

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Uso de ervas aromáticas na estabilidade oxidativa de filés de sardinha
(*Sardinella brasiliensis*) processados**

Karen Rother Piedade

Dissertação apresentada para a obtenção do título
de Mestre em Ciências. Área de concentração:
Ciência e Tecnologia de Alimentos

**Piracicaba
2007**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Karen Rother Piedade
Engenheiro Agrônomo

**Uso de ervas aromáticas na estabilidade oxidativa de filés de sardinha
(*Sardinella brasiliensis*) processados**

Orientadora:

Prof. Dra. **MARISA APARECIDA BISMARA REGITANO D'ARCE**

Dissertação apresentada para a obtenção do título
de Mestre em Ciências. Área de concentração:
Ciência e Tecnologia de Alimentos

**Piracicaba
2007**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Piedade, Karen Rother

Uso de ervas aromáticas na estabilidade oxidativa de filés de sardinha (*Sardinella
brasiliensis*) processados / Karen Rother Piedade. - - Piracicaba, 2007.
160 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2007.
Bibliografia.

1. Antioxidantes 2. Condimentos e especiarias 3. Lipídeos 4. Oxidação 5. Pescado
6. Plantas aromáticas 7. Processamento de alimentos 8. Sardinha I. Título

CDD 639.375

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

Dedico principalmente ao meu pai Francis, que sempre apoiou minhas empreitadas com incentivos de todos os tipos e a minha mãe Angela, grande incentivadora desse mestrado. Às minhas irmãs Jú e Dê e as queridas tia Ciça e tia Mi por tudo que significam para mim. Ao Maurício, por saber como deixar tudo bem mais alegre.

AGRADECIMENTOS

À minha família que eu amo muito.

Ao meu pai, que sempre está disposto a escutar o que eu tenho a dizer e pela ajuda financeira neste período.

À minha mãe pelo constante estímulo e preocupação para a formação acadêmica e pessoal.

A Tia Mi e Tia Ciça. Faltam palavras para descrever essa amizade.

Ao meu namorado Maurício pela amizade e carinho e por saber entender meu cansaço nos momentos finais desse trabalho.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e os motivos não caberiam aqui e a todos os professores que contribuíram para minha formação com preciosos ensinamentos.

À professora Dra. Marisa Aparecida Bismara Regitano d’Arce pela valiosa transferência de seus conhecimentos intelectuais e morais. Agradeço seus conselhos construtivos em certos momentos. Obrigada pela generosidade com que compartilhou sua experiência e pelo auxílio indispensável à conclusão dessa pesquisa.

À professora Dra. Marília Oetterer, pelas dicas, conselhos, indicações de leituras e pela transferência de contatos importantes para essa pesquisa. Aproveito para elogiar a maneira especial com que conduz suas disciplinas.

À amiga Dra. Aline Calil Racanicci, pelas idéias e sugestões iniciais, pela transferência de conhecimento prático e teórico, pela paciência em esclarecer dúvidas, pelas conversas de apoio, ajuda prática no laboratório, até mesmo aos finais de semana, pelo empréstimo de materiais, pela companhia em congresso, pela parceria em artigos e no dia-a-dia. Eu a admiro muito, assim como sua família.

À professora Thaís Vieira, que ajudou nos momentos finais e conclusivos, colaborando com idéias para discussão dos resultados. Obrigada pela grande ajuda na parte estatística do trabalho, sendo que nessa hora, fez questão de ensinar conceitos e

modelos que eu desconhecia. Agradeço muito as idéias, a disposição e o indispensável auxílio.

À professora Carmen Josefina Contreras Castilho, pela contribuição e apoio, em relação ao uso de equipamentos, até mesmo aos finais de semana.

Ao professor Severino pelas valiosas sugestões e questionamentos e por ter emprestado seu espaço para a realização de certas metodologias. Obrigada pelo apoio assim como o de seu pessoal.

Ao professor José Eurico Possebon Cyrino pelos constantes esforços em relação a aquicultura brasileira. Assim é possível que “nós dos alimentos” possamos trabalhar na parte final da cadeia de produção.

A grande amiga Lilian Pino pelo companheirismo e incentivo em diversos momentos. Nossa amizade pode se solidificar nesse período e isso para mim não tem preço.

À técnica Maria Fernanda Almeida Prado pelas risadas e pela amizade. Agradeço seus ensinamentos dentro do laboratório e seu auxílio imprescindível para a conclusão das análises. Obrigada pelo seu apoio.

Às companheiras de trabalho do laboratório, Ana Paula, Ana Carolina, Cristiane e estagiárias. Agradeço a ajuda e o carinho em diversos momentos.

A todos os funcionários do LAN, secretárias, técnicas, faxineiras, bibliotecárias e outros.

Às bibliotecárias Silvia e Eliana, por sempre estarem sorridentes e dispostas na biblioteca central. À Bia, pela ajuda na biblioteca do departamento.

À empresa “Horta em Casa” por disponibilizar dados técnicos de produção das ervas aromáticas, abrindo suas portas e conhecimentos específicos.

À empresa Sealed Air (Cryovac® Fresh Food Packaging) que disponibilizou todas as embalagens. Fui sempre atendida com rapidez e eficiência.

A todos que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho

“Sê humilde para evitar o orgulho, mas voa alto
para alcançar a sabedoria”. (Santo Agostinho)

"Eu lavo as minhas mãos em relação àquele que
imagina que falar seja conhecimento, que
silêncio seja ignorância, e que indecisão
seja arte." (Gibran Kahlil Gibran)

SUMÁRIO

RESUMO.....	10
ABSTRACT.....	11
LISTA DE FIGURAS	12
LISTA DE TABELAS.....	13
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	14
LISTA DE SÍMBOLOS.....	16
1 INTRODUÇÃO.....	17
1.1 Revisão Bibliográfica.....	20
1.1.1 Importância do pescado.....	20
1.1.2 Ácidos graxos essenciais.....	22
1.1.3 Peixes na dieta.....	27
1.1.4 Oxidação lipídica.....	34
1.1.5 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.....	44
1.1.6 Antioxidantes.....	48
1.1.6.1 Tendências.....	48
1.1.6.2 Antioxidantes naturais.....	50
1.1.6.3 Antioxidantes naturais em peixes processados.....	51
Referências.....	53
2 ANTIOXIDANTES NATURAIS : NOVA TENDÊNCIA NA AGROINDÚSTRIA DE ALIMENTOS, NUTRIÇÃO E NAS PESQUISAS CIENTÍFICAS: UMA REVISÃO.....	68
Resumo.....	68
Abstract.....	68
2.1 Introdução.....	69
2.2 Revisão Bibliográfica.....	70
2.2.1 Histórico.....	70
2.2.2 Antioxidantes.....	71
2.2.3 Mecanismo de ação dos antioxidantes.....	72
2.2.4 Antioxidantes sintéticos.....	76
2.2.5 Antioxidantes naturais.....	77

2.2.5.1 Evidências.....	77
2.2.5.2 Plantas, ervas e especiarias.....	78
2.2.5.3 Tocoferóis e compostos fenólicos.....	81
2.2.5.4 Antioxidantes naturais em alimentos processados.....	83
2.2.5.5 Extratos.....	84
2.2.5.6 Métodos de extração e avaliação da capacidade antioxidante.....	85
2.2.5.7 Tendências de mercado.....	89
2.3 Considerações finais e conclusão.....	92
Referências.....	92
3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE ORÉGANO E ALECRIM SOBRE A ESTABILIDADE OXIDATIVA DE SARDINHA.....	104
Resumo.....	104
Abstract.....	104
3.1 Introdução, justificativa e objetivo.....	105
3.2 Materiais e métodos.....	105
3.2.1 Preparo das amostras.....	105
3.2.2 Análises químicas.....	106
3.2.3 Análises estatísticas dos dados.....	106
3.3 Resultados e discussão.....	107
Referências.....	109
4 USO DE ERVAS NA ESTABILIDADE OXIDATIVA DE FILÉS DE SARDINHA PROCESSADOS.....	110
Resumo.....	110
Abstract.....	110
4.1 Introdução e justificativa.....	111
4.2 Objetivo.....	115
4.3 Materiais e métodos.....	115
4.3.1 Preparo das ervas.....	115
4.3.2 As sardinhas.....	115
4.3.3 Preparo das almôndegas e amostragem.....	116
4.3.4 Composição centesimal.....	118

4.3.5 Compostos fenólicos.....	118
4.3.5.1 Extração dos compostos fenólicos.....	118
4.3.5.2 Metodologia para quantificação dos compostos fenólicos totais.....	118
4.3.6 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.....	118
4.4 Análise estatística dos dados.....	119
4.5 Resultados e discussão.....	119
4.5.1 Composição centesimal.....	119
4.5.2 Compostos fenólicos.....	120
4.5.3 Valores de TBARS, oxidação lipídica e eficiência das ervas.....	124
4.6 Conclusões.....	132
Referências.....	133
5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE ERVAS EM FILÉS DE SARDINHA PROCESSADOS: VALIDAÇÃO DE UM MODELO MATEMÁTICO.....	143
Resumo.....	143
Abstract.....	143
5.1 Introdução.....	144
5.2 Procedimento experimental.....	145
5.2.1 Preparo das ervas.....	145
5.2.2 Processamento dos filés de sardinha.....	145
5.2.3 Análise da oxidação lipídica.....	145
5.2.4 Delineamento experimental e análise estatística.....	145
5.3 Resultados e Discussão.....	146
5.4 Conclusões.....	150
Referências.....	150
APÊNDICES.....	152

RESUMO

Durante as últimas décadas a preocupação do consumidor em relação à qualidade dos alimentos cresceu consideravelmente, juntamente com a procura por alimentos funcionais ou componentes alimentares ativos fisiologicamente, também designados bioativos. Paralelamente objetiva-se a redução do emprego de produtos sintéticos em alimentos industrializados fortalecendo o apelo de que o alimento deve desempenhar funções terapêuticas e ainda não trazer riscos à saúde. Os peixes são alimentos que atendem bem a alguns desses requisitos já que possuem ácidos graxos poliinsaturados essenciais omega-3. A sardinha é um excelente exemplo. Em diversas investigações foi verificado que esses ácidos graxos têm um efeito cardioprotetor, além de estarem ligados à redução de susceptibilidade a tumores malignos. Muito se fala sobre a importância do aproveitamento de lipídeos de pescado e seus derivados para a alimentação humana, mas é necessário um balanço de ácidos graxos poliinsaturados na dieta assim como de antioxidantes que evitem a oxidação lipídica já que esta pode causar importantes danos biológicos, começando com o comprometimento desses componentes. A deterioração oxidativa dos lipídeos é uma das reações mais importantes e freqüentes nos alimentos onde estão presentes, inclusive nos peixes e isso tem determinado uma série de estudos ligados à ação dos radicais livres no organismo ou no alimento e principalmente sobre os agentes que neutralizam essas substâncias altamente reativas. Juntamente com a preferência do consumidor por produtos mais saudáveis pode ser notado um aumento do interesse pelo uso de antioxidantes naturais e de pesquisas nessa área. Na procura por alimentos mais saudáveis de uma maneira geral, o presente trabalho teve como objetivo trazer a sua contribuição ao conhecimento da funcionalidade das ervas como antioxidantes naturais.

Palavras-chave: Sardinha; Oxidação lipídica; Antioxidantes naturais; Ervas; Estabilidade oxidativa

ABSTRACT

During the last decades the consumer's concern in relation to the quality of the foods grew considerably. On those years the use of harmful components to the health was avoided as well as the search for functional foods or physiologically active components, also designated bioactives enhanced. Nowadays, the industry aims at a lesser use of synthetic products in foods. Therefore, food should carry through therapeutic functions and still not to present any risk to health. Fish attain these requirements well by furnishing the essential omega-3 polynsaturated fatty acids to the diet. Sardines are an excellent example. In several investigations it was verified that these fatty acids have a cardio-protector effect and they are related to malignant tumors incidence reduction. When administratin fish lipids to the diet, it is important to remember that a balance between polynsaturated fatty acids and antioxidants content is necessary in order to avoid lipid oxidation since it can cause important biological damages starting with the reduction of these essential lipids. Oxidative deterioration of lipids is one of the most important and frequent reactions presents in foods including fishes and has determined a series of studies linked to the free radicals behavior in the organism or in the food and to the identification of the agents that neutralize the highly reactive substances. Together with the consumer's preference for healthier products, an increase of the interest for the use of natural antioxidants can be observed as well as new researches in this area. In the search for healthier foods in a general way, the present work had as objective to contribute to the knowledge of the functionality of herbs as natural antioxidants.

Keywords: Sardine; Lipid oxidation; Natural antioxidant; Herbs; Oxidative stability

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Processo metabólico e competição metabólica entre $n-3$ e $n-6$	24
Figura 2 - Ácidos linoléico, α -linolenico, eicosapentanóico e docosahexanóico.....	26
Figura 3 - Esquema geral da oxidação lipídica - uma reação em cadeia.....	35
Figura 4 - Peroxidação lipídica: uma reação em cadeia.....	40
Figura 5 - Determinação da estabilidade oxidativa.....	43
Figura 6 - Determinação da capacidade antioxidante.....	43
Figura 7 - Reação do teste de TBA entre o ácido 2-tiobarbitúrico e o malonaldeído.....	45
Figura 8 - Resultados médios de TBARS nas almôndegas de sardinha.....	108
Figura 9 - Teor de compostos fenólicos totais das 10 ervas em estudo.....	121
Figura 10 - Valores de TBARS das ervas na concentração 0,1%.....	124
Figura 11 - Valores de TBARS das ervas isoladas a 0,1% e 0,3%.....	126
Figura 12 - Valores de TBARS das ervas isoladas e das misturas binárias a 0,1%.....	127
Figura 13 - Valores de TBARS das ervas isoladas e das misturas binárias a 0,3%	128
Figura 14 - Valores de TBA das misturas binárias a 0,1% e 0,3%.....	129
Figura 15 - Valores de TBARS das misturas ternárias em diferentes concentrações...	130
Figura 16 - Efeito da adição de ervas sobre o valor de TBARS de filés de sardinha cozidos: variável concentração de alecrim fixada em 0%.....	148
Figura 17 - Efeito da adição de ervas sobre o valor de TBARS de filés de sardinha cozidos: variável concentração de orégano fixada em 0%.....	149
Figura 18 - Efeito da adição de ervas sobre o valor de TBARS de filés de sardinha cozidos: variável concentração de salsa fixada em 0%.....	149

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Sugestão de ingestão de omega-3.....	30
Tabela 2 - Teores de EPA e DHA em peixes brasileiros.....	31
Tabela 3 - Quantidades de EPA e DHA em g por 100g de peixe fresco.....	32
Tabela 4 - Quantidade de omega-3 de algumas espécies em mg por 150g.....	33
Tabela 5 - Ácidos graxos poliinsaturados e lípidos da <i>Sardinella brasiliensis</i>	33
Tabela 6 - Perfil dos ácidos graxos (%) da fração lipídica das amostras.....	107
Tabela 7 - Composição centesimal da sardinha fresca e cozida (g/100g).....	119
Tabela 8 - TBARS de sardinha com adição de ervas selecionadas.....	146
Tabela 9 - Análise de variância (ANOVA) para os valores de TBARS.....	147

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGPI - ácidos graxos poliinsaturados
AOCS - American Oil Chemists' Society
BHA - hidroxibutilanisol
BHT - hidroxibutiltolueno
CEAGESP - Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais do Estado de São Paulo
CO₂ - gás carbônico
C.V. - coeficiente de variância
DHA - ácido docosahexanóico
D.M.S. - diferença mínima significativa
EAM - embalagem sob atmosfera modificada
EPA - ácido eicosapentanóico
ERRO - espécies reativas ao oxigênio
EVOH - copolímero de etileno vinil álcool
FAO - Food and Agriculture Organization
H₂O₂ - peróxido de hidrogênio
HDL - lipoproteínas de alta densidade (high density lipoprotein)
HO - radical hidroxila
HO⁻ - hidroxila
IDA - ingestão diária aceitável
IP - índice de peróxido
JECFA - Joint Expert Committee on Food Additives
LCPUFA - long chain polyunsaturated fatty acids
LDL - lipoproteínas de baixa densidade (low density lipoprotein)
MA - malonaldeído
n-3 - ácido graxo omega-3
n-6 - ácido graxo omega-6
O₂ - oxigênio molecular ou dióxigênio
O₂⁻ - radical superóxido
¹O₂ - oxigênio singlete

P - probabilidade

Pa - pascal

PG - galato de propila

PGL₃ - prostaciclina

PUFA - ácidos graxos poliinsaturados (polysaturated fatty acids)

RO° - radical alcóxila

ROO° - radical peróxila

ROOH - hidroperóxido

ROS - espécies reativas ao oxigênio (reactive oxygen species)

TBA - ácido 2-tiobarbitúrico

TBARS - substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TBHQ - tércio butilhidroxiquinona

TCA - ácido tricloroacético

TEP - tetraetoxipropano

THBP – tri hidróxi butilfenona

TMP - tetrametoxipropano

TXA₃ - tromboxanos

UV - luz ultravioleta

VLDL - lipoproteínas de muito baixa densidade (very low density lipoprotein)

WHO - World Health Organization Mundial

ω-3 - ácidos graxos poliinsaturados da série omega-3

ω-6 - ácidos graxos poliinsaturados da série omega-6

LISTA DE SÍMBOLOS

α - alfa

ω - omega

ω_6 - omega 6

ω_3 - omega 3

n_3 - série omega 3

g - grama

Kg - kilograma

nm - nanômetros

18:2 ω_6 - ácido linoléico

18:3 ω_3 - ácido α -linolênico

μg - micrograma

μmol - micromol

mg - miligrama

1 INTRODUÇÃO

O princípio "deixe o alimento ser teu remédio e o remédio ser teu alimento" foi pregado por Hipócrates aproximadamente há 2.500 anos atrás e este fundamento tem sido observado em diversos trabalhos e estudos nos últimos anos.

