caroteno/ácido linoleico foram adicionados 0,4 mL do extrato das sete amostras de requeijão cremoso a 5 mL de solução sistema, sendo as leituras realizadas no tempo de 2 minutos e 120 minutos em espectrofotômetro a 470 nm e os resultados expressos em percentual de inibição da oxidação do β -caroteno (% Inibição de oxidação). O 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico (Trolox), que é um composto antioxidante análogo a vitamina E, porém, de natureza hidrofílica, foi utilizado como antioxidante de referência na concentração 0,2mg/mL.

$$\% \text{ Inibição} = (Ac - Am).100/Ac$$

Ac = absorvância inicial do controle – absorvância final do controle

Am = absorvância inicial da amostra – absorvância final da amostra.

2.4.4 Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais das sete formulações de requeijões cremosos foram mensurados conforme o método desenvolvido por Waterhouse (2002), com a utilização do reagente de Folin-ciocalteu. Este é um método caracteristicamente colorimétrico, o azul produzido pela redução do reagente Folin-ciocalteu pelos fenólicos é medido espectrofotometricamente, na faixa de absorção de 750 nm. O extrato para análise de compostos fenólicos totais foi preparado conforme descrito no item 2.4.3.

Foram adicionados 0,5 mL de extrato de cada uma das sete amostras aos tubos contendo 2,5 mL de solução de Folin-Ciocalteu 10% (v/v). Em seguida, foram adicionados 2 mL de solução de carbonato de sódio 4% (v/v), com

posterior agitação dos tubos em vortex e repouso, por 120 minutos, ao abrigo da luz. A cor azul produzida pela redução do reagente Folin-Ciocalteu pelos fenólicos foi medida espectrofotometricamente, na faixa de absorção de 750 nm. O cálculo do teor de compostos fenólicos totais nas sete formulações de requeijão cremoso foi realizado a partir da determinação da equação de regressão obtida da curva padrão do ácido gálico. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico por 100 g de amostra ($\text{mg EAG} \cdot 100\text{g}^{-1}$).

2.4.5 Carotenoides totais

A análise de carotenoides totais foi realizada seguindo metodologia proposta por Rodriguez-Amaya e Kimura (2004). Foi pesado em beckeres 1g das amostras de cada formulação de requeijão cremoso com três repetições, adicionado de 1g de kisselgur e 50 mL de acetona, deixando em repouso por 30 minutos. Posteriormente, os extratos foram filtrados em papel de filtro Whatman (nº 2) e lavados 3 vezes com aproximadamente 30 mL de acetona. Após a filtragem, o volume final total do extrato foi adicionado em funil de separação, onde já havia 30 mL de água destilada e 30 mL de éter de petróleo.

O material do funil de separação foi lavado 3 vezes com 100 mL de água destilada, para remover a acetona residual, tomando o cuidado para não descartar a parte lipossolúvel do extrato (disposta na porção superior). O material que permaneceu no funil de separação (extrato mais éter de petróleo) conservou-se durante período de 8 horas para separação.

No dia seguinte foi recolhida a fase com éter de petróleo em balão volumétrico de 50 mL, deixando a solução passar por um pequeno funil com algodão e sulfato de anidro, aproximadamente 15g, para remover o resíduo de água (Figura 1). O volume foi completado com éter de petróleo a leitura realizada no espectrofotômetro com comprimento de onda de 450 nm.

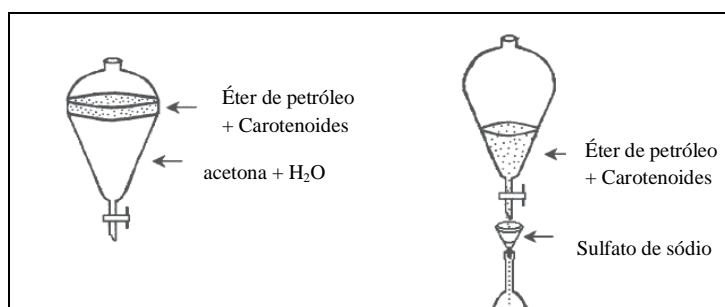


Figura 1 Ilustração da separação de éter de petróleo da análise de carotenoides totais em funil de separação. Fonte: Rodriguez-Amaya e Kimura (2004)

A concentração de carotenoides totais ($\mu\text{g/g}$) foi calculada utilizando a fórmula:

$$\text{Carotenoides} = \frac{A \times \text{volume (mL)} \times 10^4}{A^{1\%}_{1\text{cm}} \times \text{peso da amostra (g)}}$$

Onde A = absorvância, volume = volume total de extrato (50 mL);

$A^{1\%}_{1\text{cm}}$ = coeficiente de absorção de β -caroteno em éter de petróleo (2592).

2.4.6 Tocoferóis

A análise de tocoferóis foi realizada por meio de cromatografia gasosa (CG) e para tanto foram utilizados 100mg de óleo de cada uma das sete formulações de requeijões cremosos, extraído conforme metodologia proposta por Folch; Lees e Stanley (1957), descrita no item 2.4.2.2.

Em tubos de ensaio com rosca foram adicionados os 100mg de óleo das amostras de requeijão cremoso juntamente com 500 mg de ácido ascórbico, para

evitar a oxidação da amostra. Adicionou-se 5mL de etanol 90% e 0,5mL de hidróxido de potássio aquoso a 80% e agitou-se por 30 segundos. Os tubos fechados foram encubados em banho maria por 30 minutos à 70°C, com agitação periódica. Posteriormente os tubos foram levados ao banho de gelo por 5 minutos e nestes foram adicionados 5mL de água deionizada e 5mL de n-hexano, agitou-se por 5 minutos em vortex. O material foi centrifugado por 10 minutos a 1000xg em temperatura ambiente. A fase superior com hexano foi transferida para outro tubo para evaporar e secar sobre o fluxo de nitrogênio (WROLSTAD, 2003).

- Condições cromatográficas

Foi adicionado 0,01mL da fase móvel em tubo de ensaio, juntamente com o extrato, e o tubo foi agitado por 30 segundos para dissolver o extrato, foi injetados 20µL da amostra. A coluna utilizada foi a Supelcosil LC-SI (250 x 4,6mm), a fase móvel utilizada foi etil/acetato/ácido acético/hexano (1:1:98, v/v/v) com fluxo de 1,5mL/minuto. A detecção foi monitorada a 295 nm.

A indentificação foi feita pela comparação dos tempo de retenção com padrões puros e quantificados com base na área de picos desconhecidos com os padroes puros (α -tocoferol, β -tocoferol, γ -tocoferol, δ - tocoferol, todos da marca sigma).

2.4.7 Determinação de Oxidação lipídica – TBARS

A oxidação lipídica é um fenômeno espontâneo e inevitável, com uma implicação direta no valor nutricional quer dos lipídeos, quer de todos os produtos que a partir deles são formulados.

O teste do ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), também conhecido como índice de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), consiste em detectar com auxílio de espectrofotômetro, a 531 nm, o complexo de coloração amarelada formado pela condensação de dois moles do ácido 2-tiobarbitúrico com um mol de malonaldeído.

Para análise foram pesados 5g de cada formulação de requeijão cremoso com três repetições, e adicionou 40 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 5% mais 1 mL de BHT 0,15% (etanol), homogeneizou por 1 minuto. Posteriormente o material foi filtrado e o volume completado para 50 mL, em balão volumétrico, com TCA 5%. Retirou-se 2 mL do balão volumétrico e adicionou em tubo de ensaio em triplicata com 2 mL de TBA 0,08 M em ácido acético 50%. Homogeneizou e em seguida levou os tubos ao banho-maria fervente por 5 min. Após resfriar, foi realizada as leituras das amostras em espectrofotômetro à 531 nm (VYNCKE, 1970).

Os valores de leitura obtidos foram multiplicados pelo fator 7,38 e os resultados expressos em miligramas de malonaldeído por quilo de amostra (mg MA.kg⁻¹).

2.5 Análises estatísticas

O delineamento experimental deste estudo foi o inteiramente casualizado (DIC), contendo sete tratamentos e três repetições para as análises

químicas. Os resultados do teste de aceitação e intenção de compras, assim como os resultados das análises químicas, das sete formulações de requeijões cremosos foram submetidos à análise de variância seguida pelo teste de média Sckott Knott ao nível de 5% de significância no software SISVAR versão 5.3 (FERREIRA, 2008). Realizou-se também a representação gráfica dos componentes principais das médias das notas do teste de aceitação para possibilitar a visualização condensada dos mesmos e explorar a associação entre variáveis e tratamentos, a análise foi efetivada no Softwer Senso Maker (NUNES; PINHEIRO, 2012).