Antes, comia-se para sobreviver, de forma que a qualidade não era prioridade. Durante as últimas décadas a preocupação do consumidor em relação à qualidade dos alimentos cresceu consideravelmente. Na década de 60 buscou-se melhorar a cadeia de produção dos alimentos. Foi quando surgiram os conservantes, espessantes e estabilizantes. Nas décadas de 70 e 80 a pesquisa em tecnologia de alimentos foi impulsionada. Novas tecnologias surgiram, novos aditivos foram desenvolvidos. Foram criados produtos com baixos teores de açúcares e gordura. Nos anos 90 os alimentos viraram sinônimos de bem-estar e de redução de riscos de doenças assim como veículos de uma melhor qualidade de vida. Daí a aceitação de alimentos funcionais e orgânicos, reforçando a idéia de que a alimentação é um fator crítico para a manutenção da saúde.

Hoje observamos uma evolução no que diz respeito aos padrões de qualidade e pureza dos alimentos, sobretudo a respeito da redução do emprego de produtos sintéticos desde a sua produção (ex: agrotóxicos; antioxidantes sintéticos; corantes).

Além de nutrir, o alimento pode desempenhar funções terapêuticas e medicamentosas. São os chamados alimentos nutracêuticos ou bioativos, que invadem o mercado. Nos Estados Unidos, esse mercado movimentava bilhões de dólares por ano. Esse é um novo mercado consumidor que surge e dita uma tendência de consumo.

O final dos anos 20 e o começo dos anos 30 trouxeram as primeiras reportagens sobre dietas lipídicas que continham duas substâncias identificadas como ácidos linoléico (18:2 ω 6) e α -linolênico (18:3 ω 3). Esses dois ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) foram reconhecidos como vitamina F, um termo abandonado em favor de ácidos graxos essenciais (CUNNANE, 2003).

Os ácidos graxos omega-3 (n -3 ou ω -3) são uma classe essencial, encontrados em óleos de peixe. A dieta ocidental está cada vez mais deficiente em ácidos graxos omega-3, o que é refletido na taxa dietética (ou razão) de omega-6 para omega-3,

estimada atualmente por alguns autores em 3-4:1, comparada com a taxa de 1:1 na qual os humanos evoluíram (SIMOPOULOS, 1991). Isto tem estimulado os pesquisadores a examinarem o papel dos ácidos graxos *n*-3 em uma série de doenças, particularmente câncer e doenças cardiovasculares e inflamatórias, e mais recentemente no desenvolvimento humano precoce.

Peixes e frutos do mar têm um importante papel na alimentação humana já que representam um enorme estoque disponível de ácidos graxos poliinsaturados omega-3. Muito se fala sobre a importância do aproveitamento de lipídeos de pescado e seus derivados para a alimentação humana. O peixe é um importante constituinte na alimentação de vários grupos populacionais, uma vez que contém vários componentes de alto valor nutricional, como proteínas, vitaminas, sais minerais e lipídeos (SOCCOL; OETTERER, 2003), estes com boas quantidades de ácidos graxos insaturados, e em peixes de águas profundas os da série omega-3, especialmente ácidos eicosapentanóico e docosahexanóico os quais trazem enormes benefícios ao organismo humano (BELDA; POUCHET-CAMPOS, 1991). Segundo Simopoulos (1991) estes auxiliam na redução dos níveis de colesterol no sangue e controlam a pressão arterial.

Os óleos marinhos têm sido utilizados como produtos farmacêuticos e complexos alimentares. O óleo de fígado de tubarão é utilizado desde o final dos anos 30, quando se descobriu sua potencialidade como fonte de vitamina A. A composição dos óleos marinhos é bem mais complexa que a dos óleos animais e vegetais. O comprimento da cadeia carbônica oscila geralmente entre 14 a 24 átomos de carbono, podendo conter ou não insaturações em sua cadeia. Os vários efeitos benéficos à saúde humana são atribuídos aos poliinsaturados. Alguns destes ácidos graxos são essenciais, ou seja, não são sintetizados pelo organismo, sendo a alimentação a única fonte dos mesmos (BRUSCHI, 2001). As maiores fontes usadas para a alimentação são mesmo os peixes que outros como focas e baleias. Ostras são boas fontes de omega-3. A quantidade desses ácidos graxos encontrados em frutos do mar varia entre 8 a 12% de EPA e entre 10 a 20% de DHA (BADOLATO et al., 1994).

Por outro lado os óleos e gorduras possuem alguns pontos reativos na molécula. Os grupos éster entre a carboxila do ácido graxo e o glicerol e outros álcoois pertencem ao grupo funcional de relativa reatividade que se hidrolisa a ácidos graxos livres, na maioria das vezes. Outros sítios reativos da molécula lipídica são as duplas ligações presentes nas cadeias hidrocarbonadas de alguns ácidos graxos. Estas ligações são sensíveis à oxidação.

A deterioração oxidativa dos lipídeos é uma das reações mais importantes e freqüentes nos alimentos onde estão presentes, inclusive nos peixes. O fenômeno da autooxidação das matérias graxas já provoca há algum tempo, interesse nos pesquisadores devido às conseqüências que determina no alimento e pelo intenso uso de óleos e gorduras como matéria-prima alimentar e industrial.

O papel fundamental da oxidação dos lipídeos na alimentação humana determinou uma série de pesquisas, mais recentemente àquelas ligadas à ação dos radicais livres no organismo, no contexto dos fenômenos de envelhecimento e de patologias específicas como a arteriosclerose, doenças do coração e do câncer.

A oxidação é um fenômeno ligado principalmente aos lipídeos mais insaturados constituintes fundamentais da estrutura de membranas biológicas e garantia da integridade funcional das mesmas. É evidente, portanto, que a oxidação lipídica pode causar importantes danos biológicos que podem ter relação com o tipo de dieta não suprida de uma concentração adequada de antioxidantes, já que esses são agentes que neutralizam os radicais livres.

Juntamente com a preferência do consumidor por produtos naturais e orgânicos pode ser notado um aumento de interesse pelo uso de antioxidantes naturais e de pesquisas nessa área (BERMOND, 1990).

A indústria de alimentos já vem considerando o uso de antioxidantes naturais como os tocoferóis, várias especiarias e ervas, extratos de vegetais e ácido ascórbico. As propriedades antioxidantes de especiarias e ervas são geralmente atribuídas aos compostos fenólicos (AKHTAR et al., 1998).

Na procura por alimentos mais saudáveis de uma maneira geral, o presente trabalho teve como objetivo traçar um perfil qualitativo em relação à funcionalidade das ervas como antioxidantes naturais e um perfil quantitativo em relação à quantidade de

compostos fenólicos presentes nas mesmas para depois verificar como cada erva se comportou ao serem adicionadas a um produto ou alimento rico em ácidos graxos essenciais, no caso o filé de sardinha processado e cozido, através de valores de TBARS. Além disso, tem o objetivo de validar um modelo matemático para a análise da combinação das ervas em diferentes concentrações e, portanto o sinergismo entre as mesmas.

1.1 Revisão Bibliográfica

1.1.1 Importância do pescado

Tem havido crescente interesse dos consumidores pelo papel de alimentos específicos para melhorar a saúde ou componentes alimentares ativos fisiologicamente, os supostos alimentos funcionais, também designados de bioativos. Obviamente, todos os alimentos são funcionais, por proporcionarem valor nutritivo além do sabor e aroma.

Durante a última década o termo 'funcional' quando aplicado aos alimentos tem sido adotado com uma conotação diferente que é a de proporcionar um benefício fisiológico adicional além de apenas satisfazer as necessidades nutricionais básicas, mas ainda que uma profusão de compostos biologicamente ativos tenha sido identificada, faltam trabalhos que aprofundem os detalhes técnicos acerca da forma de ação dos compostos específicos de vários alimentos.

Segundo a Top Ten Functional Food Trends (2006) os fitoquímicos representam, nos dias de hoje, a corrente principal quando se trata de antioxidantes. As pesquisas da ACNielsen (2006a) trazem uma constatação em relação aos antioxidante. Depois de um aumento de 19% nas vendas em 2005 pretende dobrar esse crescimento em 2006 sendo o segundo índice dentro das tendências de grande sucesso. De 2004 a 2005, o principal elo da ACNielsen, o grupo 'Health Activist', gastou mais nos antioxidantes que em qualquer outra categoria relacionada a saúde. Mais importante ainda foi o fato de que 52% dos que negligenciam a saúde, os chamados pela ACNielsen de "Health Neglectors" consumiram mais comida com antioxidantes do que no ano anterior. As comidas adicionadas de antioxidantes estão virando concorrentes de uma importante

fatia do mercado. Vendas de multi-vitamínicos caíram 14% em 2005 enquanto as vendas de chás líquidos aumentaram 194%. O consumo de chá verde triplicou durante os últimos cinco anos; quase 50% de bebedores de chá o bebem semanalmente. A Starbucks está lançando o Tazo[®], um chá verde com amoras pretas. A Lipton está fabricando chá verde e chá preto e ambos possuem antioxidantes naturais. Os fatos demonstram que o mercado de chá movimentará 10 bilhões de dólares antes de 2010 (ACNielsen 2005b; 2005c).

O próximo grande salto em produção de alimentos será dado pela aquicultura, como aponta relatório do Banco Mundial (MACGIN, 1998) o que também prova essa tendência já que os peixes são sem dúvida alimentos funcionais. Produtos advindos da aquicultura tem sido importante forma de acompanhar esta crescente demanda (BOYD; MASSAUT; WEDDIG, 1998 apud PIEDADE; NEVES; SANTOS, 2002).

Nos últimos anos houve um grande avanço nas pesquisas de produtos marinhos. Os pescados são importantes fontes de proteínas e lipídeos de origem marinha desde o início da civilização. Uma das melhores fontes de omega-3 é o óleo de pescado. De uma maneira geral, o pescado está sendo cada vez mais demandado em todo o mundo, ato que tem sido aconselhado por nutricionistas já que o peixe possui qualidades para combater, ao mesmo tempo, dois flagelos contemporâneos, a fome e a obesidade, pelos ingredientes saudáveis disponíveis em abundância.

Produtos alimentícios elaborados com peixe têm atraído fortes interesses da indústria processadora já que possuem ácidos graxos essenciais, mas estes são altamente oxidáveis. Na indústria, a oxidação lipídica é inibida geralmente por antioxidantes sintéticos, mas estes se mostram deficitários já que apresentam alguns problemas principalmente quando o assunto é saúde. Além disso, as indústrias enfrentam um problema em relação às quantidades suficientes para prover adequada proteção e aumentar o tempo de prateleira dos produtos. A quantidade de antioxidante permitido está limitada por órgãos do governo, por fatores econômicos, por problemas de saúde que possivelmente podem causar e ainda pelo fato de que certas quantidades podem agir como pró-oxidantes de alimentos. É aí que entram os antioxidantes naturais.

1.1.2 Ácidos Graxos Essenciais

Os ácidos graxos extraídos de peixes de água frias e vegetais têm ação benéfica sobre os níveis de colesterol no sangue e sobre a pressão arterial, principais fatores de risco para as doenças do coração. Os mais importantes são os ácidos graxos omega-3 (eicosapentanóico - EPA) e omega-6 (docosahexanóico - DHA).

A Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (Food and Agriculture Organization) e a Organização Mundial de Saúde (World Health Organization) recomendaram o consumo de 3% de ácidos graxos essenciais, principalmente omega-3 e omega-6, baseado no total de energia consumida de 3000 calorias diárias (FAO/WHO, 1994; CRAWFORD, 1994).

A idéia de que os ácidos graxos *n*-3 podiam desempenhar um papel importante em doenças cardiovasculares foi trazida à luz pela primeira vez nos anos 70 quando Bang e Dyerberg (1972) relataram que os esquimós da Groenlândia tinham baixas incidências destas doenças apesar de consumirem uma dieta rica em gordura. Daí observações pioneiras nessas populações esquimós foram realizadas por diversos pesquisadores durante a década de 70 (BANG; DYERBERG, 1980). Uma análise estatística sobre a mortalidade por enfermidades do miocárdio nos habitantes da Groenlândia, desde 1950 a 1974, revelou a existência de apenas três casos do total de uma população de 1350 indivíduos (MUELLER; TALBERT, 1988).

Estudos realizados por Weaver e Holob (1988) e Simopoulos (1991) também demonstraram baixa ocorrência de casos de doenças cardíacas em populações de esquimós. Os médicos dinamarqueses Dyerberg e Bang publicaram em 1975, no American Journal of Clinical Nutrition, os resultados do estudo já citado, mostrando que no sangue dos esquimós da Groelândia estavam presentes em altos níveis, dois ácidos graxos de cadeia longa, poliinsaturados da série omega-3, o eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA).

O efeito cardioprotetor do consumo de peixe tem sido observado em algumas investigações prospectivas que incluem estudos de Zutphen, do Health Professional Study, do Chicago Western Electric Study, do Physicians Health Study, e do Multiple Risk Factor Intervention Trial (KROMHOUT; BOSSCHIETER; DE LEZENNE

COULANDER, 1985; KROMHOUT, 1995), mas não em outras (ASCHERIO et al., 1995). Os resultados negativos podem ser explicados pelo fato de que embora tenha sido demonstrado que os ácidos graxos *n*-3 podem diminuir as taxas de triglicérides em 25% a 30%, eles não diminuíram o LDL-colesterol (HARRIS, 1996). Segundo alguns estudos, os efeitos do omega-3 não se limitam ao coração (KROMHOUT, 1995).

Moncada e Vane (1978) demonstraram que a parede vascular poderia utilizar endoperóxidos relacionados com a aderência de plaquetas para a formação de prostaciclina e Dyerberg et al. (1978) propuseram que o ácido eicosapentaenóico (EPA) somente de peixe ou óleo de peixe, por meio da formação de análogos ativos de prostaciclina (PGI₃), mais tromboxanos (TXA₃), poderia produzir um estado antitrombótico e agir como protetor contra as doenças cardiovasculares.