A análise correlação de Pearson foi feita entre compostos fenólicos totais x atividade antioxidante total (DPPH e β -caroteno/ácido linoleico) x carotenoides, utilizando Software Statistical Packge for Social Sciences (SPSS – versão 20).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas de Coliformes totais, *Staphylococcus aureus* gram positiva e *Salmonella* foram realizadas previamente a degustação das formulações de requeijões cremosos na análise sensorial, com intuito de garantir aos degustadores a segurança microbiológica das mesmas.

Os resultados das análises de coliformes fecais, realizada com três diluições (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) e em triplicata indicou que não havia a presença dos mesmos nas amostras de requeijões cremosos. Não houve

Não houve também formação de colônias no meio de cultura Agar Baird-parker (BP), específico para *Staphylococcus aureus*.

As placas de petri com meio de cultura vermelho (Hektoen) e preto (Agar *Salmonella-Shigella*) não apresentam nenhuma colônia de bactéria, indicando que as amostras de requeijão cremoso encontravam-se livres de *Salmonella*. Sendo assim, diante os resultados das análises microbiológicas, foi possível assegurar que as sete formulações de requeijão cremoso encontravam-se seguras para o consumo humano.

3.2 Análise sensorial

As médias dos resultados do teste sensorial para a aceitação das sete formulações de requeijões cremosos com relação aos atributos aparência, aroma, sabor, impressão global, e as médias para intenção de compra, estão dispostos na Tabela 2 e a análise dos componentes principais das mesmas encontram-se disposta na Figura 2.

Tabela 2 Valores médios das notas do Teste de Aceitação (9=gostei muitíssimo e 1=desgostei muitíssimo) e do Teste de Intenção de Compras (5=certamente compraria e 1=certamente não compraria) das formulações de requeijão cremoso redução de sódio e adição de especiarias

| Tratamento | Código | Redução Na (%) [*] | Especiarias (g) ^{**} | Aceitação | | | | Intenção de compra |
|------------|--------|-----------------------------|-------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| | | | | Aparência | Aroma | Sabor | IG ^{***} | |
| T1 | C100 | 100 | 0 | 7,28 ^a | 5,83 ^c | 4,92 ^c | 5,66 ^b | 2,46 ^b |
| T2 | C0 | 0 | 0 | 7,54 ^a | 6,70 ^a | 7,63 ^a | 7,50 ^a | 4,24 ^a |
| T3 | R100 | 100 | 1,5 | 6,55 ^b | 6,44 ^b | 4,80 ^c | 5,50 ^b | 2,34 ^b |
| T4 | R 75 | 75 | 1,5 | 6,79 ^b | 6,95 ^a | 6,92 ^b | 6,93 ^a | 3,73 ^a |
| T5 | R50 | 50 | 1,5 | 6,77 ^b | 7,03 ^a | 7,13 ^b | 7,10 ^a | 3,84 ^a |
| T6 | R25 | 25 | 1,5 | 6,84 ^b | 7,04 ^a | 7,03 ^b | 7,10 ^a | 3,73 ^a |
| T7 | R0 | 0 | 1,5 | 6,87 ^b | 7,16 ^a | 7,21 ^b | 7,22 ^a | 3,85 ^a |
| CV% | - | - | - | 19,22 | 20,57 | 24,57 | 21,01 | 24,02 |

* percentual de redução de sódio. Considerou-se neste estudo a redução de sódio partindo de 0,42 g, equivalente a 0,84g de sal de mesa (NaCl) com teor de 49% de sódio. **Mistura de especiarias = 45% de alho, 30% de cebola e 25% de orégano. ***IG = Impressão Global. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância

A aceitação para o atributo aparência diferiu ($p \leq 0,05$) entre os controles T1 e T2) e os tratamentos T3, T4, T5, T6 e T7, com adição de mistura de especiarias, houve menor aceitação para as últimas, indicando que a adição de misturas de especiarias interferiu negativamente neste aspecto. As médias apresentadas para este atributo variaram entre 6,55 e 7,54; R75 e C0, respectivamente, que correspondem à classificação gostei moderadamente e gostei muito, na escala hedônica onde a nota máxima é 9 (gostei extremamente). Para o atributo aroma não houve distinção ($p > 0,05$) entre a formulação controle C0 e R75, R50, R25 e R0, indicando que adição da mistura de especiarias não interferiu neste aspecto.

A média das notas de aceitação para o atributo sabor das formulações R75, R50, R25 e R0 não diferiram entre si ($p>0,05$), indicando que a redução de até 75% do sódio de adição nas formulações com adição de mistura de especiarias não reduziu a aceitação dos provadores com relação a R0, o que sugere que é possível reduzir em até 75% o sódio de adição no requeijão cremoso com adição dessa mistura de especiarias.

Na impressão global houve preferência pela amostra controle sem redução de sódio (C0, $p\leq 0,05$), seguida pelas formulações R75, R50, R25 e R0, que não diferiram entre si ($p>0,05$) e apresentaram média significativamente maior que as formulações de requeijão cremoso com 100% de redução do sódio de adição (C100 e R100).

No espaço para comentários da ficha de avaliação alguns provadores mencionaram que as formulações de requeijão cremoso com adição de especiarias estavam com sabor muito picante, esse fato pode ter sido determinante para redução da aceitação para os atributos sabor e impressão global desses em detrimento ao controle sem redução de sódio e sem adição de especiarias (C0).

Resultado bastante importante foi observado na intenção de compra, a média para as formulações R75, R50, R25 e R0, não diferiram da C0 (controle sem redução de sódio de adição) ($p>0,05$). Este resultado foi satisfatório, pois, avigora a possibilidade de redução em até 75% do sódio de adição do requeijão cremoso com adição de especiarias.

As formulações com 100% de redução do sódio de adição (C100 e R100), com ou sem adição de mistura de especiarias, apresentaram a menor aceitação com relação a todos os atributos avaliados, corroborando com a afirmativa de Yabuta; Cardoso e Isosaki (2006) de que a dieta hipossódica apresenta os menores índices de adesão, apesar de citada mundialmente como uma das maneiras mais efetivas de controle da hipertensão arterial.

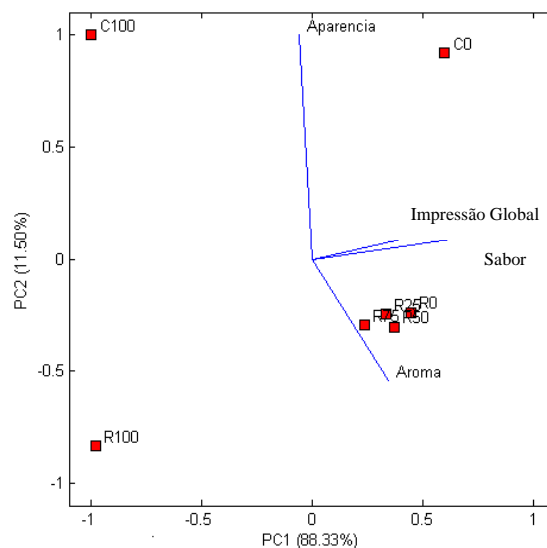


Figura 2 Análise de componentes principais das sete formulações de requeijão cremoso e dos atributos avaliados na análise sensorial. C100: requeijão cremoso controle com 100% de redução do sódio de adição (0,41mg/100g) e isenta de mistura de especiarias; C0: requeijão cremoso controle com quantidade padrão de sódio, 0% de redução (0,72g de sódio/100g), e isenta de especiarias; R100, R75, R50, R25, R0: requeijão remoso com 100, 75, 50, 25 e 0% de redução do sódio de adição (0,41g/100g) mais 1,5g de mistura de especiaria /100g de requeijão cremoso

Nota-se na Figura 2 que as formulações de requeijão cremoso com 100% de redução de sódio (C100 e R100) se distanciaram de todos os atributos avaliados (aparência, aroma, sabor, impressão global), entretanto, as formulações de requeijão com redução de 75, 50, 25% de sódio de adição e adição de mistura de especiarias (R75, R50 e R25), apresentaram-se próximas dos atributos aroma, impressão global e sabor.

Portanto, é possível afirmar que a adição de mistura de especiarias nos requeijões cremosos com redução de sódio contribuiu para melhor a aceitação dos mesmos, mesmo com redução importante de 75% do sódio de adição. Este

resultado reafirma as considerações de Dallepiane e Bós (2007), que alegaram que a adição de especiarias a um produto com redução de sódio garante boa adesão do mesmo. Além disso, a utilização de substâncias naturais, de origem vegetal, torna o alimento mais atrativo ao consumidor por não apresentarem efeito tóxico, mesmo quando empregadas em concentrações relativamente elevadas (DEANS; RITCHIE, 1987; LEE et al., 2004).

Em estudo semelhante foi possível constatar os benefícios sensoriais da adição de misturas de especiarias para redução do sódio em margarinas. No referido estudo foram adicionadas duas diferentes misturas de especiarias em margarinas, o que possibilitou a redução de até 75% do teor de sódio nestas (LOPES et al., 2014).

No trabalho realizado por Carraro et al. (2012) também foi evidenciado os benefícios sensoriais da adição de especiarias em alimentos industrializados. Eles desenvolveram mortadela com substituição de 50% do teor de sódio por cloreto de potássio (KCl), elemento químico que tem poder de salga e não promove elevação da pressão arterial, porém este apresenta sabor residual desagradável ao paladar que foi disfarçado com uma mistura de especiarias elaborada com coentro, cebola, pimenta branca, cardamomo e pimenta jamaicana. Os provadores preferiram a mortadela com substituição parcial do sódio por KCl e adição de especiarias em detrimento a mortadela com substituição do sódio por KCl sem adição da mistura de especiarias.

A redução da ingestão de sódio é muito importante, estudos clínicos e experimentais já mostraram a correlação positiva entre o sal consumido na dieta e valores de pressão arterial sistêmica (RUIVO; HEIMANN, 2003). Há muito tempo o sal tem sido considerado importante fator no desenvolvimento e na intensidade da hipertensão arterial, estando também relacionado ao aumento do risco para o desenvolvimento da hipertrofia ventricular esquerda e proteinúria. A sensibilidade ao sal está associada à mortalidade tanto em normotensos quanto

em pessoas com hipertensão que possuem idade superior a 25 anos (CASSIO; ROIM; MAURICIO, 2005). Não há dúvidas de que a hipertensão arterial sistêmica constitui sério problema de saúde pública em todo o mundo, em relação a dados brasileiros, sua prevalência oscila entre 15 e 20% na população adulta (MONFROI; OLIVEIRA, 2006). A redução de sódio em alimentos industrializados, a exemplo do requeijão cremoso desenvolvido neste trabalho, pode vir a contribuir positivamente para prevenção dos agravos relacionados a ingestão excessiva desse mineral.

3.3 Análises químicas

3.3.1 Caracterização química

Os resultados referentes à caracterização físico química das formulações de requeijões cremosos com redução do teor de sódio e com adição de mistura de especiarias estão dispostos na Tabela 3.

Tabela 3 Valores médios de sódio, pH, composição centesimal e energia das formulações de requeijão cremoso com redução do teor de sódio e adição de mistura de especiarias

| Tratamentos | *Códigos | Sódio (mg/100g) | pH | Umidade (%) | Lipídio | Cinza (%MS***) | Ptn** | Glicídio | Energia (kcal) |
|-------------|----------|-----------------|------|-------------|---------|----------------|-------|----------|----------------|
| T1 | C100 | 309,3 | 5,74 | 48,1 | 59 | 2,7 | 33,65 | 4,65 | 349,4 |
| T2 | C0 | 720,1 | 5,74 | 48,8 | 60 | 2,8 | 32,48 | 4,72 | 352,6 |
| T3 | R100 | 310,6 | 5,72 | 47,2 | 60 | 3,1 | 32,63 | 4,27 | 352,9 |
| T4 | R75 | 410,3 | 5,75 | 48,7 | 59 | 2,9 | 33,05 | 5,05 | 350,3 |
| T5 | R50 | 515,6 | 5,73 | 47,5 | 59 | 3,2 | 33,65 | 4,15 | 358,1 |
| T6 | R25 | 608,8 | 5,73 | 48,2 | 59 | 3,1 | 33,26 | 4,64 | 353,5 |
| T7 | R0 | 721,7 | 5,72 | 47,6 | 59 | 2,8 | 32,45 | 5,75 | 358,2 |
| - | CV% | - | 1,2 | 1,6 | 0,9 | 10,1 | 9,46 | - | - |

*C100: requeijão cremoso controle com 100% de redução do sódio de adição (0,41mg/100g) e isenta de mistura de especiarias; C0: requeijão cremoso controle com quantidade padrão de sódio, 0% de redução (0,72g de sódio/100g), e isenta de especiarias; R100, R75, R50, R25, R0: requeijão cremoso com 100, 75, 50, 25 e 0% de redução do sódio de adição (0,41g/100g) mais 1,5g de mistura de especiaria/100g de requeijão cremoso. **Ptn= proteína. ***MS = matéria seca. CV = coeficiente de variação. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ao nível de 5% de significância

O teor de sódio no sal de mesa (NaCl) foi igual a 49%. Dentre as sete amostras de requeijão cremoso o teor mínimo de sódio aferido foi na formulação C100 (309,3mg/100g) e o máximo na formulação R0 (721,7mg/100g), a diferença entre essas duas formulações é igual a 412,11mg, que corresponde ao sódio de adição, utilizado para realçar o sabor do produto. O sódio dos sais fundentes correspondeu a aproximadamente 310mg/100g do requeijão. A redução gradual de 100; 75; 50; 25 e 0% do sódio no produto foi feita considerando o sódio de adição (412,11mg/100g de requeijão cremoso, teor máximo) na forma de sal de mesa. Sendo assim, a redução de 100% do sódio de adição correspondeu a 412,11mg de Na/100g de requeijão cremoso; a de 75% a redução de 309mg de Na/100g de requeijão cremoso; a de 50% de redução a

206mg de Na/100 de requeijão cremoso e a de 25% de redução e a 103mg de Na/100g de requeijão cremoso. Estas reduções foram equivalentes a uma redução total de sódio no produto final igual a 58%, 43%, 29% e 14%, respectivamente.

Dentre as formulações de requeijão cremoso que foram submetidas a redução do teor de sódio de adição neste estudo, a que apresentou maior aceitação na análise sensorial foi a de 75% de redução de sódio. Esta formulação pode ser classificada como produto com teor de sódio reduzido de acordo com a legislação brasileira da ANVISA sobre informação nutricional complementar comparando-se com as referências que foram os requeijões controles deste estudo, RDC nº 54/2012 (BRASIL, 2012).

A ingestão de uma porção de 30g do requeijão cremoso com 0% de redução do teor de sódio (R0), 216,5mg de Na/30g de requeijão, fornece 9% do total de sódio a ser consumido ao longo do dia. Já a porção de 30g de requeijão cremoso com redução de 75% do sódio de adição (R75), com 123,09mg de Na/30g de requeijão, fornece 5% do valor diário de Na, ou seja, 4% a menos de Na em comparação com o requeijão controle deste estudo.

O sódio presente nas formulações de requeijão cremoso isentos do sódio de adição (C100 e R100) é derivado do sal fundente, dado o fato de que, para a fusão da massa foi indispensável a adição do sal fundente polifosfato de sódio (310mg de sódio/100g de requeijão cremoso), pois é ele que tem a capacidade de solubilizar a caseína com a consequente formação de um sistema homogêneo e estável. Os sais emulsificantes têm o papel de proporcionar a troca interna de íons possibilitando que as frações atuem como emulsificantes da dispersão óleo-água (FERNANDES, 1981; ZEHEN et al., 1992).

O pH não variou ($p > 0,05$) entre os tratamentos, o que já era esperado, pois, o processo de preparo da massa foi o mesmo para todos. O pH ligeiramente

acidificado é devido aos ácidos orgânicos produzidos pelas bactérias lácteas durante o processo de fermentação do leite para obtenção da massa.

O teor médio de calorias, umidade, glicídio, lipídio, cinza e proteína também foram bastante próximos para as sete formulações de requeijão cremoso, indicando que a redução de sódio e adição de especiarias não interferiu de forma significativa nessas variáveis.

Os teores de umidade das sete formulações de requeijão variaram entre 47,2 a 48,8%, ficando dentro do estabelecido pela legislação brasileira que é de no máximo de 65% para requeijão cremoso (BRASIL, 1997). A umidade do produto final torna-se importante sob o ponto de vista econômico, pois quanto maior a sua porcentagem maior o rendimento (VAN DENDER, 2006).

Os teores de gordura no extrato seco das formulações de requeijões cremosos deste estudo (59 a 60%) mostram-se inferiores aos requeijões cremosos comerciais (73,45%) (MESSAGE, 2006). O conteúdo de gordura influencia o sabor, a textura, a cremosidade, a aparência e a palatabilidade, pois o requeijão constitui sistema complexo composto de proteínas, gordura, água, sais minerais e outros ingredientes. Portanto, conforme se reduz a porcentagem de gordura, as proporções de proteína e umidade aumentam e alteram a textura do produto, interferindo de forma direta na aceitação sensorial do produto (PRENTICE, 1992).

O perfil e quantificação dos ácidos graxos encontrados nas amostras de requeijão cremoso com redução de sódio e adição de mistura de especiarias estão dispostos na Tabela 4.