Shahidi (2000) atribuiu os efeitos benéficos à saúde dos ácidos graxos poliinsaturados omega-3 à sua capacidade de reduzir os níveis de triglicerol e colesterol no sangue. Os lipídeos marinhos são formados no fígado de pescados brancos e magros, e estão presentes na massa corporal de peixes gordurosos. Esses lipídeos são formados por ácidos graxos poliinsaturados e também por ácidos graxos saturados e monoinsaturados.

Os seres humanos, especificamente da ordem dos mamíferos, podem sintetizar certos ácidos graxos saturados e insaturados, mas não são capazes para sintetizar ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs), cuja falta pode gerar um mal funcionamento do organismo. Devido esse fato, esses ácidos graxos são chamados essenciais e devem ser incluídos na dieta (SIMOPOULOS, 1999) através dos peixes, óleo de peixes, assim como lipídeos de animais marinhos, óleos vegetais, margarinas, leite humano e outros menos significantes (BELDA; POURCHET-CAMPOS, 1991). Os ácidos linoléico e linolênico são exemplos dos chamados essenciais (BURR; BURR, 1929).

Na espécie humana, os tecidos que têm a capacidade de biossintetizar EPA e DHA são os do fígado, das gônadas, e em menor escala, do cérebro e do tecido adiposo, e o fazem a partir do precursor ácido α -linolênico, através de sistemas enzimáticos de alongamento e dessaturação (Figura1), ainda que a velocidade dessa reação seja muito baixa, principalmente quando a dieta é rica em ácido linoléico, que compete pelas mesmas dessaturases (HAAG, 2003).

Segundo Belda e Pourchet-Campos (1991) os ácidos graxos saturados são sintetizados no organismo em um compartimento celular extra mitocondrial, com um sistema enzimático complexo gerido pela acetilcoenzima A. Os ácidos graxos monoinsaturados são formados a partir dos saturados e os poliinsaturados são derivados dos monoinsaturados pela ação de uma ação de desaturação específica nas posições das duplas ligações na cadeia (Figura1).

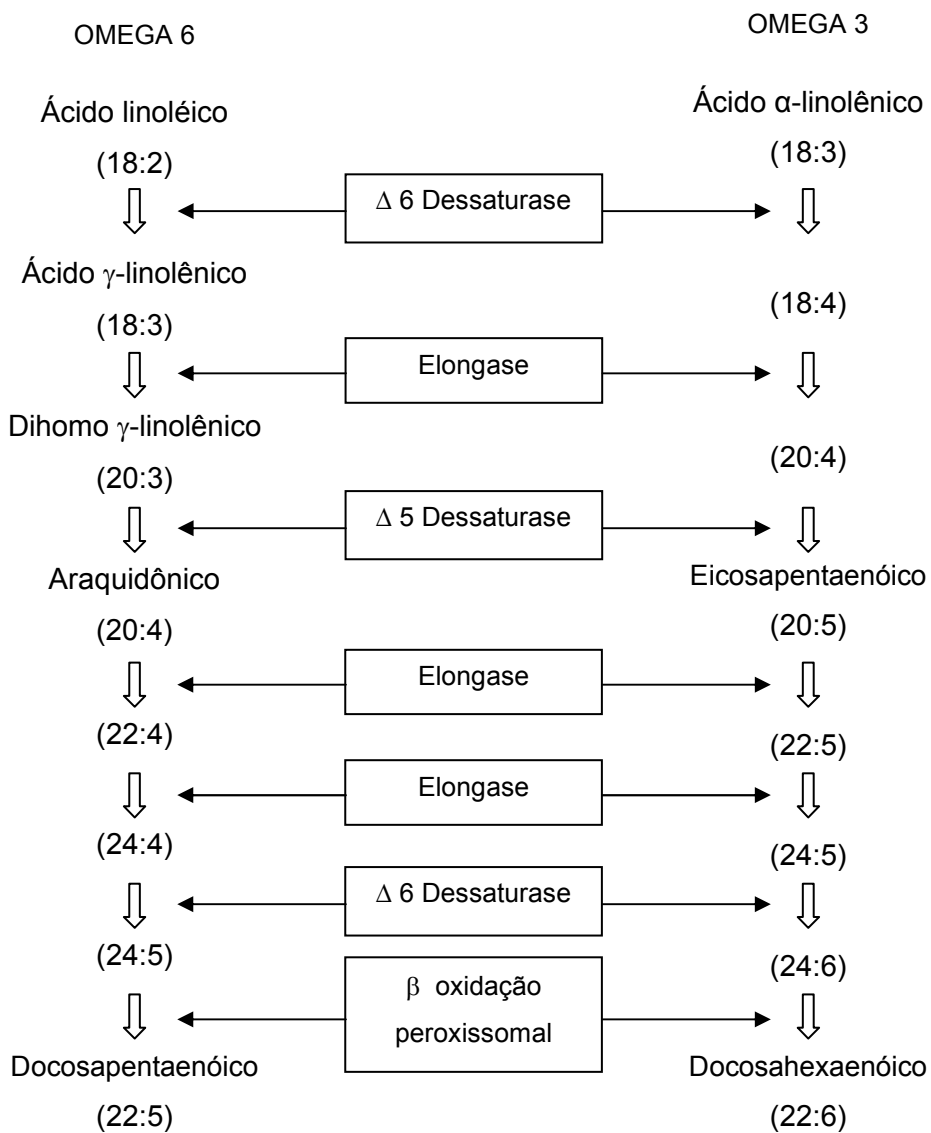


Figura 1 - Processo metabólico e competição metabólica entre omega-3 e omega-6

Fonte: Salem (1999)

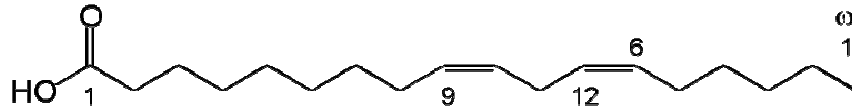
Os efeitos dos ácidos graxos em diversas e diferentes patologias podem ser explicados pela ação na síntese e metabolismo dos eicosanóides, importantes mediadores de sinais derivados de ácidos graxos de 20 carbonos, com 4 ou 5 insaturações (LANDS, 1986) que culmina com a síntese de prostaglandinas, tromboxanas, prostaciclina e leucotrienos (AHMAD, 1998).

O ácido linoléico (Figura 2) é um ácido graxo poliinsaturado com 18 carbonos, contendo duas duplas ligações, a primeira na posição do carbono 6 e a segunda na posição do carbono 9 da cadeia de carbonos, a contar do grupo metila. Estes são conhecidos como ácidos graxos omega-6. Grãos oleaginosos e óleos vegetais são fontes de omega 6. O ácido linolênico (Figura 2) é um ácido graxo contendo 18 carbonos, com três duplas ligações, nas posições 3, 5 e 7, a contar do grupo metila. São os ácidos graxos omega-3. O ácido eicosapentanoico (EPA) é o 20:5 omega 3, ácido poliinsaturado contendo 20 carbonos e 5 duplas ligações, sintetizado a partir do ácido linolênico. O ácido docosahexanoico (DHA) é o 22:6 omega 3 e contém 22 carbonos com seis duplas ligações. O organismo humano não consegue efetuar a transformação de um omega-3 em um omega-6, ou vice versa, portanto as necessidades de ácidos EPA e DHA devem ser obtidas diretamente através dos alimentos (DE ANGELIS, 1995) ou da baixa taxa de conversão a partir do ácido linolênico (SIMOPOULOS, 2000).

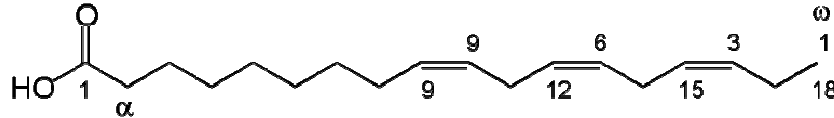
Uma vez consumidos, os ácidos linoléico e α -linolênico podem ser alongados até cadeias de pelo menos 20 ou 22 carbonos. O ácido linoléico pode ser metabolizado em outros ácidos omega-6 intermediários como os ácidos γ -linolênico, di-homo- γ -linolênico e ácido araquidônico. O ácido α -linolênico é metabolizado em outros da série omega-3, entre eles o EPA e o DHA. Como já dito (Figura 1), esse processo metabólico é mediado pelas enzimas chamadas elongases e dessaturases, as quais participam na formação dos PUFA, ω -6 e ω -3, resultando em uma competição metabólica entre os dois grupos (SALEM, 1999).

ácido linoléico

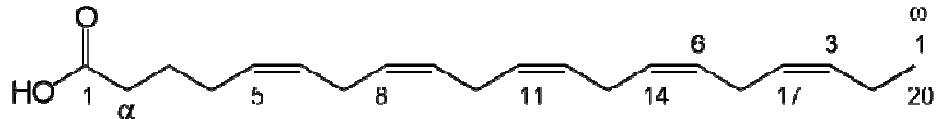
$C_{18}H_{32}O_2$
(18:2 - ω 6)

**ácido α -linolênico**

$C_{18}H_{30}O_2$
(18:3 - ω 3)

**EPA**

$C_{20}H_{30}O_2$
(20:5 - ω 3)

**DHA**

$C_{22}H_{32}O_2$
(22:6 - ω 3)

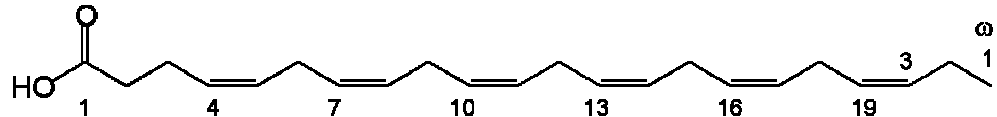


Figura 2 - Ácidos linoléico, α -linolênico, eicosapentanóico e docosahexanóico

Um excesso de ácido linoléico vai impedir a transformação do α -linolênico em seus derivados EPA e DHA, o mesmo acontecerá no caso contrário, com um menor consumo do ácido linoléico haverá uma diminuição da formação do ácido araquidônico. A concorrência entre os ácidos linoléico e α -linolênico está determinada pela afinidade da enzima delta-6-dessaturase por ambos ácidos graxos. Como a enzima tem maior especificidade pelos ácidos graxos omega-3, esta precisará de menores quantidades destes ácidos que dos ácidos omega-6 para produzir a mesma quantidade de produto (MADSEN et al., 1999). Isto significa que deve existir uma proporção maior de ácido linoléico que de α -linolênico. Esse equilíbrio entre os dois ácidos graxos se faz pela dieta.

Os ácidos graxos ω -6 e ω -3 intercedem no metabolismo dos eicosanóides, na expressão genética e na comunicação intercelular. A composição dos PUFA das membranas celulares depende, em grande dimensão, da quantidade ingerida na dieta. Portanto, é necessário considerar as recomendações das quantidades apropriadas para o consumo diário destes ácidos graxos. As duas classes de PUFA são metabolicamente

diferentes e possuem funções fisiológicas muitas vezes opostas tornando imprescindível o equilíbrio nutricional para a homeostase e desenvolvimento normal do organismo garantindo a prevenção de doenças cardiovasculares, crônicas degenerativas e também a saúde mental (SIMOPOULOS, 2000).

Existem distinções bioquímicas e, principalmente, funcionais entre os ácidos EPA e DHA; o EPA age mais diretamente no sistema vascular, enquanto o DHA modifica as propriedades coagulantes das plaquetas sanguíneas (ACKMAN, 1994). Para pacientes em tratamento, uma suplementação poderia suprir as necessidades de EPA e DHA diminuindo o estresse oxidativo e a peroxidação lipídica (KRITCHEVSKY, 1996).

1.1.3 Peixes na dieta

O interesse pelo consumo do pescado foi intensificado após a expansão da nutrição como área de conhecimento, a qual apresentou as vantagens do pescado como alimento, devido ao seu valor nutritivo, principalmente em relação aos altos teores de vitaminas A e D, cálcio e fósforo, baixa quantidade e considerável qualidade dos lipídeos (OETTERER, 1991). O pescado geralmente contém cerca de 60 a 85% de umidade, 20% de proteína bruta aproximadamente, 1 a 2% de cinzas e 0,6 a 36% de lipídeos (OGAWA; MAIA, 1999).

Sabe-se que os peixes são um importante constituinte da dieta humana de inúmeros grupos populacionais, já que representam uma fonte de diversos componentes com significativo valor nutricional, como proteínas comparáveis às do ovo, carne e leite. Segundo Belda e Pouchet-Campos (1991), estão entre os alimentos de maior reserva de ácidos graxos poliinsaturados. Uma das principais fontes na dieta de *n-3* de cadeia longa é o pescado, rico nos ácidos graxos EPA e DHA (CALDER, 1998).

É cada vez mais freqüente o interesse pelos lipídeos marinhos, dada às concentrações de ácidos graxos poliinsaturados omega-3 de cadeia longa (SHAHIDI, 2000). Muitas pesquisas têm estabelecido que os ácidos graxos poliinsaturados (*n-3* AGPI), em particular o ácido ecosapentanóico e o ácido docosahexanóico, são os principais componentes biologicamente ativos de óleos de peixe (SIMOPOULOS, 2000).

Estudos relacionados com dietas suplementares de peixes ou óleos de peixes e derivados de omega-3 mostraram os efeitos benéficos destes produtos e, nestes últimos anos, vários medicamentos à base de óleo de peixes e/ou derivados surgiram no mercado, principalmente no mercado internacional (PYZH et al., 1993).

Peixes de água doce geralmente contêm porções menores de ácidos graxos poliinsaturados em comparação com frutos do mar (MONSEN, 1985; ANDRADE et al., 1995), mas há trabalhos mostrando que peixes de água doce frias contem altas quantidades de omega-3 PUFA (AGREN et al., 1998). Os peixes de água doce têm a composição em ácidos graxos sensível ao tipo de alimentação de que dispõem, apresentando larga variação qualitativa e quantitativa em ácidos graxos (BRUSCHI, 2001; MARTINO; TAKAHASHI, 2001).

A maior quantidade de ácidos graxos polinsaturados *n*-3 em peixes marinhos é provavelmente devido à manutenção das membranas celulares fluídas em baixas temperaturas (HAZEL; ZEBRA, 1986). Muitas plantas marinhas, especialmente algas unicelulares no fitoplancton, também realizam a alongação da cadeia e adicional dessaturação do ácido α -linolênico para produzir os ácidos EPA e DHA. A formação desses LCPUFA ω -3 pelas algas marinhas e sua transferência através da cadeia alimentar aos peixes explica a abundância dos mesmos em alguns óleos de origem marinha (CALDER, 1998).

Nos animais marinhos (peixes e crustáceos) encontram-se outros ácidos graxos com maior número de carbonos e com maior quantidade de duplas ligações, que também pertencem à série omega-3. São os ácidos graxos de cadeia muito longa (superior a 18 carbonos) LCPUFA (long chain polyunsaturated fatty acids). São os ácidos eicosapentaenóico (EPA, C20:5, ω -3) e o ácido docosahexaenóico (DHA, C22:6, ω -3). Óleos de peixes marinhos possuem altas concentrações de EPA e DHA que têm mostrado potenciais benefícios para a saúde humana, particularmente para a prevenção de doenças cardiovasculares (MEDINA et al., 2003). Estudos demonstraram que o consumo desses ácidos reduz o risco de doenças como artrite e câncer (VISENTAINER et al., 2000). Oetterer (1991) relatou que as doenças cardiovasculares podem ser minimizadas com a ingestão do pescado, que contém ácidos *n*-3 que estão relacionados com a diminuição do colesterol sanguíneo.

A adição de ácidos graxos de cadeia longa nas dietas tem sido discutida e recomendada (BYRNE, 1994). Estudos epidemiológicos têm mostrado que o consumo de peixe tem efeitos favoráveis nos níveis de triglicérides, pressão sanguínea, mecanismos de coagulação e no ritmo cardíaco (BURR, 1991).