Tabela 4 Perfil de ácidos graxos (g/100g) das sete formulações de requeijão cremoso com redução de sódio e adição de mistura de especiarias

| Ácidos Graxos (g/100g) | | Tratamentos/Códigos | | | | | | |
|---------------------------|-------------------|---------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T7 |
| | | C100 | C0 | R100 | R75 | R50 | R25 | R0 |
| Caprílico | C _{10:0} | 1,04 | 1,35 | 0,97 | 1,03 | 0,51 | 1,27 | 1,18 |
| Undecanóico | C _{11:0} | - | - | 1,08 | - | 0,47 | 0,87 | 1,38 |
| Láurico | C _{12:0} | 1,87 | 1,44 | 2,49 | 1,96 | 1,68 | 1,93 | 1,73 |
| Tridecanóico | C _{13:0} | 11,46 | 13,89 | 11,11 | 13,72 | 12,16 | 13,23 | 12,75 |
| Mirístico | C _{14:0} | 4,47 | 5,38 | 4,96 | 5,32 | 4,97 | 5,91 | 4,44 |
| Palmitoléico | C _{16:1} | 0,39 | 0,37 | 0,39 | 0,33 | 0,25 | 0,45 | 0,31 |
| Palmitico | C _{16:0} | 52,92 | 60,61 | 69,28 | 58,20 | 54,10 | 56,12 | 57,76 |
| Esteárico | C _{18:0} | 2,65 | 3,13 | 3,43 | 2,95 | 3,08 | 3,15 | 2,74 |
| Oléico | C _{18:1} | 9,29 | 8,62 | 11,02 | 8,88 | 9,10 | 9,84 | 11,05 |
| Linoléico | C _{18:2} | 5,37 | 4,07 | 4,65 | 3,36 | 4,59 | 4,36 | 4,05 |
| α-linolênico | C _{18:3} | 0,61 | 0,33 | 0,60 | 0,42 | 0,53 | 0,47 | 0,55 |

Não detectado = - C100: requeijão cremoso controle com 100% de redução do sódio de adição (0,41mg/100g) e isenta de mistura de especiarias; C0: requeijão cremoso controle com quantidade padrão de sódio, 0% de redução (0,72g de sódio/100g), e isenta de mistura de especiarias; R100, R75, R50, R25, R0: requeijão cremoso com 100, 75, 50, 25 e 0% de redução do sódio de adição (0,41g/100g) mais 1,5g de mistura de especiaria /100g de requeijão cremoso. A mistura de especiarias foi composta por cebola, alho e orégano

Os ácidos graxos detectados foram encontrados em quantidades semelhantes nas sete formulações de requeijões cremosos, sendo a grande maioria de ácidos graxos saturados, aproximadamente 86,5%; e apenas 10% de ácidos graxos insaturados. Este perfil lipídico se deve a gordura do creme de leite, derivado da gordura do leite de vaca, um dos principais ingredientes presente no requeijão cremoso.

O principal ácido graxo detectado foi o palmítico (média 57,14%), que também correspondeu ao principal ácido graxo mensurado por Souza et al. (2003) em leite pasteurizado, porém, em concentração consideravelmente

menor, 31,89%. Pellegrini et al. (2012) detectaram concentração ainda menor de ácido palmítico em leite bovino, 27,94%.

Com relação à somatória dos ácidos graxos saturados, Souza et al. (2003) e Pellegrini et al. (2012) detectaram concentração de 72,85 e 54,49, respectivamente, no leite de vaca, valores inferiores ao deste estudo, em que a média foi igual a 86,5 %.

3.3.2 Atividade antioxidante total e compostos antioxidantes

A mistura de especiarias adicionada no requeijão não contribui para melhorar o perfil de ácido graxos do produto, todavia, as especiarias apresentam propriedades funcionais e quando adicionadas aos alimentos, além de realçar o sabor, proporcionam benefícios à saúde, auxiliando na redução do risco de desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs), principalmente as cardiovasculares, por contribuírem para diminuição do processo inflamatório e oxidativo, devido a presença de compostos antioxidantes (MORAES; COLLA, 2006). Sendo assim, a atividade antioxidante total (AAT) das formulações de requeijões cremosos foi investigada e os resultados obtidos por meio do método DPPH estão apresentados no Gráfico 1.

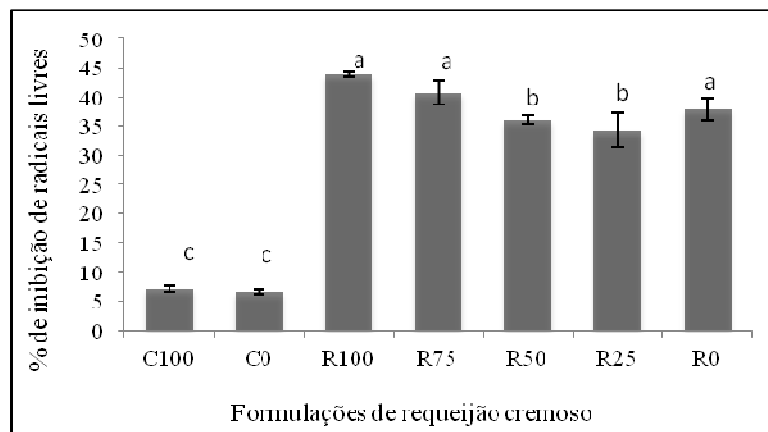


Gráfico 1 Valores médios da atividade antioxidante pelo método DPPH em % de inibição de oxidação utilizando extrato na concentração de 48mg/mL. C100: queijo cremoso controle com 100% de redução do sódio de adição (0,41mg/100g) e isenta de mistura de especiarias; C0: queijo cremoso controle com quantidade padrão de sódio, 0% de redução (0,72g de sódio/100g), e isenta de mistura de especiarias; R100, R75, R50, R25, R0: queijo cremoso com 100, 75, 50, 25 e 0% de redução do sódio de adição (0,41g/100g) mais 1,5g de mistura de especiaria/100g de queijo cremoso. A mistura de especiarias foi composta por cebola, alho e orégano. Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância

Ficou evidente que a adição 1,5g da mistura de especiarias por 100g do queijo cremoso (R100, R75, R50, R25, R0) contribui de forma positiva para elevar significativamente ($p \leq 0,05$) a atividade antioxidante total dos mesmos. A atividade antioxidante total nas formulações de queijo cremoso com adição de mistura de especiarias foi quase 7 vezes maior do que nas formulações controle (C100 e C0), sem adição da mistura. Este resultado foi distinto ao encontrado para atividade antioxidante total pelo sistema β -caroteno/ácido linoleico. Os resultados podem ser observados no Gráfico 2.

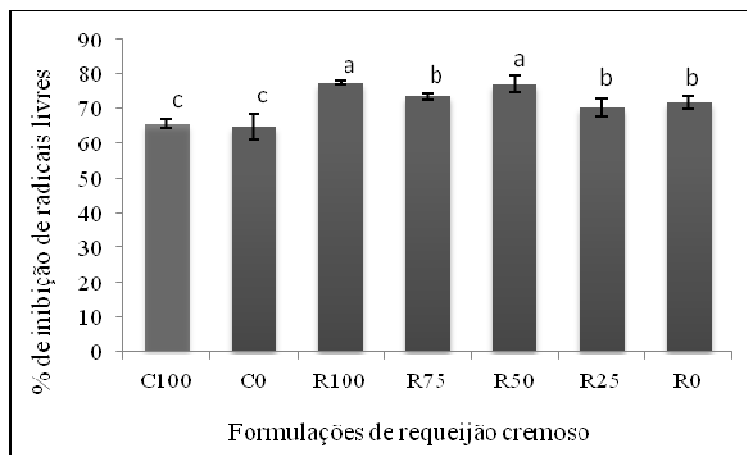


Gráfico 2 Valores médios da atividade antioxidante pelo método β -caroteno/ácido linoleico em % de inibição para 12g de amostra de requeijão cremoso. C100: requeijão cremoso controle com 100% de redução do sódio de adição (0,41mg/100g) e isenta de mistura de especiarias; C0: requeijão cremoso controle com quantidade padrão de sódio, 0% de redução (0,72g de sódio/100g), e isenta de mistura de especiarias; R100, R75, R50, R25, R0: requeijão cremoso com 100, 75, 50, 25 e 0% de redução do sódio de adição (0,41g/100g) mais 1,5g de mistura de especiaria /100g de requeijão cremoso. A mistura de especiarias foi composta por cebola, alho e orégano. Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância

A análise estatística dos resultados para atividade antioxidante total pelo sistema β -caroteno/ácido linoleico indicou que existe diferença significativa entre as formulações de requeijão cremoso, e que esta é 1,5 vezes maior para as formulações de requeijão com adição de mistura de especiarias (R100, R75, R50, R25, R0) em detrimento àquelas sem adição de especiarias (C100, C0). Contudo, esta diferença foi bastante inferior a encontrada pelo método DPPH (Gráfico 1).