Embora não tenha sido inequivocadamente demonstrado que o consumo de peixe possa reduzir o risco de doenças cardiovasculares em homens saudáveis, foi verificado que o consumo de 35g ou mais de peixe por dia pode reduzir o risco de morte por infarto do miocárdio não súbito no Chicago Western Electric Study (DAVIGLUS et al., 1997) e uma mínima quantidade como uma porção de peixe por semana foi associado com um risco significativamente reduzido da mortalidade cardiovascular total após 11 anos em mais de 20.000 norte-americanos (ALBERT et al., 1998).

Recentes pesquisas têm mostrado que pessoas que consomem grandes quantidades de peixe têm menos tendência à depressão e suicídio (COLLIN et al., 2003). Os baixos índices de depressão tem sido associados às quantidades de DHA nos alimentos sugerindo que dietas ricas em omega-3 podem aumentar a atividade serotoninérgica e reduzir impulsos inesperados de agressividade (BRUNNER et al., 2002).

Os resultados de diversas pesquisas comprovam amplamente que o uso de cápsulas de óleo de peixe promove um ligeiro aumento nos níveis de HDL, a lipoproteína benéfica, e uma redução mais acentuada dos níveis plasmáticos de LDL colesterol, assim como das lipoproteínas VLDL que são as mais propensas ao depósito na parede das artérias. Neste aspecto os óleos de peixe da série omega-3 são de quatro a cinco vezes mais eficazes que os óleos vegetais na redução do colesterol sanguíneo. Atualmente, a American Heart Association recomenda à população americana que coma peixes, no mínimo, duas vezes por semana. Se os peixes forem provenientes do mar, como a sardinha, melhor ainda, pois os de água doce não apresentam a mesma quantidade de omega 3 em relação aos de água salgada (American Heart Association, 2004). Comitês consultivos de renome recomendam diferentes níveis de ingestão diária de omega-3 (Tabela 1).

Tabela 1 - Sugestão de ingestão de omega-3

Comitê	mg por dia recomendada
British Nutrition Foundation (1992)	1250
Simopoulos et al. (1999)	650
Intern. Society for the Study of Fatty Acids and Lipids (2004)	500
National Heart Foundation (1999)	400
Omega Workshop, Adelaide, Austrália (2002)	300 – 400
US/Canadá, NHMRC Dietary Reference Intakes (2000)	133 – 267

Fonte: Simopoulos; Leaf; Salem, (1999)

A composição da porção comestível dos peixes varia em função de diversos fatores como a espécie, sexo, grau de maturidade sexual, tamanho, local de captura, temperatura da água, tipo de alimentação e estação do ano (ARMSTRONG; LEACH; WYLLIE, 1991; BADOLATO et al., 1994). A composição lipídica é responsável pela maior diferença observada, variando bastante entre diferentes espécies, podendo também apresentar grandes variações em uma mesma espécie, durante diferentes fases do ano. Badolato et al. (1994) estudaram a influência das variações sazonais na composição de ácidos graxos de vinte amostras de filés e vinte amostras de polpas mecanicamente separadas de vários peixes marinhos comercializados no estado de São Paulo. Variações nas porcentagens de ácidos graxos foram observadas em cada espécie analisadas.

Visentainer et al. (2000) estudaram as espécies atum (*Thunus tynnus*), bonito (*Katsuwonus pelamis*), olho de boi (*Seriola lalandi*), cavalinha (*Scomber japonicus*), sardinha (*Sardinella brasiliensis*) e serra (*Sarda sarda*) e verificaram que os teores de DHA totais foram superiores no atum e bonito, enquanto os teores de EPA totais foram superiores na sardinha e bonito. Ao compararem a mesma espécie e parte do corpo dos peixes observaram que os teores de DHA foram superiores aos teores de EPA, exceto para a sardinha. A sardinha e o bonito apresentaram os maiores teores totais de DHA e EPA em filés comprovando ser uma boa fonte alimentar destes ácidos, especialmente a sardinha pelo preço acessível de comercialização no Brasil (Tabela 2).

Tabela 2 - Teores de EPA e DHA em peixes brasileiros

Espécies	Lipídeos (%)	EPA (%)	DHA (%)	EPA + DHA (%)	(g/100g)
Pescada branca	0,9	5,6	15,4	21	0,189
Pescada foguete	4,5	7,22	27,93	35,15	1,581
Corvina	1,2	10,93	13,38	24,31	0,291
Atum bonito listrado	6,8	5,12	21,37	26,49	1,801
Atum (músculo roxo)	6,8	4,33	30,04	34,37	2,337
Sardinha	7,7	6,98	15,92	22,9	1,763
Sardinha (músculo roxo)	7,7	6,29	16,33	22,62	1,741
Goete	5	6,12	17,29	23,41	1,175

Fonte: Bruschi, 2001.

Os componentes bioativos variam muito entre as espécies de peixe e frutos do mar. Alguns peixes, especialmente os gordurosos, são utilizados para a produção de óleo de peixe devido a predominância de ácidos graxos poliinsaturados (KINSELLA, 1987; KINSELLA et al., 1990).

Em um estudo (Tabela 3) sobre a determinação da gordura total e da composição em ácidos graxos de sete espécies de peixes de água doce e nove espécies de peixes de água salgada comercialmente importantes do Brasil foi constatado que a maioria dos peixes de água doce é fonte deficiente dos ácidos eicosapentaenóico e docosahexaenóico. Já nos peixes de água salgada analisados, apenas sardinha e manjuba podem ser recomendadas como fontes adequadas de ácidos graxos *n*-3 dentre as espécies brasileiras (GUTIERREZ; SILVA, 1993).

Independentemente da espécie do peixe disponível, cuja oferta é sazonal, o óleo de peixe é extraído com aplicação de vapor, para a liberação do óleo dos tecidos. Após a obtenção do óleo bruto, promove-se o processo de refino, semelhante ao dos óleos vegetais. Bimbo e Crowther (1991) relataram que a qualidade dos óleos marinhos brutos é menos uniforme do que a dos óleos vegetais brutos e é necessário um cuidado maior na manipulação da matéria-prima. Durante o processamento, deve-se procurar proteger os óleos marinhos das altas temperaturas e condições que favoreçam a sua oxidação.

Tabela 3 - Quantidades de ácidos graxos EPA e DHA em gramas por 100g de peixe fresco

Peixes	g/100g	EPA	DHA
Peixes de água doce			
Corimbatá	6.75	0.30	0.16
Lambari	4.58	0.09	0.25
Mandi	7.08	0.09	0.11
Piava	9.75	0.15	0.11
Pintado	0.41	0.02	0.07
Piramatuba	0.47	0.04	0.05
Traíra	1.27	0.03	0.07
Peixes de mar			
Abrotéia	0.56	0.05	0.15
Cabrinha	1.00	0.08	0.17
Cavalinha	8.43	0.41	0.87
Manjuba	5.94	0.42	1.08
Pescada	1.11	0.07	0.17
Porquinho	0.78	0.05	0.16
Raia	0.72	0.02	0.07
Sardinha	7.88	1.52	0.41
Atum	1.32	0.08	0.34

Fonte: Gutierrez; Silva (1993)

Observando os recentes estudos, pesquisas e recomendações de comitês e organizações é possível concluir que a nossa dieta deveria ser incrementada com peixes, frutos do mar e produtos derivados dos mesmos, já que estes são notadamente mais interessantes em relação aos ácidos graxos essenciais do que qualquer outra espécie (Tabela 4). Esforços deveriam ser feitos principalmente em um país como o Brasil que possui uma costa imensa e onde a fome e desnutrição persistem em grau avançado.

Dentre as diversas espécies de pescado disponíveis no município de São Paulo, a sardinha (*Sardinella brasiliensis*) destaca-se por seu apreciável consumo. Já o preço comercial é mais baixo que os demais. Durante o período de defeso da sardinha (dezembro a março) o mercado varejista é abastecido com estoques previamente congelados, oferecidos ao consumidor na forma descongelada.

Tabela 4 - Quantidade de omega-3 de algumas espécies em mg por 150g de peixe fresco

Espécie	Omega-3 (mg/150g)
Salmão do Atlântico	2985
Peixes em geral	350
Marisco	225
Camarão	180
Lagosta	160
Peru	50
Carne Vermelha	30
Frango	30
Carneiro	30
Porco	0

Fonte: Mooney et al. (2002)

Além do alto valor biológico da proteína da sardinha, inerente ao pescado, tem sido apontado que a espécie apresenta significativas concentrações de ácidos graxos poliinsaturados da série omega-3 (Tabela 5), conferindo-lhe características nutricionais e funcionais apreciáveis.

Tabela 5 - Ácidos graxos poliinsaturados e lípides da *Sardinella brasiliensis*

g/100 g de amostra	Ito et al. (1969)	Gutierrez; Silva (1993)	Visentainer et al. (2000)	Luzia et al. (2000)
EPA	-	7,28 – 8,21	18,68	1,87 - 3,02
DHA	-	27,82 - 32,65	13,77	10,1 - 11,3
<i>n</i> -3	-	-	32,45	13,4
<i>n</i> -6	-	-	-	1,45 - 2,59
Lípides	1,6 - 7,1	2,23 – 3,54	-	4,00 - 10,62

Apesar de ser uma vantagem nutricional, a principal característica da fração lipídica dos peixes, que é o seu alto teor de ácidos graxos insaturados, apresenta maior predisposição à rancidez oxidativa (HANDERSON; TOCHER, 1987). Esses lipídeos podem estar associados, positiva ou negativamente, as diversas propriedades e padrões de qualidade do pescado. Os peixes são altamente afetados pela oxidação

lipídica, principalmente quando passam por algum tipo de armazenamento e processamento. Além disso, segundo Ashie, Smith e Simpson (1996) traumas mecânicos e refrigeração deficiente podem ocorrer em etapas que antecedem o consumo, desencadeando processos autolíticos e microbiológicos. Nestas condições compostos reconhecidamente tóxicos são formados (KUBOW, 1992; AUBOURG, 1993; ASHIE; SMITH; SIMPSON, 1996).

Durante o armazenamento refrigerado e congelado, a oxidação lipídica é um dos fatores mais importantes pela deterioração do peixe e pode ser iniciada por reações não enzimáticas (AKHTAR et al., 1998). Os músculos dos peixes contêm caracteristicamente altas quantidades de EPA e DHA, que são facilmente oxidados por serem insaturados (WADA; FANG, 1992). Os ácidos insaturados são as estruturas mais suscetíveis ao processo oxidativo, havendo uma relação direta entre o grau de insaturação e a susceptibilidade à oxidação (COSGROVE; CHURCH; PRYOR, 1987).

1.1.4 Oxidação Lipídica

Segundo Shahidi, Janitha e Wanasundara (1992), a importância da oxidação no organismo e nos alimentos tem sido reconhecida. O metabolismo oxidativo é essencial para a sobrevivência das células. Um aspecto do efeito desta dependência é a produção de radicais livres e outras espécies reativas ao oxigênio que causam mudanças oxidativas.

Existe a possibilidade dos radicais livres formados reagirem ou interagirem com outros constituintes dos alimentos o que provoca a queda da qualidade nutricional dos mesmos. É um fenômeno espontâneo e inevitável e tem implicação direta no valor comercial dos compostos graxos e produtos formulados a partir deles (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999; NAWAR, 1996).

Portanto a oxidação de ácidos graxos insaturados (Figura 3) é uma reação fundamental em química de lipídeos e os produtos dessa oxidação têm implicações em muitas reações vitais. Acumulam-se as evidências da participação dos radicais livres e espécies reativas ao oxigênio nos danos aos tecidos e em doenças degenerativas (FRANKEL, 1980, 1998). Edwin Frankel descreveu sobre oxidação lipídica nos anos 80.

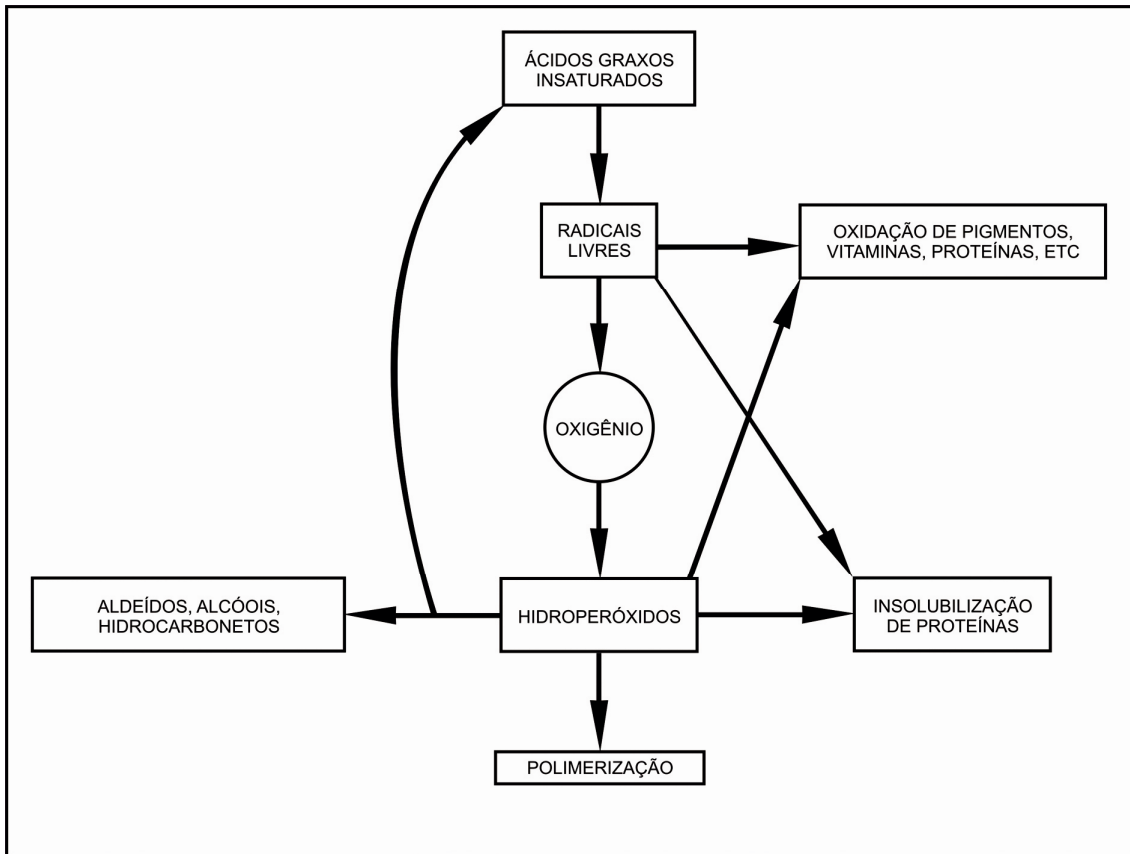


Figura 3 - Esquema geral da oxidação lipídica

Fonte: Jadhav et al. (1996)

O processo de oxidação se inicia na ligação carbono-hidrogênio adjacente à dupla ligação da cadeia de carbono e pode ser catalisado por um grande número de fatores, especialmente ambientais (umidade, luz, temperatura e oxigênio), presença de metais (cobre, ferro e manganês), de enzimas e pigmentos (ADAMS, 1999). O processo autoxidativo foi proposto por Farmer et al. (1942) e pode ser explicado em três fases: início, propagação e término (FARMER, et al., 1942).

Nas fases de iniciação e propagação a presença de radicais livres, que são moléculas extremamente reativas, é decisiva (ADAMS, 1999). Essas formas reativas são normalmente produzidas durante o metabolismo do oxigênio nos tecidos e são chamadas de espécies reativas de oxigênio (ROS - Reactive Oxygen Species). Estes compostos se dividem em radicais (ex.: O_2^- e HO°) ou não radicais (ex.: H_2O_2). Alguns deles são produzidos durante o metabolismo aeróbico das células vivas, como o radical

superóxido (O_2°) que é formado pela adição de um elétron extra ao oxigênio molecular (O_2) durante o processo de redução do oxigênio na cadeia respiratória mitocondrial. Da mesma forma, os macrófagos, quando estimulados, produzem O_2° e H_2O_2 durante o processo normal de fagocitose (COMBS, 1998).

Mesmo apresentando pouca reatividade química, os compostos O_2° e H_2O_2 quando expostos aos íons metálicos (Fe^{2+} e Cu^{2+}), formam um radical livre altamente reativo, o radical hidroxila (HO°): $O_2^\circ + H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow O_2 + HO^\circ + HO^- + Fe^{3+}$

Os metais bivalentes podem também catalisar a reação de decomposição do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) ou do hidroperóxido ($ROOH$) já produzido pela oxidação lipídica, formando os radicais HO° ou RO° , respectivamente: $HOOH + Fe^{2+} \rightarrow HO^\circ + HO^- + Fe^{3+}$ ou ainda: $ROOH + Fe^{2+} \rightarrow RO^\circ + HO^- + Fe^{3+}$

O radical hidroxila (HO°) é provavelmente o radical livre mais importante para a iniciação do processo de oxidação nos tecidos animais, uma vez que ele pode rapidamente remover um átomo de hidrogênio do ácido graxo insaturado. Os principais alvos do radical hidroxila são os lipídeos, especialmente os ácidos graxos insaturados da membrana celular, as proteínas e o DNA (COMBS, 1998).

No decorrer do processo oxidativo, iniciado a partir da remoção do hidrogênio do ácido graxo insaturado pelo radical livre, ocorre formação de mais de 60 produtos finais, muitos dos quais citotóxicos.

Os ácidos graxos insaturados da membrana celular são muito suscetíveis ao ataque dos radicais livres (HO° ou RO°) devido a sua estrutura química, que permite a retirada de átomos de hidrogênio de um dos grupos $-CH_2$ da cadeia carbônica e a conseqüente formação de um radical livre ($-C^\circ$), iniciando, assim, o processo de peroxidação lipídica. Estes radicais de carbono, que são instáveis e suscetíveis ao oxigênio molecular (O_2) se reestruturam rapidamente na forma de dienos conjugados, dando origem ao radical peroxila (ROO°). Segundo Farmer et al. (1942) este radical tem a capacidade de retirar um átomo de hidrogênio de outro ácido graxo insaturado intacto, propagando a reação em cadeia até que todo ácido graxo insaturado da membrana seja completamente oxidado a hidroperóxido ($ROOH$).

Os ácidos graxos poliinsaturados são propensos à oxidação, resultando na formação de produtos como aldeídos, álcoois e hidroperóxidos, além de, epóxidos, cetonas e ácidos (DORMANDY, 1994).

Os hidroperóxidos são degradados na presença de metais como Cu^{2+} e Fe^{2+} em estado livre (íons) ou ligados a proteínas (ex.: hemoglobinas), liberando radicais que dão seqüência à cadeia de reações de oxidação e a outros produtos de clivagem (ex.: malonaldeídos). Acredita-se que esta degradação oxidativa dos ácidos graxos insaturados da membrana fosfolipídica leva a mudanças físico-químicas que resultam em disfunções da membrana celular (COMBS, 1998).

Os hidroperóxidos formados durante o processo de oxidação lipídica são essencialmente inodoros, contudo, eles se decompõem em uma grande variedade de compostos secundários voláteis e não-voláteis. Dentre estes, os aldeídos são os que mais contribuem para perda do aroma natural das carnes devido a sua alta velocidade de formação durante o processo de oxidação lipídica. De uma maneira geral, o odor desenvolvido nas carnes armazenadas sob refrigeração pode ser atribuído mais ao mascaramento do seu aroma natural resultante dos odores desagradáveis no material armazenado, do que pela degradação do aroma original (GRAY; GOMAA; BUCKLEY, 1996).

Algumas das maiores mudanças ocorrem durante o processamento, distribuição e no preparo final de alimentos e é devido à oxidação lipídica. A oxidação seria uma das maiores causas de danos químicos, resultando em rancificação e deterioração de qualidade nutricional, mudança nos padrões de qualidade como estabilidade da cor, odor, sabor (off-flavour), textura, características emulsificantes, conteúdo calórico e segurança dos alimentos (HSIEH; KINSELLA, 1989; SHAHIDI, JANITHA; WANANSUDARA, 1992; DONNELLY; ROBINSON, 1995). Enfim acarreta perdas de qualidade comercial e organolépticas no alimento (DE LA TORRE; LOPES, 1997) sendo um dos principais fatores limitantes da vida útil dos produtos alimentícios e levando a formação de compostos potencialmente tóxicos ao ser humano (FRANKEL, 1984; NAMIKI, 1990).

Reações entre os produtos derivados da oxidação lipídica e proteínas causam mudanças não desejáveis nas propriedades dos alimentos incluindo desnaturação protéica, perda de solubilidade, alterações na textura e nas propriedades funcionais das proteínas e destruição dos componentes nutritivos (VERMA et al. 1995).

A oxidação lipídica é também reconhecida como a maior causa de deterioração de produtos cárneos processados ou pré-cozidos (MIELCHE; BERTELSEN, 1994). A suscetibilidade da carne à oxidação tem sido estudada por vários pesquisadores (MIELCHE; BERTELSEN, 1994; GRAY; GOMAA; BUCKLEY, 1996; GRAU et al., 2001) com a finalidade de buscar soluções para amenizar este problema. É uma das principais reações deteriorativas que ocorrem durante o processamento, cocção, fritura, distribuição, armazenamento e preparo final dos alimentos, provocando a formação de compostos poliméricos perigosos ao ser humano (FRANKEL, 1980; NAWAR, 1985; ARUOMA, 1993; KUBOW, 1993; SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999). Raramente estão relacionados com efeitos positivos como, por exemplo, a formação de cor durante a elaboração de produtos cárneos (HALLIWELL, 1997).

Logo após a morte do animal, inicia-se o processo de deterioração, que se intensifica até que a carne se torne inaceitável ao consumo. Durante o processo de conservação da carne ocorre uma série de mudanças bioquímicas que acompanham o metabolismo *post mortem* e promovem condições para que o processo de oxidação se instale. Estas mudanças favorecem o desenvolvimento da oxidação da fração fosfolipídica altamente insaturada nas membranas subcelulares, uma vez que, é improvável que os mecanismos de defesa das células do animal vivo ainda funcionem perfeitamente após o abate (GRAY; GOMAA; BUCKLEY, 1996; MORRISSEY et al., 1998).

A taxa e a extensão da deterioração oxidativa depende de fatores como o período e temperatura de armazenamento, grau de saturação dos ácidos graxos, presença de oxidantes e pró-oxidantes e disponibilidade de oxigênio (GOGUS; KOLSARICI, 1992).

O processo autocatalítico de peroxidação lipídica nos sistemas biológicos só pode ser interrompido pela ação dos antioxidantes e por embalagens protetoras. Segundo Gray, Gomaa e Buckley (1996) têm sido aplicadas diferentes tecnologias de

processamento e armazenamento para aumentar o tempo de vida útil dos produtos, como embalagem a vácuo, atmosfera modificada entre outras, as quais têm se mostrado efetivas no retardamento da oxidação. Em relação às embalagens protetoras é imprescindível que tenham boa resistência mecânica, flexibilidade e elasticidade, a baixas e altas temperaturas, para evitar rasgos e perfurações durante o tempo de cocção ou estocagem e permitir a entrada de oxigênio, o que poderia provocar a oxidação de gorduras e pigmentos resultando na rancificação e alterações na coloração da carne (SARANTÓPOULOS; OLIVEIRA; CANAVESI, 2001). No processo de embalagem a vácuo o produto é colocado em uma embalagem com baixa permeabilidade ao oxigênio, o ar é evacuado e a embalagem lacrada. A atmosfera gasosa da embalagem a vácuo é baixa e se situa entre 2 a 5% de oxigênio (SILLIKER; WOLFE, 1980).

Além da modificação das condições ambientais o processo oxidativo pode ser evitado pela utilização de substâncias antioxidantes com a propriedade de impedir ou diminuir o desencadeamento das reações (ALLEN; HAMILTON, 1983). Estes são capazes de inibir a oxidação de diversos substratos, de moléculas simples a polímeros e biosistemas complexos, por meio de dois mecanismos: o primeiro envolve a inibição da formação de radicais livres, já que estes possibilitam a etapa de iniciação; e o segundo abrange a eliminação de radicais importantes na etapa de propagação, como por exemplo, a alcóxila e a peróxila, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia (NAMIKI, 1990; SIMIC; JAVANOVIC, 1994).

Os lipídeos são suscetíveis ao ataque por radicais livres e a sua oxidação pode ser muito prejudicial devido a sua continuidade já que é uma reação em cadeia (Figura 4). Portanto, os lipídeos contendo PUFA são particularmente propensos ao ataque de radicais livres e à deterioração oxidativa sendo utilizados na determinação da eficácia de antioxidantes naturais (WANASUNDARA; SHAHIDI, 1998).

O processo de oxidação lipídica se instala efetivamente quando ocorre deficiência no sistema natural de proteção do organismo (antioxidantes naturais) ou quando há exposição a fatores que estimulam a produção de radicais livres, ou seja, quando fatores pró-oxidantes excedem a capacidade dos antioxidantes. Os

antioxidantes podem ser classificados pela sua origem, natural ou sintética, pelo modo de ação nas reações de oxidação, pela quebra da cadeia de reações, pela eliminação do oxigênio ou através da interrupção da fase de iniciação (ADAMS, 1999).

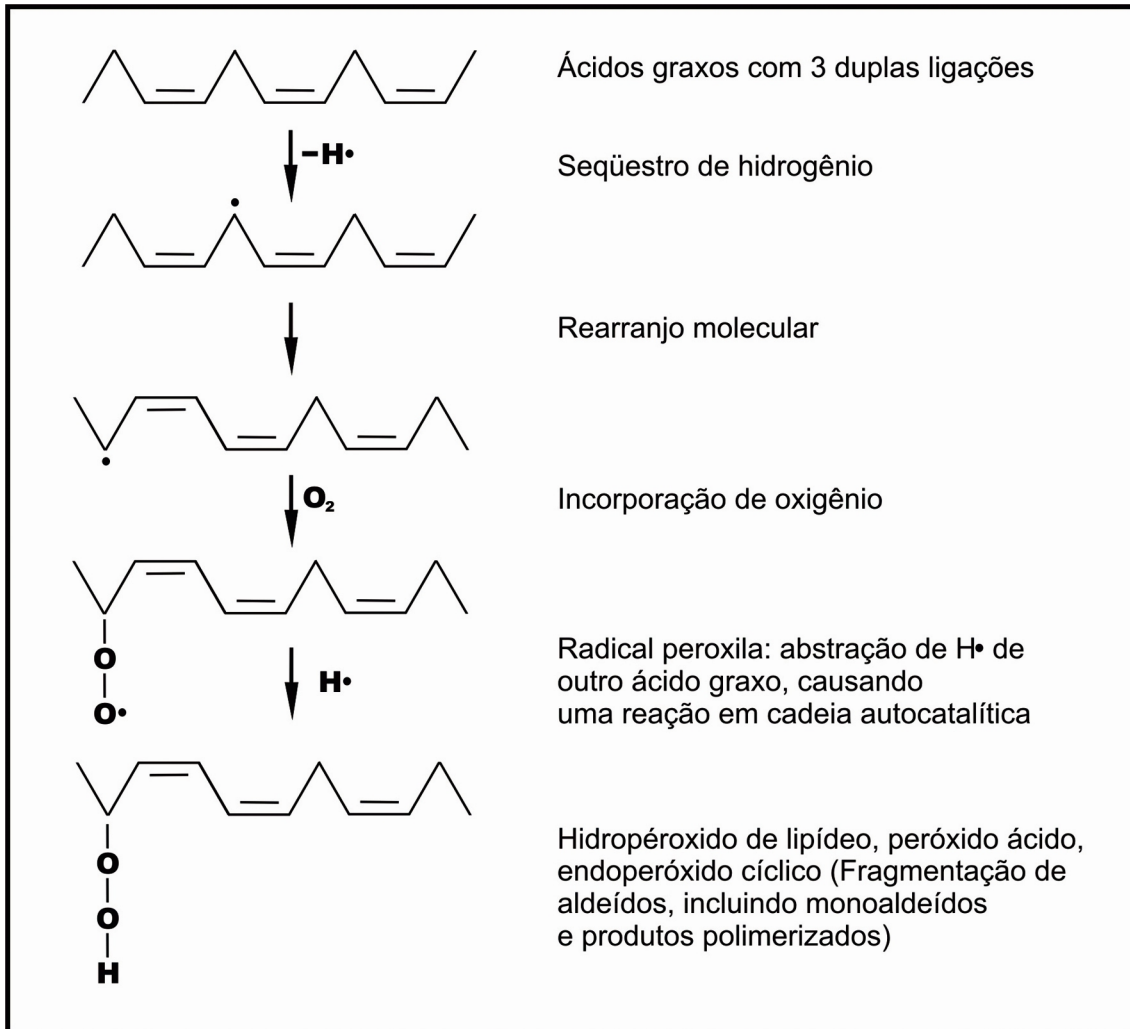


Figura 4 - Peroxidação lipídica: uma reação em cadeia

Fonte: Halliwell; Gutteridge (1991)

Como os PUFA são particularmente propensos à oxidação ou ao ataque de radicais livres (PAPAS, 1999) em alimentos ricos em lipídeos a estabilidade oxidativa é comprometida e os efeitos biológicos negativos são adversos. Esta suscetibilidade à oxidação depende também de fatores como a concentração de pró-oxidantes e de antioxidantes (LOPEZ-BOTE et. al., 1998).

É de grande interesse para produtos manufaturados o uso do ácido graxo omega-3 como ingrediente funcional para melhorar o perfil nutricional de produtos alimentícios. No entanto, a oxidação desse ácido graxo é muito rápida, causando rápida deterioração do sabor, perda de nutrientes e formação de componentes potencialmente tóxicos (FRANKEL, 1998).

A estabilidade oxidativa do ácido graxo omega-3 pode diminuir com o uso de seqüestradores de radicais livres. O omega-3 pode ser incorporado com sucesso em alimentos processados e isso parece ser melhor na forma de dispersão lipídica. No entanto os seqüestradores de radicais livres em soluções lipídicas podem ser efetivos para minimizar a oxidação numa quantidade de tempo limite em um volume de óleo e a eficiência parece depender do tipo de ácido graxo envolvido, mas eles parecem não funcionar com a mesma eficiência para a vida útil de certos produtos alimentícios processados. (HUANG; FRANKEL; GERMAN, 1997).

A maioria dos ácidos graxos insaturados comumente encontrados em frutos do mar são particularmente sensíveis a mudanças oxidativas durante o armazenamento. Antioxidantes têm sido usados pela indústria de alimentos para retardar o processo de oxidação (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995). Muitos estudos têm sido feito para comprovar a efetividade de aditivos naturais na retardação da oxidação lipídica (KAMIL; JEON; SHAHIDI, 2002).

Segundo Halliwell (1997) se entende que para manter o equilíbrio fisiológico do organismo, os sistemas de oxidação e os sistemas de proteção antioxidantes devem atuar de forma controlada sobre os substratos susceptíveis à oxidação. De acordo com Jacob (1995) estes sistemas de proteção antioxidante são insuficientes para neutralizar os radicais livres gerados nos processos fisiológicos, o que pode desencadear certas doenças como o câncer, artrites reumatóides, doenças inflamatórias, cataratas, diabetes, Parkinson entre outras.

Os métodos utilizados para medir oxidação lipídica têm evoluído de métodos químicos, utilizados inicialmente em alimentos, assim como nos métodos *ex vivo* que empregam tecidos ou fluidos biológicos. Existem diferentes formas de classificá-los entre elas segundo o tipo de amostra e pela forma de análise (química, *in vitro*, *ex vivo*, etc). A principal inconveniência é que são classificações pouco específicas. Tem sido

proposta uma nova classificação em função dos compostos produzidos nas diferentes etapas da oxidação (iniciação, propagação e terminação).