Entende-se com os resultados da AAT (Gráfico 1 e 2) que a adição da mistura de especiarias proporcionou aumento considerável desta atividade no requeijão cremoso, entretanto, o método DPPH mensura principalmente a

atividade antioxidante relacionada à compostos hidrofílicos, enquanto que no sistema β -caroteno/ácido linoleico é detectada principalmente a atividade antioxidante de compostos lipofílicos, sendo assim, pregui-se que existe maior quantidade de compostos hidrofílicos do que lipofílicos com poder antioxidante na mistura de especiarias.

As especiarias contém mistura complexa de substâncias naturais bioativas com capacidade antioxidante, dentre as quais destacam-se os compostos fenólicos, que apresentam característica hidrofílica (NUUTILA et al., 2003; OCZAN; EREL; HERCK, 2009).

A fim de correlacionar a AAT das formulações de requeijão cremoso com os principais compostos antioxidantes das especiarias com característica hidrofílica e lipofílica, foram realizadas as análises de compostos fenólicos totais, compostos antioxidantes com características hidrofílica, e carotenoides totais, compostos antioxidantes com característica lipofílica (FAULKS E SOUTHON, 2005).

O teor de compostos fenólicos totais nas formulações de requeijão cremoso estão apresentados no Gráfico 3 em mg AGE/100⁻¹.

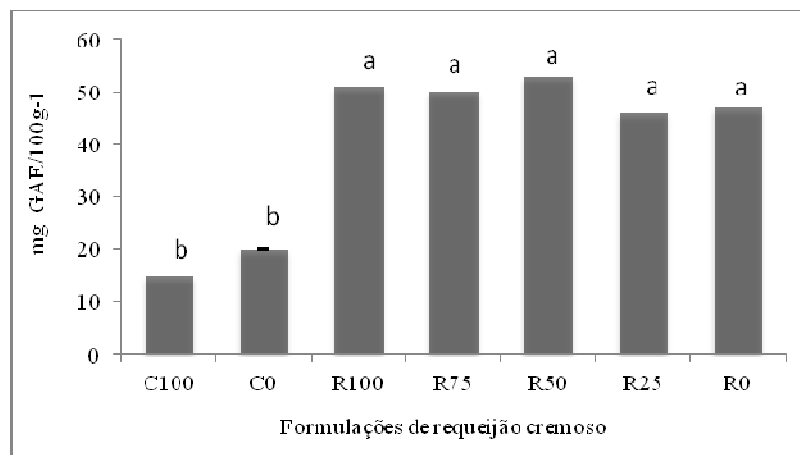


Gráfico 3 Composição média de compostos fenólicos em mg de ácido gálico equivalente/100g de amostra (mg AGE/g⁻¹) nos extratos etanólicos das formulações de requeijão cremoso. C100: requeijão cremoso controle com 100% de redução do sódio de adição (0,41mg/100g) e isenta de mistura de especiarias; C0: requeijão cremoso controle com quantidade padrão de sódio, 0% de redução (0,72g de sódio/100g), e isenta de mistura de especiarias; R100, R75, R50, R25, R0: requeijão cremoso com 100, 75, 50, 25 e 0% de redução do sódio de adição (0,41g/100g) mais 1,5g de mistura de especiaria /100g de requeijão cremoso. Mistura de especiarias= cebola, alho e orégano. Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância

Pode-se observar que as formulações de requeijão cremoso com adição de mistura de especiarias (R100, R75, R50, R25, R0) apresentaram concentração significativamente maior de compostos fenólicos em relação às formulações de requeijão cremoso sem adição de mistura de especiarias (C100 e C0), chegando essa diferença a atingir proporção maior que 5 vezes.

A mistura de especiarias adicionadas às formulações de requeijão cremoso foi composta por alho, cebola e orégano, o que proporcionou o acréscimo de tais compostos bioativos com característica antioxidante. Diversos estudos já reportaram a existência de quantidades consideráveis de compostos fenólicos nessas especiarias. Lu et al. (2011) relataram média igual a 17 mg

AGE/100g⁻¹ para o alho, valor próximo ao encontrado por Nieto et al. (2013), 12,8 mg AGE/100g⁻¹. A concentração de compostos fenólicos do alho é considerada baixa, mas a cebola e o orégano podem contribuir de forma considerável para o incremento de compostos fenólicos nas preparações a que são adicionados.

HERTOG et al. (1992) analisaram cultivares de cebolas amarelas e reportaram valores entre 48,6 e 28,4 mg EAG/100g⁻¹ de compostos fenólicos totais, e NUUTILA et al. (2003) relataram 84,5mg EAG/100g⁻¹ em cebola gigante e 155mg EAG/100g⁻¹ em cebola amarela. O composto fenólico predominante na cebola é a quercitina, potente antioxidante que confere coloração amarelada ou cor de pinhão aos bulbos. A cebola é um dos alimentos mais ricos em quercetina (300 mg.kg⁻¹ de massa fresca), apresenta teores mais elevados em comparação com a couve (100 mg.kg⁻¹ de massa fresca) e com o brócolis (30 mg.kg⁻¹ de massa fresca) (HOLLMAN; ARTS, 2000; SINGH et al., 2009).

O orégano apresenta alta concentração de compostos fenólicos, 28800mg AGE/100g⁻¹ (AMAROWICZ et al., 2009), e de acordo com Sahin; Bayramoglu e Sumni (2008) os principais compostos antioxidantes presentes no óleo essencial do orégano são timol (de 650 a 750 mg/mL), p-cimeno (de 60 a 85 mg/mL), carvacrol (de 40 a 60 mg/mL) , g-terpineno (de 35 a 50 mg/mL) , β mircenol (15mg /ml) e α -terpineno (de 10 a 15 mg/mL). Os compostos eugenol, timol e carvacrol são capazes de inibir a oxidação, comparável aos antioxidantes conhecidos, butilhidroxitolueno (BHT) e α -tocoferol. Além disso, a ingestão desses compostos aromáticos pode ajudar a prevenir danos oxidativos *in vivo*, como a peroxidação lipídica, que é associada ao câncer, envelhecimento precoce, aterosclerose e diabetes (DEL RÉ; JORGE, 2012).

Os teores médios de carotenoides nas sete formulações de requeijão cremoso encontram-se no Gráfico 4.

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) do teor de carotenoides entre as formulações de requeijão cremoso, indicando que a mistura de especiarias adicionada não contribuiu de forma importante para o incremento dos níveis deste no requeijão, mesmo os carotenoides estando presentes nas especiarias. De acordo com Rodriguez-Amaya e Amaya-Farfan (2008) o orégano, uma das especiarias presente na mistura, possui em média 56 μg de carotenoides/g.

Os carotenoides apresentam importante função antioxidante, eles agem protegendo os sistemas biológicos contra efeitos nocivos dos processos, ou reações, que podem causar oxidação excessiva (OCZAN; EREL; HERCK, 2009). Por isso, os mesmos têm sido associados à prevenção de neoplasias, ao aumento da atividade do sistema imunológico, prevenção de envelhecimento precoce, além de estarem relacionados à prevenção da maioria das doenças crônicas não transmissíveis (TAPIERO et al., 2004; LIMA et al., 2012; KAUR; KAPOOR, 2001).

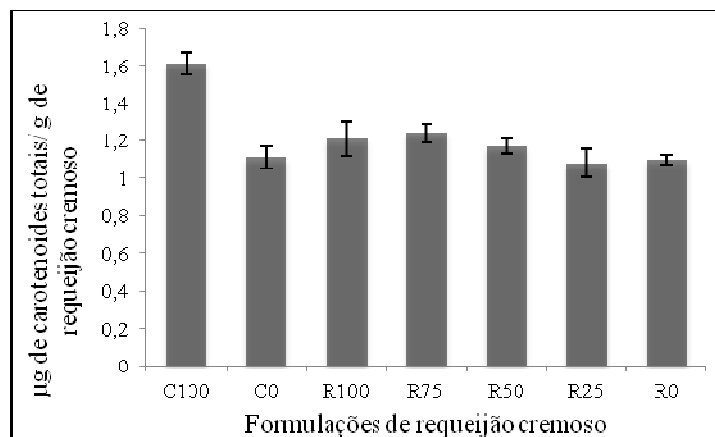


Gráfico 4 Valores médios da concentração de carotenoides totais nas formulações de requeijão cremoso em $\mu\text{g/g}$. C100: requeijão cremoso controle com 100% de redução do sódio de adição (0,41mg/100g) e isenta de mistura de especiarias; C0: requeijão cremoso controle com quantidade padrão de sódio, 0% de redução (0,72g de sódio/100g), e isenta de mistura de especiarias; R100, R75, R50, R25, R0: requeijão cremoso com 100, 75, 50, 25 e 0% de redução do sódio de adição (0,41g/100g) mais 1,5g de mistura de especiaria/100g de requeijão cremoso. A mistura de especiarias foi composta por cebola, alho e orégano. Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância

A análise de correlação dos resultados para a AAT (DPPH e Sistema β -caroteno ácido/linoleico) em relação aos compostos fenólicos totais e carotenoides totais está disposta na Tabela 5.

A análise de correlação de Pearson mostrou que existe correlação positiva forte ($p \leq 0,01$) entre compostos fenólicos e AAT mensurada pelo método DPPH. Este resultado sugere que a atividade antioxidante das formulações de requeijão é derivada principalmente dos compostos fenólicos e que, quanto maior for a concentração destes maior será a atividade antioxidante total. Este resultado corrobora com os dizeres de Guerra e Lajolo (2005), que afirmaram que a atividade antioxidante de especiarias e seus extratos é atribuída principalmente aos compostos fenólicos.

Tabela 5 Análise de correlação de Pearson entre os resultados para atividade antioxidante total, compostos fenólicos totais e carotenoides totais das amostras de requeijão cremoso com redução do teor de sódio e adição de mistura de especiarias

| | Compostos Fenólicos | Sistema β -caroteno | DPPH | Carotenoides totais |
|---------------------------|---------------------|---------------------------|---------|---------------------|
| Compostos fenólicos | 1 | 0,583* | 0,961** | 0,149 |
| Sistema β -caroteno | 0,583* | 1 | 0,147 | 0,901** |
| DPPH | 0,961** | 0,147 | 1 | 0,158 |
| Carotenoides totais | 0,149 | 0,901** | 0,158 | 1 |

* Correlação significativa ao nível de 0.05 **Correlação significativa ao nível de 0.01

A forte correlação positiva ($p \leq 0,01$) entre carotenoides totais e atividade antioxidante total mensurada pelo método β -caroteno/ácido linoleico indica que este método detecta principalmente a atividade antioxidante de compostos lipofílicos.

A vitamina E, termo genérico utilizado para designar diferentes compostos nomeados α , β , γ e δ (alfa, beta, gama e delta) tocoferóis, e os tocotrienóis, é um antioxidante de carácter lipofílico, assim como os carotenoides. Eles são importantes antioxidantes que auxiliam na prevenção de rancidez oxidativa e podem estar presentes em especiarias (VACLAVIK; CHRISTIAN, 2003). Sendo assim, foram mensurados os tocoferóis nas formulações de requeijão cremoso e os resultados estão dispostos na Tabela 6.

Tabela 6 Teor médio de tocoferóis nas sete formulações de requeijão cremoso com redução do teor de sódio e adição de mistura de especiarias

| Tratamentos | Códigos | Redução Na (%)* | Especiarias (g)** | Variáveis (mg/kg ⁻¹) | | |
|-------------|---------|-----------------|-------------------|----------------------------------|-------------|-------------|
| | | | | α-tocoferol | δ-tocoferol | γ-tocoferol |
| T1 | C100 | 100 | 0 | 1,44 | 464,68 | 96,36 |
| T2 | C0 | 0 | 0 | 1,55 | 458,62 | 95,19 |
| T3 | R100 | 100 | 1,5 | 1,38 | 456,29 | 95,30 |
| T4 | R75 | 75 | 1,5 | 1,91 | 462,99 | 95,47 |
| T5 | R50 | 50 | 1,5 | 1,17 | 463,23 | 94,84 |
| T6 | R25 | 25 | 1,5 | 1,23 | 467,25 | 94,30 |
| T7 | R0 | 0 | 1,5 | 1,66 | 454,58 | 96,08 |

Não foi detectado - *Na = sódio. Considerou-se neste estudo a redução de sódio partindo de 0,41 g, equivalente a 0,84g de sal de mesa (NaCl) com teor de 49% de sódio. **Mistura de especiarias = 45% de alho, 30% de cebola e 25% de orégano

O β-tocoferol não foi detectado em nenhuma das formulações de requeijão cremoso, e os teores de α, γ e δ-tocoferol foram encontrados e quantidades semelhantes para as amostras de requeijão cremoso com e sem adição de mistura de especiarias, indicando que a mistura não contribuiu para o incremento de tocoferol nas formulações de requeijões cremosos.

Em geral, quando presente, o teor de tocoferóis em especiarias é relativamente baixo. Rios e Penteadó (2002) relataram média de 6,95 mg/kg⁻¹ de alfa tocoferol em alho. Considerando que a mistura de especiarias desse estudo foi adicionada no requeijão cremoso na proporção de 1,5g/100g, dificilmente essa diferença seria detectada.

Independentemente da característica do composto, lipofílico ou hidrofílico, deve-se destacar que a adição de mistura de especiarias no requeijão cremoso agregou atividade antioxidante total de forma significativa ($p \leq 0,05$), fator de extrema importância, já que, os consumidores modernos estão exigindo cada vez mais produtos naturais, livres de aditivos sintéticos, sendo o uso alimentos fontes de antioxidantes naturais uma tendência para o futuro (DINI;

TENORE; DINI, 2008). Além disso, o sabor dos mesmo é altamente favorável aos consumidores, o que facilita o uso (ARCILA-LOZANO et al., 2004).

O requeijão é um produto gorduroso, altamente vulnerável a deterioração oxidativa, desta forma, o efeito protetor dos antioxidantes naturais é bastante oportuno, já que, o retardo da degradação oxidativa dos lipídios nos alimentos contribui para a melhora da qualidade e valor nutricional dos mesmos (OCZAN; EREL; HERCK, 2009).

Pesquisadores têm realizado trabalhos nesse sentido, a exemplo de Amarowicz et al. (2009), que adicionaram tomilho, orégano e manjerona em margarina buscando prevenir a rancificação deste produto rico em lipídeos. Olmedo; Nepote e Grosso (2013) adicionaram óleo essencial de orégano e alecrim em requeijão cremoso para avaliar as alterações nos parâmetros de qualidade do requeijão cremoso ao longo do tempo. Eles observaram que óleos dessas especiarias melhoraram a estabilidade oxidativa e fermentativa e ainda impediram a oxidação lipídica e o desenvolvimento de sabor rançoso e fermentado no produto, prolongando desta forma a vida útil do mesmo.

Kaur et al. (2011) incorporaram cristais de licopeno (um antioxidante da classe do carotenoides) em sorvete, manteiga e maionese e avaliaram a vida útil destes produtos durante quatro meses. O licopeno foi eficiente em retardar o desenvolvimento de odores e cores característicos da oxidação lipídica em comparação as amostras controles do mercado. E as notas para os atributos sensoriais foram semelhantes para as amostras controle (sem adição de licopeno) e amostras com adição de licopeno.

O efeito de especiarias desidratadas e extrato etanoico das mesmas foi estudado sobre a estabilidade do frango e carne fresca. As atividades antioxidantes dos temperos foram medidos por substâncias ácidas reativas ácido tiobarbitúrico (TBARS) e índice de peróxidos nas amostras de carne. A oxidação lipídica foi eficazmente inibida na carne de frango tratada com várias especiarias

desidratadas, diminuindo os TBARS a um intervalo de 32 % e 83 % dos encontrados nas amostras controle. A utilização de especiarias, misturas de especiarias ou de extratos de especiarias em produtos cárneos semi- preparados destinados a ser congelado por até seis meses ou mais antes do consumo, provou ser vantajoso em relação da vida de prateleira dos alimentos e à saúde humana devido ao efeito benéfico de especiarias na inibição da peroxidação lipídica durante o tratamento térmico e sob refrigeração (EL-ALIM et al., 1999) .

Devido a esta propriedade de conservação de alimentos dos compostos antioxidantes presentes em especiarias, foi realizada a análise de TBARS para verificar se a mistura de especiarias adicionada ao requeijão cremoso contribuiu para conservação oxidativa do mesmo. Os resultados da análise de TBARS estão dispostas no Gráfico 5.

Os valores de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) são utilizados como indicador do grau de oxidação lipídica, quantificando o malonaldeído, que é um dos principais produtos da decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos polinsaturados formado durante o processo oxidativo (KIRSCHNIK; MACEDO-VIEGAS, 2009).

Não foi observada diferença significativa ($p \leq 0,05$) dos níveis de malonaldeído nas amostras com adição de mistura de especiarias (R100, R75, R50, R25, R0) em relação às amostras sem adição de mistura de especiarias (C100 e C0), o que sugere que a quantidade de mistura de especiarias adicionada nas formulações de requeijão cremoso (1,5g/100g), não foi suficiente para promover a proteção contra a oxidação.