Atualmente um dos métodos mais usados para medir peroxidação lipídica em alimentos e sistemas biológicos se baseia na formação de um composto róseo devido à reação de uma molécula de malonaldeído com duas moléculas de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) que se mede espectrofotometricamente a 532 nm.

Segundo Tarladgis, Watts e Younathan (1960) a oxidação lipídica em carnes pode ser acompanhada através do valor de TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico), visto que produtos primários da oxidação lipídica constituem-se principalmente de hidroperóxidos, os quais são rapidamente decompostos em várias substâncias reativas ao TBA, particularmente carbonilas, sendo o malonaldeído o elemento mais importante. O produto da reação destas substâncias com o TBA é colorido e absorvido fortemente no comprimento de onda 532nm. Racanicci (2004), utilizando essa metodologia, verificou que os valores de TBARS de carnes refrigeradas foram maiores que os de carnes congeladas.

Uma das dificuldades para avaliar o grau de oxidação reside na escolha do momento mais adequado para efetuar essa determinação. De um modo geral, procura-se selecionar um determinado parâmetro indicador e esse geralmente é o período de indução (Figura 5) da reação, ou seja, o tempo necessário para se atingir um ponto crítico de oxidação (FRANKEL, 1998). A determinação não deve ser pontual, restrita a um único e determinado momento, mas deve ser efetuada ao longo do tempo, de forma a ser o mais representativa possível.

É importante estabelecer a distinção entre os testes para determinação da estabilidade oxidativa nas condições normais de armazenamento ou de distribuição, os chamados testes de estabilidade em tempo real, e também a avaliação da resistência à oxidação efetuada por testes preditivos, os quais promovem um envelhecimento acelerado e são chamados de testes de estabilidade acelerados.

Segundo Jadhav et al. (1996) a determinação da eficácia de um antioxidante corresponde freqüentemente à medida do alargamento do período de indução resultante da sua adição. Esse alargamento é por vezes expresso como um índice antioxidante ou fator de proteção (Figura 6).

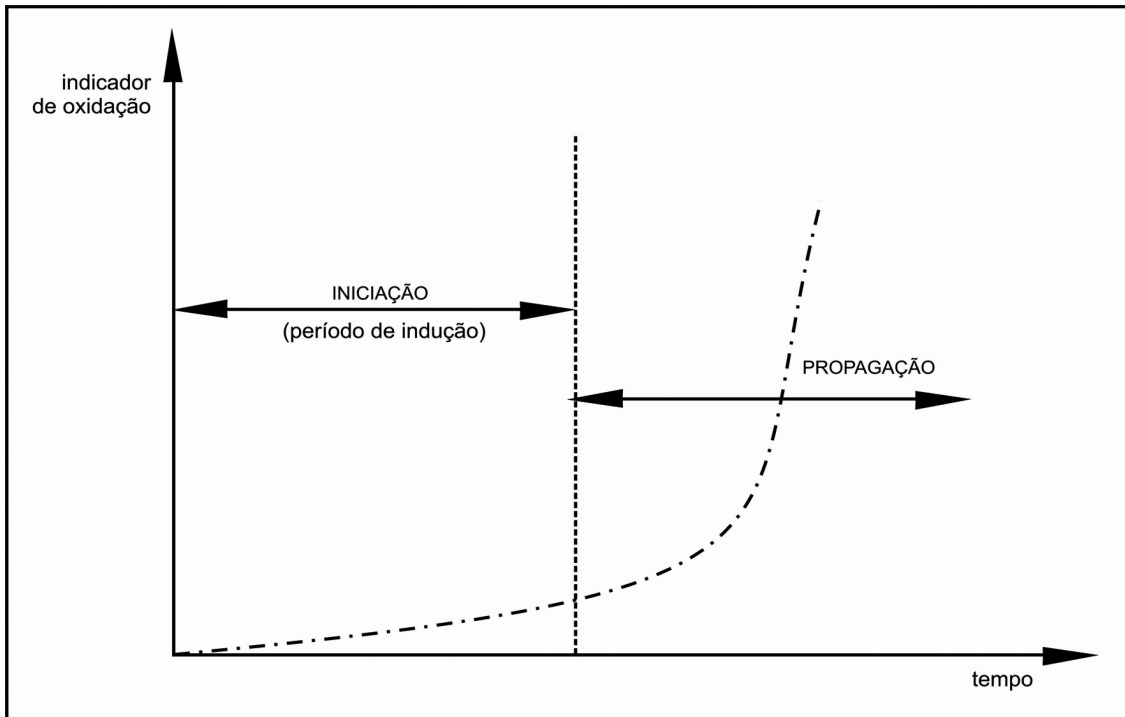


Figura 5 - Determinação da estabilidade oxidativa

Fonte: Frankel (1998)

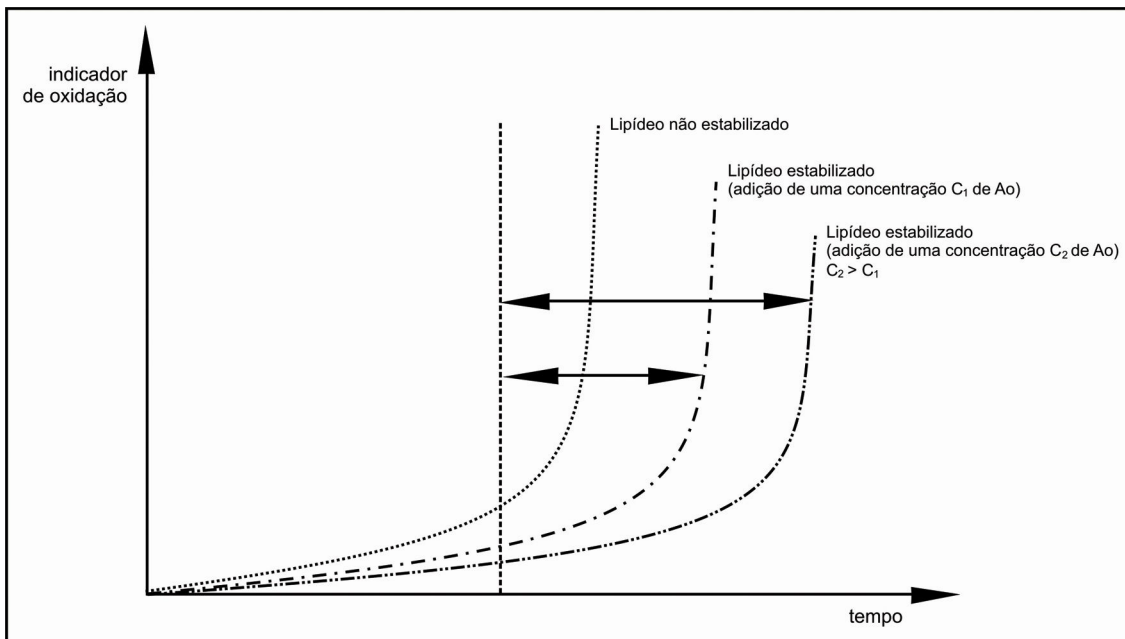


Figura 6 - Determinação da capacidade antioxidante

Fonte: Jadhav et al. (1996)

1.1.5 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

A presença de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico é sinal da ocorrência do segundo estágio de oxidação durante o qual os peróxidos são transformados em aldeídos e cetonas. Altos valores são indesejáveis já que estão associados ao ranço (ERSOY; YILMA, 2003).

O teste de TBARS quantifica o malonaldeído (MDA), um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados formado durante o processo oxidativo. O malonaldeído é um dialdeído de três carbonos, com grupos carbonilas nos carbonos 1 e 3 (ST-ANGELO, 1996). É um teste empírico e foi sugerido primeiramente por Patton, Keeney e Kurtz, em 1951, para leites e produtos lácteos (MEHLENBACHER, 1960; CECCHI, 1999). O malonaldeído e outros compostos da oxidação lipídica possuem relação com doenças crônico-degenerativas e de câncer em seres humanos (TORRES; OKANI, 1997).

Testes como o TBARS fornecem informações valiosas e essenciais a respeito do estado oxidativo e da predição à rancidez do alimento analisado, já que estes são os parâmetros mais importantes de deterioração em produtos alimentícios definindo a vida útil dos mesmos na medida em que gera produtos indesejáveis do ponto de vista sensorial, além de destruir vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais (GRAY, 1978; CECCHI, 1999). Apesar de algumas limitações, o teste com o TBA (ácido 2-tiobarbitúrico) continua sendo o método mais utilizado na avaliação da extensão da estabilidade lipídica em produtos cárneos (RAHARJO; SOFOS; SCHMIDT, 1993).

Os hidroperóxidos podem reagir e produzir uma gama de compostos responsáveis por odores e sabores indesejáveis. A reação (Figura 7) envolve o ácido 2-tiobarbitúrico com o malonaldeído, produzindo um composto de cor vermelha, medido espectrofotometricamente a 532 nm de comprimento de onda, como já dito. A formação do composto TBA:MDA, na proporção de 2:1 é possivelmente iniciada pelo ataque nucleofílico, envolvendo o carbono 5 do TBA e o carbono 1 do MDA, seguido de desidratação e reação similar subsequente do composto intermediário com uma segunda molécula de TBA, na proporção de 1:1 (NAIR; TURNER, 1984; ALDOMÁS et al., 1986).

A quantificação de malonaldeído é feita a partir de curvas de calibração construídas com concentrações conhecidas. Os padrões mais freqüentemente utilizados são 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMP) e 1,1,3,3 tetraetoxipropano (TEP) que em condições ácidas do teste sofrem hidrólise, resultando na liberação do malonaldeído (ST-ANGELO, 1996; SINNHUBER; YU, 1958; ROBARDS; KERR; PATSALIDES, 1988). Os resultados são expressos em unidades de absorbância por unidade de massa de amostra ou em “valor de TBARS”, definidos como a massa de malonaldeído (em µg, em mg, em nmols, em µmols) por kg de amostra.

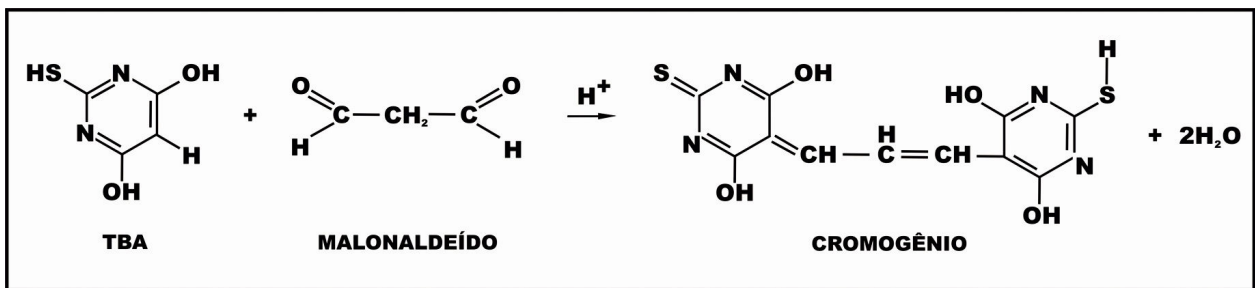


Figura 7 - Reação do teste de TBA entre o ácido 2-tiobarbitúrico e o malonaldeído

Particularmente para carnes, pescados e derivados, a informação do número de TBARS é bastante relevante. Processos envolvidos na elaboração de produtos cárneos que incluem a moagem, a mistura e o cozimento favorecem a formação do malonaldeído, sendo fundamental o emprego do teste na avaliação da qualidade do produto final (GRAY, 1978; HAMILTON; ROSSELL, 1986; SQUIRES et al, 1991). Já para pescados e produtos à base de peixe, o teste é um dos mais adequados na predição da rancidez, apesar da reação não ser específica e estar sujeita à ação de interferentes (ALDOMÁS et al., 1986).

Lee e Toledo (1977) estudaram a deterioração na separação mecânica de filés de peixe, através da mensuração da oxidação lipídica e de mudanças de coloração. Os parâmetros estudados incluíram contato com superfície de ferro, estresse mecânico, temperatura entre outros. Os valores de TBARS foram usados como um indicador da oxidação lipídica. O contato com as partes de ferro resultou em um pronunciado aumento dos valores de TBARS. Faixas de valores de TBARS mudaram muito

rapidamente quando esses músculos de peixe tiveram contato com equipamentos de processamento ou superfícies de ferro, já que este catalisa a oxidação lipídica. O mesmo ocorreu com os valores de TBARS dos peixes que foram descongelados.

Pescados em geral apresentam maiores valores de TBARS do que carnes bovinas, suínas e frangos. Esse fato está associado aos ácidos graxos de cadeia longa (poliinsaturados) que favorecem a formação do malonaldeído (OSAWA; FELICIO; GONCALVES, 2005).

A utilização de embalagem a vácuo para o pescado processado parece ser uma das alternativas para minimizar os efeitos dos processos oxidativos. SOCCOL et al. (2005) trabalharam com o objetivo de obter um novo produto com tilápia, do tipo alimento de conveniência. As tilápia foram minimamente processadas e submetidas à depuração, evisceração e filetagem. Parte delas foi embalada em bandejas de poliestireno, recobertos com filmes de EVOH (controle) e a outra parte foi embalada em EAM (atmosfera modificada de 60% CO₂ + 40% O₂) e a vácuo. Os produtos embalados em EAM apresentaram valores mais elevados de TBARS, sendo detectada a presença de ranço. O embalamento a vácuo foi o tratamento que manteve as características físico-químicas mais estáveis até o término do experimento.

Yerlikaya, Gokoglu e Uran (2005) investigaram mudanças na qualidade de patê de anchova armazenados em uma temperatura de 4°C em refrigerador. O teste de TBARS foi um dos parâmetros para se analisar a qualidade das amostras. No início, os valores de TBARS eram de 10,61 mg.Kg⁻¹ (mg de MDA por Kg de amostra) de amostra e aumentaram para 19,27 mg.Kg⁻¹ no terceiro dia de armazenamento. As concentrações de TBARS aumentaram significativamente no final do experimento quando os valores chegaram a 27,21 mg.Kg⁻¹.

Simeonidou, Govaris e Vareltzis (1998) encontraram valores de TBARS próximos de 85 mg.Kg⁻¹ depois de 6 dias de armazenamento de peixes sobre o gelo. Ruiz-Capillas e Moral (2003) encontraram valores de TBARS de 7,6 mg.Kg⁻¹ em pescada armazenados também sobre o gelo. Yanar and Fenercioglu (1999) estudando as propriedades sensoriais e a vida útil de almôndegas de carpa encontraram valores de TBARS de aproximadamente 2,5 mg.Kg⁻¹.

Piedade et al. (2005) estudando almôndegas de filés de sardinha adicionadas de antioxidantes naturais, cozidas e armazenadas sob refrigeração em embalagens permeáveis ao oxigênio, usadas para simular uma condição favorável ao desenvolvimento de oxidação lipídica, observaram o efeito do cozimento (TBARS da carne crua, $19,36 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$ e da cozida, $39,77 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$) e o aumento constante dos valores de TBARS durante o armazenamento para todos os tratamentos analisados.

Sant'Ana e Mancini-Filho (1999) estudaram a influência da adição de oxidantes *in vivo* na composição de ácidos graxos de polpa do pacu (*Piaractus mesopotamicus*), um peixe de água doce, alimentados com dietas calóricas e proteicas. Foi usado extrato de alecrim em um dos tratamentos. Os resultados mostraram que o uso de antioxidantes pouco alterou a composição de ácidos graxos nos filés, mas os valores de TBARS confirmaram o importante papel do antioxidante natural na proteção da oxidação.