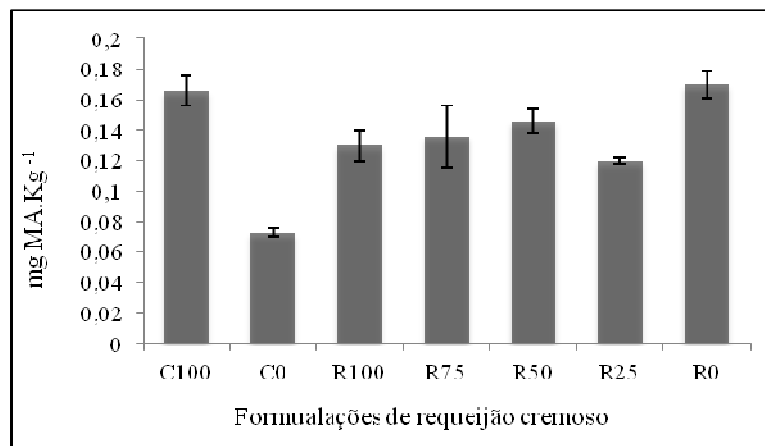


Gráfico 5 Valor médio do teor de malonaldeído em mg/kg^{-1} nas formulações de requeijão cremoso. C100: requeijão cremoso controle com 100% de redução do sódio de adição ($0,41\text{mg}/100\text{g}$) e isenta de mistura de especiarias; C0: requeijão cremoso controle com quantidade padrão de sódio, 0% de redução ($0,72\text{g}$ de sódio/ 100g), e isenta de mistura de especiarias; R100, R75, R50, R25, R0: requeijão cremoso com 100, 75, 50, 25 e 0% de redução do sódio de adição ($0,41\text{g}/100\text{g}$) mais $1,5\text{g}$ de mistura de especiaria / 100g de requeijão cremoso. A mistura de especiarias foi composta por cebola, alho e orégano. Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância

Contudo, para afirmar que a mistura de especiarias, na quantidade utilizada neste estudo não foi eficaz na proteção do requeijão cremoso contra rancificação, é importante que se realize outros testes, tais como quantificação de ácidos graxos livres, índice de iodo, índice de peróxido, que geralmente aumentam com o período de armazenamento (KAUR et al. 2011), e também que essas determinações sejam realizadas ao longo do tempo.

4 CONCLUSÕES

A adição da mistura de especiarias contendo alho, cebola e orégano, viabilizou redução de até 75% do sódio de adição entre as formulações de requeijão cremoso, o que correspondeu a 43% de redução do sódio no produto final. A adição de mistura de especiarias aumentou a ação antioxidante total do produto.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sugere-se a determinação da vida útil do requeijão cremoso e ainda a variação da proporção da mistura de especiarias adicionada para determinar a concentração eficaz na proteção do requeijão cremoso contra rancificação.

REFERÊNCIAS

- AMAROWICZ, R.; EGARSKA, Z. Z.; RAFAŁOWSKI, R.; PEGG, R. B.; KARAMAC, M., SKA, A. K. Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of ethanolic extracts of thyme, oregano, and marjoram. **Eur. J. Lipid Sci. Technol.**, v. 111, p. 1111–1117, 2009.
- ARCILA-LOZANO, C.C.; LOARCA-PINA, G.; LECONA-URIBE, S.; MEJIRA, E. G. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.54, n.1, p.100-11, 2004.
- ASSOCIATION OF AGRICULTURAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. v. 2 (18rd ed.). Gaithersburg: AOAC International, 2006. 1141 p.
- ATWATER, W. O.; WOODS, C.D. The chemical composition of american food materials. **Farmers' Bulletin**, n. 28. U.S. Department of Agriculture. Washington, 1896.
- BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 28, n. 5, p. 25-30, 1995.
- BRASIL, 2011. Ministério da Saúde. Termo de Compromisso entre o Ministério da Saúde, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e as Associações Brasileiras das Indústrias de Alimentação, das Indústrias de Massas Alimentícias, da Indústria de Trigo e da Indústria de Panificação e Confeitaria, de 13 de Dezembro de 2011. Brasília: 2011. Disponível em: http://189.28.128.100/nutricao/docs/geral/termo_de_compromisso_plano_monitoramento.pdf. Acessado em janeiro de 2014.

BRSIL ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC Nº 54, de 12 de novembro de 2012. Regulamento técnico Mercosul sobre informação nutricional complementar (Declarações de propriedades nutricionais). Disponível em:
http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/630a98804d7065b981f1e1c116238c3b/Resolucao+RDC+n.+54_2012.pdf?MOD=AJPERES

CARRARO, C. I.; MACHADO, R., ESPINDOLA, V., CAMPAGNOL, P. C. B., Pollonio, M. A. R. The effect of sodium reduction and the use of herbs and spices on the quality and safety of bologna sausage. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 32, p. 289-295, 2012.

CASTRO, M. E.; ROLIM, M. O.; MAURICIO, T. F. Prevenção da hipertensão e sua relação com o estilo de vida de trabalhadores. **Acta Paul Enferm.**, v. 18, n. 2, p. 184-9, 2005.

DALLEPIANE, L. B.; BÓS, J. A. G. O uso de condimentos na dieta de um grupo de hipertensos: estudo de intervenção randomizado. **Rev. bras. nutr. clin.**, v. 22, n. 4, p. 286-291, 2007.

DEANS, S. G.; RITCHIE, G. Antibacterial properties of plant essential oils. **International Journal of Food Microbiology**, n. 5, p. 165-171, 1987.

DEL RÉ, P.V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.14, n.2, p. 389-399, 2012.

DINI, I.; TENORE, G. C.; DINI, A. Chemical composition, nutritional value and antioxidant properties of *Allium caepa* L. Var. *tropeana* (red onion) seeds. **Food Chemistry**, n. 107, p. 613–621, 2008.

EL-ALIM, A.; LUGASI, A.; HOVARI, J.; DWORSCHAK., E.; Culinary herbs inhibit lipid oxidation in raw and cooked minced meat patties during storage, v. 79, p. 277-285, 1999.

FAULKES, R. M., SOUTHON, S. Challenges to understanding and measuring carotenoid bioavailability. **Biochim Biophys Acta**, v. 1740, n. 2, p. 95-100, 2005.

FERNANDES, A. G. Paramentos fundamentais para o processamento de queijo fundido. In: MARTINS, J. F. P.; FERNANDES, A. G. **Processamento de requeijão cremoso e outros queijos fundidos**. Campinas: Instituto de tecnologia de alimentos, 1981, Cap. 5, p. 1-11.

FERREIRA, D. F. Sisvar: Um programa para análise e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Lavras, v. 6, n. 4, p. 36-41, 2008.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, v.226, n.1, p.497-509, 1957.

GIGANTE, M.L.; ALMEIDA, T.C.A.; KAWASHIMA, L.M.; ROIG, S.M. Sensory evaluation of "Requeijão cremoso" cheese with protein concentrate. In: 1999 **IFT ANNUAL MEETING**. Chicago, E.U.A., 1999.

GUERRA, N. B.; LAJOLO, F. M.; Ação antioxidante de especiarias face diferentes atividades de água. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 25, n. 1, p. 45-50, 2005.

GUIA ALIMENTAR PARA A POPULAÇÃO BRASILEIRA, 2005. Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Coordenação Geral da Política de Alimentação e Nutrição. 10 p.

HERTOG, M. G. L.; HOLLMAN, P. C. H.; KATAN, M. B. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits co.,only consumed in The Netherlands. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, p. 2379-2383, 1992.

HOLLMAN, P. C. H.; ARTS, I. C. W. Flavonols, flavones and flavonols – nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the food and agriculture**, v. 80, p. 1081-1093, 2000.

KAUR, C.; KAPOOR, H.C. Antioxidants in fruits and vegetables. **International Journal of Food Science and Technology**, n. 36, p. 703-725, 2001.

KAUR, D.; WANI, A. B.; SINGH, D. P.; SHELF, D. F. life enhancement of butter, ice cream, and mayonnaise by addition of lycopene. **Sogi International Journal of Food Properties**, v.14, p. 1217–1231, 2011.

KAWASAKI, T.; DELEA, C.S.; BARTTER, F.C.; SMITH, H. The effect of high-sodium and low-sodium intakes on blood pressure and other related variables in human subjects with idiopathic hypertension. **Am J Med**, n. 64, v. 2, p.193-8, 1978.

KIRSCHNIK, P. G.; MACEDO-VIEGAS, E. M. Efeito da lavagem e da adição de aditivos sobre a estabilidade de carne mecanicamente separada de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante estocagem a –18 °C. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** v. 29, p. 200-206; 2009.

LEE, E. J.; AHN, D. U. Production of volatiles from fatty acids and oils by irradiation. **J. Food Science**, n. 68, v. 1, p. 70-75, 2004.

LIMA, A. **Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo*, e identificação dos compostos fenólicos presentes no Pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.)**. 2008. 229 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

LONGOBARDI, F.; VENTRELLA, A.; CASIELLO, G.; SACCO, D.; TASIOULA-MARGARI, M.; KIRITSAKIS, A. K.; KONTOMINAS, M. G. Characterization of the geographical origin of western greek virgin olive oils based on instrumental and multivariate statistical analysis. **Food Chemistry**, 133, 169–175, 2012.