Sant'Ana e Mancini-Filho (2000) observaram que os valores de TBARS de filés de peixe controle, tocoferol, BHT e extrato de alecrim tiveram diferenças estatísticas significantes em amostras irradiadas com diferentes doses. Os resultados mostraram que o tocoferol ofereceu a melhor proteção contra a oxidação quando comparados com os efeitos dos outros antioxidantes.

A avaliação da peroxidação lipídica foi realizada por Luzia et al. (2000) em várias espécies de pescado fresco com o objetivo de verificar a integridade da fração lipídica recomendada em dietas que buscam os ácidos graxos da série ômega-3. Os autores encontraram valores de TBARS de $0,235 \text{ mg.Kg}^{-1}$ no verão e $0,117 \text{ mg.Kg}^{-1}$ no inverno, ambos dentro dos limites satisfatórios, porém havendo presença de rancidez.

Ke, Cervantes e Robles-Martinez (1984) trabalhando com várias espécies de pescado, sugeriram valores de TBARS inferiores a $0,576 \text{ mg.Kg}^{-1}$, como baixos, entre $0,648$ e $1,44 \text{ mg.Kg}^{-1}$, como levemente rançosos, e valores superiores a $1,51 \text{ mg.Kg}^{-1}$ como rançosos e inaceitáveis. Segundo Hassan et al. (1996) o produto pode ser considerado de bom estado quando apresenta valores abaixo de $3,0 \text{ mg.Kg}^{-1}$. Sant'Ana (2000) encontrou valores de TBARS em torno de $0,41$; $0,62$; $0,59$ e $1,49 \mu\text{g.g}^{-1}$ em filés de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) armazenados congelados durante 0, 30, 60 e 90 dias, respectivamente.

Pereira e Tenuta (2005) estudaram a qualidade da sardinha (*Sardinella brasiliensis*) comercializada em São Paulo. Amostras frescas, descongeladas e processadas da referida espécie foram avaliadas quanto às condições de consumo, através das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). A sardinha fresca comercializada na CEAGESP apresentou condição aceitável de consumo. Foram adequados os níveis de TBARS encontrados ($<0,43 \text{ mg.Kg}^{-1}$), tendo como referência dados da literatura para pescado fresco. O mesmo não ocorreu com a sardinha fresca e descongelada comercializada em feiras livres quando avaliada pelos níveis de TBARS. A sardinha salmourada e anchovada não apresentou condição aceitável de consumo. Os resultados mostraram que a sardinha pode chegar à CEAGESP em condições apropriadas de consumo, mas pode perder a qualidade na comercialização feita nas feiras livres. Foi enfatizada a necessidade de reavaliação do congelamento da sardinha e de sua estocagem, visando à comercialização durante o defeso da espécie. A rigor, não há informações suficientes em relação à qualidade do pescado consumido no Estado de São Paulo, inclusive da sardinha. Esta situação pode estar permitindo a comercialização do pescado de uma forma não adequada, trazendo como consequência o risco inerente à Saúde Pública.

1.1.6 Antioxidantes

1.1.6.1 Tendências

Estão crescendo as evidências que sugestionam que doenças degenerativas, principalmente disfunções cerebrais, câncer e as do coração podem ser resultados de danos celulares causados por radicais livres e a presença de antioxidantes naturais na dieta poderia ser um importante meio para a prevenção dessas doenças (ARUOMA, 1998; NEES; POWLES, 1997; STEINMETZ; POTTER, 1996).

Os consumidores, geralmente, preferem antioxidantes naturais aos sintéticos, sendo o grupo dos ácidos fenólicos o mais importante dentre os antioxidantes naturais. Eles ocorrem em plantas e são conhecidos por protegerem os alimentos da oxidação lipídica. Além disso, estudos toxicológicos têm demonstrado a possibilidade de estes

antioxidantes sintéticos como o butil hidroxi anisol (BHA), o butil hidroxi tolueno (BHT), o tércio butil hidroxi quinona (TBHQ), o tri hidroxi butilfenona (THBP) e o galato de propila (PG) apresentarem algum efeito tóxico. O Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA) da Food and Agriculture Organization (FAO) e da World Health Organization (WHO) tem alterado nos últimos anos a ingestão diária aceitável (IDA) destas substâncias como resultado de algumas pesquisas (WÜRTZEN, 1990).

O interesse em encontrar antioxidantes naturais para o emprego em produtos alimentícios ou farmacêuticos tem aumentado consideravelmente, com o intuito de substituir os antioxidantes sintéticos, os quais têm sido restringidos já que estes podem apresentar certa toxicidade e até mesmo serem potenciais carcinogênicos (NAWAR, 1996; ZHENG; WANG, 2001).

Juntamente com a preferência do consumidor por produtos com apelos nutricional ou funcional, a indústria de alimentos tem optado pelo uso de antioxidantes naturais como várias especiarias e ervas e suas frações isoladas. Os recentes estudos da importância de reações bioquímicas no organismo animal e nos alimentos, envolvendo radicais livres, despertaram interesses de diversas áreas de pesquisa, sendo atualmente um tema explorado na área de alimentos.

São exemplos os estudos com antioxidantes naturais que protegem o alimento e/ou o organismo, reduzindo o oxigênio singlete neutralizando os radicais livres, agressivos às células ou decompondo peróxidos. Geralmente são adicionados aos alimentos com a função de prevenir a oxidação (BRENNAN; PAGLIARINI, 2001; ZHENG; WANG, 2001; RACANNICCI et al., 2004). Podem funcionar como agentes redutores, como inibidores de radicais livres, desativadores de metais pró-oxidantes e como quelantes ou sequestrantes do oxigênio singlete (KÄHKÖNEN, et al., 1999; RICE-EVANS et al., 1995).

A determinação de novas fontes de antioxidantes naturais e o isolamento de compostos vegetais de sementes, frutas, folhas e raízes têm sido observados em trabalhos e estudos de diversos pesquisadores e cientistas nos últimos anos (CHANG et al., 1977; CHEVOLLEAU, et al., 1992; NAKATANI, 1992; PRATT, 1992; HETTIARACHCHY, et al., 1996; NAKATANI, 1997; XING; WHITE, 1997; MANCINI-

FILHO, et al., 1998; WETTASINGHE; SHAHIDI, 1999; MIRANDA; SATO; MANCINI-FILHO, 2001; TRINDADE et al., 2005, RACANICCI et al., 2007).

1.1.6.2 Antioxidantes naturais

Os antioxidantes são utilizados como meio de evitar a oxidação. São produtos que atuam na quelação do oxigênio singlete ou ainda na neutralização dos radicais livres. Os antioxidantes são substâncias que estão presentes em quantidades bem menores que as do substrato oxidável e que retardam ou previnem a oxidação desse substrato. Os antioxidantes agem eliminando parte dos radicais livres do organismo, interrompendo a seqüência de propagação e dissipando a energia reativa através do anel da sua estrutura (ROBEY, 1994).

Estudos têm demonstrado que o uso de substâncias antioxidantes naturais pode oferecer uma ação protetora efetiva contra processos oxidativos que ocorrem em alimentos já que oferecem proteção contra os radicais livres e ao oxigênio singlete e tem despertado o interesse de pesquisadores da área. Juntamente com a preferência do consumidor por produtos funcionais o uso de especiarias e ervas como antioxidantes naturais tem se tornado importante na indústria alimentícia, como já dito. O alecrim, a salsa e o orégano têm apresentado alta atividade antioxidante em diversos estudos.

As pesquisas biológicas relacionadas com as reações bioquímicas no organismo animal também podem ser notadas. Estudos de Fernández et al. (1998) sugeriram que os compostos fenólicos foram responsáveis por atividades antiinflamatórias e antibacterianas em tecido inflamado de ratos.

Antioxidantes fenólicos funcionam como seqüestradores de radicais e algumas vezes como quelantes de metais (SHAHIDI; JANITHA; WANASUNDARA, 1992), agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os produtos intermediários, formados pela ação destes antioxidantes, são relativamente estáveis devido à ressonância do anel aromático dessas substâncias (NAWAR, 1985).

Os compostos fenólicos englobam desde moléculas simples até outras com alto grau de polimerização (BRAVO, 1998). Estão presentes nos vegetais na forma livre ou ligado à açúcares (glicosídeos) e proteínas (CROFT, 1998). Na família dos compostos largamente distribuídos na natureza os fenólicos estão divididos em dois grandes

grupos: os flavonóides e derivados e os ácidos fenólicos (ácidos benzóico, cinâmico e seus derivados) e cumarinas. Diversos autores realizaram estudos visando verificar o potencial antioxidante dos ácidos fenólicos, com o objetivo de substituir os antioxidantes sintéticos que são largamente utilizados na conservação de alimentos lipídicos, por aumentarem a vida útil de muitos produtos em 15 a 200% (DURÁN; PADILLA, 1993).

Pesquisadores têm trabalhado na separação, identificação, quantificação e utilização dos compostos fenólicos em alimentos, enfrentando muitos problemas metodológicos, já que estes compostos englobam uma gama de substâncias (fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonóides, taninos, ligninas) na maioria das vezes polares, muito reativas e suscetíveis à ação de enzimas (KING; YOUNG, 1999).

Os estudos com antioxidantes naturais estão centralizados nos compostos fenólicos de origem vegetal, pois eles agem como aceptores de radicais livres, interrompendo a reação em cadeia provocada por estes radicais, além de atuarem também nos processos oxidativos catalizados por metais, tanto *in vitro*, como *in vivo* (HO, 1992; HUANG; FERRARO, 1994; NAKATANI, 1992; PRATT, 1992; HO et al., 1994; DONNELLY; ROBINSON, 1995; WILLIAMSON; FAULKNER; PLUMB, 1998)

Os compostos fenólicos têm participação vital na bioquímica das plantas. Eles servem como metabólitos secundários e são responsáveis pelo controle do estresse oxidativo assim como filtradores de luz UV. Uma vez usados em alimentos, os fenólicos funcionam como retardadores da oxidação primária e como queladores de íons metálicos (SHAHIDI et al., 1994; SHAHIDI; NACZK, 1995).

1.1.6.3 Antioxidantes naturais em peixes processados

O armazenamento congelado inibe o crescimento microbiano e ajuda desacelerar a oxidação lipídica, no entanto, esta não é totalmente inibida. O mince de peixe é menos estável que o peixe inteiro devido à ruptura das membranas celulares, que aumenta a taxa enzimática e, portanto as reações químicas (PASTORIZA; SAMPEDRO; HERRERA, 1994).

A oxidação lipídica é um dos mais importantes fatores responsáveis pela deterioração do peixe durante o armazenamento refrigerado e congelado. No músculo dos animais ela pode ser iniciada até mesmo por reações não enzimáticas (AKHTAR et al., 1998).

Piedade et al. (2005) estudaram a atividade antioxidante de folhas secas de orégano e alecrim na estabilidade de almôndegas pré-cozidas de filés de sardinha armazenadas sob refrigeração durante 6 dias em embalagens de polietileno e concluíram que o orégano foi mais eficiente do que o alecrim, adicionado na mesma concentração.

Sant'Ana e Mancini-Filho (2000) mostraram que o uso de antioxidantes naturais pouco alterou a composição de ácidos graxos de filés de peixe. O músculo do peixe contém caracteristicamente altas quantidades de EPA e DHA, que são facilmente oxidados por serem altamente insaturados. Um declínio na taxa dos ácidos graxos (EPA+DHA/16:0) tem sido usado para elucidar deterioração oxidativa de poliinsaturados em lipídeos de peixe (WADA; FANG, 1992).

Younathan, Oon e Yusof (1983) mostraram há 26 anos atrás o efeito benéfico da adição de extrato de cebola na estabilidade oxidativa de ácidos graxos poliinsaturados de mince de tubarão.

Serdaroglu e Felekoglu (2005) revelaram que 300 ppm de extrato de alecrim retardaram as mudanças oxidativas no mince congelado de sardinha em um estudo que durou 5 meses. Já o suco de cebola (1ml/100g) não foi tão efetivo quanto o extrato de alecrim. A adição de suco de cebola conseguiu retardar o desenvolvimento da oxidação por 3 meses de armazenamento congelado.

Sant'Ana e Mancini-Filho (1999) estudaram a influência da adição de antioxidantes naturais *in vivo* na composição de ácidos graxos da polpa do peixe de água doce pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Foi usado extrato de alecrim em um dos tratamentos. Os resultados mostraram que o uso de antioxidantes alterou a composição de ácidos graxos diferentemente do controle. O teste TBARS confirmou o importante papel do antioxidante natural na proteção da oxidação lipídica.

Sant'Ana e Mancini (2000) observaram que os valores de TBARS de filés de peixe (tratamentos: controle; tocoferol; BHT; extrato de alecrim) apresentaram

estatísticas significantes em amostras irradiadas em diferentes doses. Os resultados mostraram que o tocoferol ofereceu a melhor proteção contra a oxidação quando comparados com os efeitos dos outros antioxidantes.

Os estudos para o processo de estabilização oxidativa contam com a adição dos componentes bioativos. O uso de antioxidantes naturais em alimentos está no começo e ainda precisa ser otimizado. Os fatores que afetam a eficiência dos antioxidantes devem ser cuidadosamente pesquisados. As propriedades físicas do sistema, a participação das moléculas bioativas em diferentes fases do processo, a real efetividade do antioxidante para cada tipo de alimento, o efeito do processamento no alimento e os efeitos intrínsecos dos componentes dos antioxidantes naturais nos sistemas alimentares ainda devem ser determinados.

Referências

ACKMAN, R.G. Seafood lipids. In: SHAHIDI, F.; BOTTA, J. R. **Seafoods: chemistry, processing, technology and quality**. New York: Blackie Academic ; Professional; London, 1994. cap.4 p.34-48.

ACNIELSEN. **What's hot around the globe**. A global ACNielsen on line survey on consumer behaviour and attitudes. Janeiro, Schaumburg. Disponível em: <http://www.acnielsen.com> 2005 a acesso em: 04 mar. 2007.

ACNIELSEN. **Functional food & organics**. A global ACNielsen on line survey on consumer behaviour and attitudes, Nov. 2005. disponível em: <http://www2.acnielsen.com/reports/documents/2005-cc-functional-organics.pdf> 2005 b acesso em: 04 nov. 2006.

ACNIELSEN. **Consumer attitudes toward organic foods**. A global ACNielsen on line survey on consumer behaviour and attitudes, Dezembro. disponível em: <http://nl.acnielsen.com/news/20051205.shtml> 2005c. acesso em: 19 mar. 2006.

ADAMS, C. A. **Nutricines: food components in health and nutrition: Oxidation and antioxidants**. Nottingham: Nottingham University Press, 1999. 128p.

AGREN, J.J.; HANNINEN, O.; LAITINEN M.; SEPPANEN, K.; BERNHARDT, I.; FOGELHOLM, L.; HERRANEN, J.; PENTTILA, I. Boreal freshwater fish diet modifies the plasma lipids and prostanoids and membrane fatty acids in man. **Lipids**, Chicago, v.23, n.10, p.924-929, 1998.

AHMAD, J. I. Omega three fatty acids – the key to longevity. **Food Science and Technology Today**, London, v.12, n.3, p.139-146, 1998.

AKHTAR, P.; GRAY, J.I.; BOOREN, A.M.; GARLING, D.L. Effect of dietary components and surface application of oleoresin rosemary on lipid stability of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle during refrigerated and frozen storage. **Journal of Food Lipids**, St John, v.5, n.1, p.43-45, 1998.

ALBERT, C.M.; HENNEKENS, C.H.; O'DONNELL, C.J.; AJANI, U.A.; CAREY, V.J.; WILLETT, W.C.; RUSKIN, J.N.; MANSON, J.E. Fish consumption and risk of sudden cardiac death. **The Journal of the American Medical Association**, Chicago, v.279, n.1, p.23-28, 1998.

ALDOMÁS, M. E.; GIANNINI, D. H.; CIARLO, A. S.; BOERI, R. L. Formaldehyde as an interference of the 2-thiobarbituric acid test. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.37, n.1, p.54-58, 1986.