LOPES, C. O., BARCELOS, M. D. F. P., DIAS, N. A. A., CARNEIRO, J. D. D. S., ABREU, W. C. Effect of the addition of spices on reducing the sodium content and increasing the antioxidant activity of margarine. **LWT - Food Science and Technology**, v. 58, n. 1, p. 63-70, 2014.

LU, X.; ROSS, C. F. R.; POWERS, J. R.; ASTON, D. E.; RASCO, B. A. Determination of total phenolic content and antioxidant activity of garlic (*Allium sativum*) and elephant garlic (*Allium ampeloprasum*) by attenuated total reflectance-fourier transformed infrared spectroscopy. **J. Agric. Food Chem.**, v. 59, p. 5215–5221, 2011.

MACFIE, H. J.; BRATCHELL, N. Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry over effects in hall tests. **Journal of Sensory Studies**, v. 4, n. 15, p. 129-148, 1989.

MANFROI, A.; OLIVEIRA, F. A. Dificuldades de adesão ao tratamento na hipertensão arterial sistêmica: considerações a partir de um estudo qualitativo em uma unidade de Atenção Primária à Saúde. **Rev Bras Med Fam**, v.2, n. 7, 2006.

MARTELLI, A. Redução das concentrações de cloreto de sódio na alimentação visando a homeostase da pressão arterial. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental REGET**, v. 18, n. 1, p.428-436, 2014.

MORAES, F., P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutraceuticos: Definições, legislações e benefícios à saúde. **Revista eletrônica de farmácia**, n. 3, v. 2, 109-122, 2006.

NIETO, G.; JONGBERG, S.; ANDERSEN, M. L.; SKIBSTED, L. H. Thiol oxidation and protein cross-link formation during chill storage of pork patties added essential oil of oregano, rosemary, or garlic. **Meat Science**, v. 95, p. 177–184, 2013.

NUNES, C. A.; PINHEIRO, A. C. M. **Senso Maker**, version 1.0. UFLA, Lavras, 2012.

NUUTILA, A. M.; PUUPPONEN-PIMIA, R.; AARNI, M.; OKSMAN-CALDENTY, K. M. Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity. **Food Chemistry**, v. 81, p. 485-93, 2003.

OLIVEIRA, J. S. **Queijo: fundamentos tecnológicos**. 2 ed. São Paulo: Ícone, 1990.

OZCAN, M. M.; EREL, O.; HERKEN, E.E. Antioxidant activity, phenolic content, and peroxide value of essential oil and extracts of some medicinal and aromatic plants used as condiments and herbal teas in Turkey. **J Med Food**, v. 12, n. 1, p. 198-202, 2009.

PELLEGRINI, L. G.; PELLEGRIN, A. C. R. S.; GUSSO, A. P.; MATTANNA, P.; CASSANEGO, D. B. Análise do perfil de ácidos graxos do leite bovino caprino e ovino. **Synergismus científica UTFPR**, Pato Branco, v. 7, n. 1, 2012.

PEREIRA, D. B. C.; SILVA, P. H. F.; COSTA JUNIOR, L. C. G.; OLIVEIRA, L. L. **Físico-química do leite e derivados: métodos analíticos**. p. 112-113, 2 ed. 2001 Juiz de Fora: EPAMIG, 2001, 234 p.

PIGGOTT, J. R. **Sensory analysis of foods**. New York, USA: Elsevier Applied Science Publishers, p. 157-161, 1984.

PRENTICE, J. H. **Dairy rheology: a concise guide**. Cambridge: VCH, 1992. 165 p.

RIOS, M. D. G.; PENTEADO, M. D. V. C. Determinação de α -tocoferol em alho irradiado utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). **Quim. Nova**, v. 26, n. 1, p. 10-12, 2003.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M. **Harvest plus handbook for carotenoid analysis. Harvest plus technical monograph 2.** Washington, DC and Cali: International Food Policy Research Institute (IFPRI) and International Center for Tropical Agriculture (CIAT). 2004, p. 35-36.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; AMAYA-FARFAN, J. M. K. Fontes brasileiras de carotenoides: **Tabela brasileira de composição de carotenoides em alimentos.** Brasília 2008, 99 p.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; FILHO, J. M.; MOREIRA, A. V. B. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas no sistema β -caroteno/Ácido Linoléico.** Brasília: EMBRAPA, 2006. 16 p. (Comunicado Técnico, 126).

SAHIN, S.; BAYRAMOGLU, B.; SUMNU, G. Solvent-free microwave extraction of essential oil from oregano. **Journal of Food Engineering**, v. 88, n. 4, p. 535-540, 2008.

SANTOS, J. A. Requeijão: produto típico do Brasil com mercado emergente. **Revista Leite e Derivados**, v. 11, n. 66, p. 36-46, 2002.

SANTOS, A. Sódio, potássio, cloro e bicarbonato da dieta: efeitos na pressão arterial e doença cardiovascular. **Revista Factores de Risco**, n. 14, p.44-49, 2009.

SILVA, A. T.; VAN DENDER, A. G. F.; MELLO, F. M. Características de fusão de quatro diferentes tipos de massas utilizadas na fabricação de requeijão cremoso. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 59, n. 339, p. 97-103, 2004.

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S. dos; GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água.** 4 ed. São Paulo: Livraria Varela, 2010. 632 p.

SINGH, B.N.; SINGH, B. R.; SINGH, R. L.; PRAKASH, D. SINGH, D. P.; SARMA, B. K.; UPADHYAY, G.; SINGH, H. B. Polyphenolics from various extracts/fractions of red onion (*Allium cepa*) peel with potent antioxidant and antimutagenic activities. **Food and Chemical Toxicology**, n. 47, p. 1161–1167, 2009.

SOUZA, L. G.; SANTOS, G. T.; DAMASCENO, J. C.; MATSUSHITA, M.; SAKAGUTI, E. S.; RIBAS, N. P.; VILLALBA, R. G. Avaliação da composição e do perfil de ácidos graxos do leite de vaca cru e pasteurizado em minilaticínios. **Maringá**, v. 25, n. 2, p. 331-337, 2003.

TAPIERO, H.; TOWNSEND, D. M.; TEW, K. D. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. **Biomedicine e Pharmacotherapy**, v. 58, 100–110, 2004.

VACLAVIK, V. A.; CHRISTIAN, E. W. **Essentials of food science**. 2nd ed. New York: Klumer Academic/ Plenum Publishers, 2003.

VALTUENA, S.; PELLEGRINI, N.; FRANZINI, L.; BIANCHI, M. A.; ARDIGO, D. DEL RIO, D.; PIATTI, P. M.; SCAZZINA, F.; ZAVARONI, I.; BRIGHENTI, F. Food selection based on total antioxidant capacity can modify antioxidant intake, systemic inflammation, and liver function without altering markers of oxidative stress¹. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 87, p. 1290–7, 2008;

VAN DENDER, A. G. F. Fabricação de queijos fundidos e de requeijão cremoso: aspectos legais e parâmetros para escolha de matéria-prima. **Revista Indústria de Laticínios**, v. 4, n. 35, p. 62-66, 2001.

VAN DENDER, A. G. F. **Requeijão cremoso e outros queijos fundidos: tecnologia de fabricação, controle do processo e aspectos de mercado**. São Paulo, SP: Fonte Comunicações e Editora, 2006. 391p.

VYNCKE, B.W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette Seifen Anstrichm.**, v.72, n.12, p.1084- 1087, 1970.

WATERHOUSE, A. L. Polyphenolics: determination of total phenolics. In: Wrolstad, R. E. **Current protocols in food analytical chemistry**. New York: J. Wiley, p. 11-18, 2002.

WHO - World Health Organization, 2003. **Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases**. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. (Technical report series n° 916). Disponível em: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_916.pdf.

WILLETT, W. C. Eat, drink and be healthy. New York: Simon & Schuster, 2001, 299p.

WROLSTAD, R.E. Analysis of tocopherols and tocotrienols. In: **Current protocols in food analytical chemistry** (CPFA), (Eds.): R. E. Wrolstad, John Wiley & Sons, 2003

YABUTA, C. Y.; CARDOSO, E.; ISOSAKI, M. Dieta hipossódica: aceitação por pacientes internados em hospital especializado em cardiologia. **Rev. bras. nutr. clin.**, v. 21, p. 33-37, 2006.

YU, L.; HALEY, S.; PERRET, J.; HARRIS, M.; WILSON, J.; QIAN, M. Free radical scavenging properties of wheat extracts. **J. Agric. Food Chem.**, v.50, p.1619-1624, 2002.

ZEHREN, V. L.; NUSBAUM, D. D. **Process cheese**. Madison: cheese reporter publishing company, 1992. 363 p.