AMERICAN HEART ASSOCIATION. Disponível em <http://www.americanheart.org> acesso em: 14 jan. 2006.

ALLEN, J.C.; HAMILTON, R.J. **Rancidity in foods**. London: Applied Science Publishers, 1983. 199p.

ARMSTRONG, S.G.; LEACH, D.N.; WYLLIE, S.G. Nutritional evaluation of lipids in fish from Australian temperate waters. **Journal of Food Science**, Chicago, v.56, p.1111-1112, 1991.

ARUOMA, O.I. Free radicals and food. **Chemistry in Britain**, London, v.29, n.3, p.210-214, 1993.

ARUOMA, O. I. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v.75, n.2, p.199–212, 1998.

ASCHERIO, A.; RIMM, E.B.; STAMPFER, M.J.; GIOVANNUCCI, E.L.; WILLETT, W.C. Dietary intake of marine *n*-3 fatty acids, fish intake, and the risk of coronary disease among men. **The New England Journal of Medicine**, Massachusetts, v.332, n.15, p.977-982, 1995.

ASHIE, I.N.A.; SMITH, J.P.; SIMPSON, B.K. Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 36, n.1/2, p.87-121, 1996.

AUBOURG, S.P. Review: interaction of malondialdehyde with biological molecules - new trends about reactivity and significance. **International Journal of Food and Science and Technology**, Oxford, v. 28, p. 323-335, 1993.

BADOLATO, E.S.; CARVALHO, J.B.; AMARAL MELLO M.R.P.; TAVARES M.; CAMPOS N.C.; AUED-PIMENTEL, S.; MORAIS C Centesimal composition of fatty acids and caloric-value of five marine fish species in the different seasons. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.54, n.1, p.27-35, 1994.

BANG, H.O.; DYERBERG, J. Plasma lipids and lipoproteins in Greenlandic west-coast Eskimos. **Acta Medica Scandinavica**, Stockholm, v.192, n.1/2, p.85-94, 1972.

BANG, H. O.; DYERBERG, J. Lipid metabolism and ischemic heart disease in greenland eskimos In: DRAPER, H.H. **Advances in Nutrition Research**. New York: Plenum Press, 1980. p. 1-22.

BERMOND, P. Biological effects of food antioxidants. In: HUDSON, B.J.F. **Food antioxidants**. London: Elsevier Applied Science, 1990. p.193-253.

BELDA, M.C.R.; POURCHET-CAMPOS, M.A. Ácidos graxos essenciais em nutrição: uma visão atualizada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.11, n.1, p.5-35, 1991.

BIMBO, P.; CROWTHER, J. B. Fish oils; processing beyond crude oil. **Infofish International**, Kuala Lumpur, v.6, p.20-25, 1991.

BOYD, L.C.; GREEN, D.P.; GIESBRECHT, F.B.; KING, M.F. Inhibition of oxidative rancidity in frozen cooked fish flakes by tertiary-butylhydroquinone and rosemary extract. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.61, n.1, p.87-93, 1993.

BOYD, C. E.; MASSAUT, L.; WEDDIG, L. J. Towards reducing environmental impacts of pond aquaculture. **Infofish International**, Kuala Lumpur, n.2, p.27-33, 1998.

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

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

BRENNA, O.V.; PAGLIARINI, E. Multivariate analyses of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Chicago, v.49, n.10, p. 4841-4844, 2001.

BRUSCHI, L. F. L. **Rendimento, composição química e perfil de ácidos graxos de pescado e seus resíduos: uma comparação**. 2001. Trabalho de conclusão do curso de Oceanografia, Universidade do Vale do Itajaí, Centro de Ciências Tecnológicas da Terra e do Mar, Itajaí, 2001.

BRUNNER, J; PARHOFER, K.G.; SCHWANDT, P.; BRONISCH, T. Cholesterol, essential fatty acid and suicide. **Pharmacopsychiatry**, Munich, v.35, n.1, p.1-5, 2002.

BYRNE, M. Nutraceuticals: Food fad or future trend. **Chilton's Food Engineering International**, Chilton, v.19, p.42-43, 1994.

BURR, G.O.; BURR, M.M. A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore v.82, p.345-367, 1929.

BURR, M.L. Is oil fish good for the heart? **Trends in Food and Science Technology, Elsevier Trends Journals**, Cambridge, v.2, n.1, p.17-20, 1991.

CALDER, P.C. Immunoregulatory and anti-inflammatory effects of *n*-3 polyunsaturated fatty acids. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v.31, p.467-490, 1998.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. Campinas: Editora Unicamp, 1999. 212p.

CHANG, S.S.; OSTRIC-MATIJESEVIC, B.; HSIEH, O.A.L.; HUAN, C.L. Natural antioxidants from rosemary and sage. **Journal of Food Science**, Chicago, v.42, n.4, p.1102-1106, 1977.

CHEVOLLEAU, S.; MALLET, J.F.; UCCIANI, E.; GAMISANS, J.; GRUBER, M. Antioxidant activity in leaves of some mediterranean plants. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 69, n.12, p. 1269-1271, 1992.

COLIN, A; REGGERS, J.; CASTRONOVO, V.; ANSSEAU, M. Lipids, depression and suicide. **Encephale**, Paris, v.29, p.49-58, 2003.

COMBS. G. F. **The vitamins: Fundamental Aspects in Nutrition and Health**. New York: Academic Press, 1998. p.189-222.

COSGROVE, J.P.; CHURCH, D.F.; PRYOR, W. A. The kinetics of autoxidation of polyunsaturated fatty acids. **Lipids**, Champaign, v.22, n.5, p.299-304, 1987.

CRAWFORD, M.A. The role of essential fatty acids in neural development: implications for perinatal nutrition. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.57, p 703-709, 1994.

CROFT, K.D. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. **Annals of the New York Academy of Science**, New York, v.854, p.435-442, 1998.

CUNNANE, S.C. Problems with essential fatty acids: time for a new paradigm? **Progress in Lipid Research**, Oxford, v.42, n.6, p.544-568, 2003.

DAVIGLUS, M.L.; STAMMER, J.; ORETIC, A.J.; DYER, AR, IL, K.; GREENLAND, P.; WALSH, M.; MORRIS, D.; SHEKELLE, R.B. Fish consumption and the 30-year risk of fatal myocardial infarction, **The New England Journal of Medicine**, Waltham, v.336, n.15, p.1046-1053, 1997.

DE ANGELIS, R. C. Dr. **A importância fisiológica dos ácidos graxos**, disponível em: http://www.nutricaoempauta.com.br/lista_artigo.php?cod=88; acesso em: 14 de jan de 2006

DE LA TORRE, M.C.; LOPES, E. T. El papel de los antioxidantes: En la tecnología de los alimentos. En la biodegradación oxidativa del organismo. **Alimentaria: Revista de Tecnología e Higiene de los Alimentos**, Madrid, v.97, p.19-27, 1997.

DONNELLY, J.K.; ROBINSON, D.S. Invited review. Free radical in foods. **Free Radical Research**, Yverdon, v.22, n.2, p.147-176, 1995.

DORMANDY, T.L. Antioxidant vitamins and nutrients. In: GUTTERIDGE, J.M.C., HALLIWELL, B. **Antioxidants in nutrition, health, and disease**. New York: Oxford University Press, 1994. p.63-81.

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

DYERBERG, J.; BANG, H.O.; STOFFERSEN, E.; MONCADA, S.; VANE, J.R. Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis. **Lancet**, London, v.2, n.8081, p.117-119, 1978.

ERSOY, B.; YILMA, A.B. Frozen Storage of African Catfish (*Clarias gariepinus* BURCHELL, 1822) Mince Balls. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, Turquia, v.27, p.827-832, 2003.

FAO/WHO – **Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives**. Geneva: World Health Organization, 1994. 6p.

FARMER, E. H.; BLOOMFIELD, G. F.; SUNDARALINGAM, A.; SUTTON, D. A. The course and mechanism of autoxidation reactions in olefinic and polyolefinic substances, including rubber. **Transactions of the Faraday Society**, London, v. 38, p. 348-356, 1942.

FERNÁNDEZ, M.A.; SAENZ, M.T.; GARCIA, M.D. Anti-inflammatory activity in rats and mice of phenolic acids isolated from *Scrophularia frutescens*. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, London, v.50, n.10, p.1183-1186, 1998.

FRANKEL, E.N. Lipid oxidation. **Progress in Lipid Research**, Oxford, v.19, n.1/2, p.1-22, 1980.

FRANKEL, E.N. Lipid oxidation: mechanisms, products and biological significance. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v.61, p.1908-1915, 1984.

FRANKEL, E.N. **Lipid Oxidation**. Dundee: The Oil Press, 1988. p.13-22 ; 120-166.

GOGUS, A.K.; KOLSARICI, N. Su Urunleri **Teknolojisi**. Ankara Universitesi Ziraat Fakultesi Yayinlari, Yayian, n. 358, n. 1243, p.140, 1992.

GRAU, A.; GUARDIOLA, F.; GRIMPA, S.; BARROETA, A. C.; CODONY, R. Oxidative stability of dark chicken meat through frozen storage: influence of dietary fat and α -tocopherol and ascorbic acid supplementation. **Poultry Science**, Ithaca, v.80, p. 1630-1642, 2001.

GRAY, J. I. Measurement of lipid oxidation - A review. **Journal of American Oil Chemists' Society**, Urbana, v.55, n.5, p. 539-546, 1978.

GRAY, J. I.; GOMAA, E. A.; BUCKLEY, D. J. Oxidative quality and shelf life of meats. **Meat Science**, Barking, v. 43, p.111-123, 1996.

GUTIERREZ, L.E.; SILVA, R.C.M. Composição em ácidos graxos de peixes comercialmente importantes do Brasil. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.50, n.3, p.478-483, 1993.

HAAG, M. Essential Fatty Acids and the Brain. **Canadian Journal of Psychiatry**, Ottawa, v.48, n.3, p.195-203, 2003.

HALLIWELL, B. Antioxidants and human disease: a general introduction. **Nutrition Reviews**, New York, v.55, n.1/2, p.44-52, 1997.

HAMILTON, R.J.; ROSSELL, J. B. **Analysis of oils and fats**. Londres: Elsevier, 1986. 441p.

HARRIS, W.S. N-3 fatty acids and lipoproteins: comparison of results from human and animal studies. **Lipids**, Chicago, v.31, n.3, p.243-252, 1996.

HASSAN A. A. K.; HAMZA M. A. T.; ADNAN S. B.; MOHAMED A.; ATIF A. A. A.; MOHAMED A. E. M. Chemical changes after irradiation and post-irradiation storage in tilapia and spanish mackerel. **Journal of Food Science**, Chicago, v.61, n.4, p.729-733, 1996.

HAZEL, J.R.; ZEBRA,E. Adaptation of biological membranes to temperature: molecular species compositions of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine in mitochondrial and microsomal membranes of liver from thermally-acclimated rainbow trout. **Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic and Environmental Physiology**, Berlin, v.156, n.5, p.665-674 , 1986.

HEARN, T.L.; SGOUTAS, S.A.; HEARN, J.A.; SGOUTAS, D.S. Polynsaturated fatty acids and fat in fish flash for selecting species for health benefits. **Journal of Food Science**, Chicago, v.52, p.1209-1211, 1987.

- HENDERSON, R. J.; TOCHER, D. R. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. **Progress in Lipid Research**, Oxford, v.26, p.281-347, 1987.
- HETTIARACHCHY, N.S.; GLENN, K.C.; GNANASAMBANDAM, R.; JOHNSON, M.G. Natural antioxidant extract from fenugreek (*Trigonella foenumgraecum*) for ground beef patties. **Journal of Food Science**, Chicago, v.61, n.3, p.516-519, 1996.
- HO, C.T. Phenolic compounds in food - an overview. In: HO, C.T.; LEE, C.Y.; HUANG, M.T. Phenolic compounds in food and their effects on health. **American Chemical Society**, Washington, D.C., Symposium Series, n.506, p.2-7, 1992.
- HO, C.T.; FERRARO, T.; CHEN, Q.; ROSEN, R.T.; HUANG, T.M. Phytochemicals in teas and rosemary and their cancer-preventive properties. In: HO, C.T.; OSAWA, T.; HUANG, T.M.; ROSEN, R.T. Food phytochemicals for cancer prevention. **American Chemical Society**, Washington, D.C., Symposium Series, n.547, p.2-19, 1994.
- HSIEH, R.J.; KINSELLA, J.E. Oxidation of polyunsaturated fatty acids: mechanisms, products, and inhibition with emphasis on fish. **Advances in Food and Nutrition Research**, San Diego, v.33, p.233-341, 1989.
- HUANG, M.T.; FERRARO, T. Cancer chemoprevention by phytochemicals in fruits and vegetables: an overview. In: HO, C.T.; OSAWA, T.; HUANG, T.M.; ROSEN, R.T. **Food phytochemicals for cancer prevention**. Washington, D.C: American Chemical Society, 1994 .2-16, Symposium Series, 546.
- HUANG, S.W.; FRANKEL, E.N.; GERMAN, J.B. Partition of selected antioxidants in corn oil-water model systems. **Journal of agricultural and food chemistry**, Easton, v.45, n.6, p.1991-1994, 1997.
- JACOB, R.A. The integrates antioxidant system. **Nutrition Research**, New York, v.15, n.5, p.755-766, 1995.
- JADHAV, S. J.; NIMBALKAR, S. S.; KULKARNI, A. D.; MADHAVI, D. L.; RAJALAKSHMI, D.; NARASIMHAN, S. In MADHAVI, D. L.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKHE, D. K. **Food Antioxidants: Technological, Toxicological, and Health Perspectives**. New York:Ed. Marcel Dekker,1996. p.5.
- KAMIL, J.Y.V.A.; JEON, Y.J.; SHAHIDI, F. Antioxidative activity of chitosans different viscosity in cooked comminuted flesh of herring (*Clupea harengu*). **Food Chemistry**, Barking, 79, p.69-77, 2002.
- KÄHKÖNEN, M.P., HOPIA, A.I., VUORELA, H.J., RAUHA, J.-P., PIHLAJA, K., KUJALA, T.S., HEINONEN, M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **Journal Agricultural of Food and Chemistry**, Columbus, v.47, n.10, p.3954-3962, 1999.

KE, P.J.; CERVANTES, E.; ROBLES-MARTINEZ, C. Determination of thiobarbituric acid reactive substances in fish tissue by an improved distillation-spectrophotometric method. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.35, n.11, p.1248-1254, 1984.

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

KINSELLA, J. E. Food components with potencial therapeutic benefits: the *n*-3 polyunsaturated fatty acids of fish oils. **Food Technology**, Chicago, v.40, n.2, p.89-97, 1986.

KINSELLA, J. E. **Seafoods and fish oils in human health and disease** - Food Science and Technology. New York:Marcel Dekker ,1987.320p.

KINSELLA, J.E.; LOKESH, B.; BROUGHTON, S.; WHELAN, J. Dietary polyunsaturated fatty acids and eicosanoids: potential effects on the modulation of inflammatory and immune cells: An overview. **Nutrition**, London, v.6, p.24-44, 1990.

KRITCHEVSKY, D. An international symposium on cancer, cachexia, cytokines and EPA: Introduction. **Nutrition**, London, v.12, p.S1, 1996.

KROMHOUT, D.; BOSSCHIETER, E.B.; DE LEZENNE COULANDER, C. The inverse relation between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. **The New England Journal of Medicine**, Massachusetts, v.312, n.19, p.1205-1209, 1985.

KROMHOUT, D.; FESKENS, E.J.; BOWLES, C.H.; et al. The protective effect of a small amount of fish on coronary heart mortality in an elderly population. **International Journal of Epidemiology**, London, v.24, p.340-345, 1995.

KUBOW, S. Routes of formation and toxic consequences of lipid oxidation products in foods. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v.12, p.63-81, 1992.

KUBOW, S. Lipid oxidation products in food and atherogenesis. **Nutrition Reviews**, New York, v.51, n.2, p.33-40, 1993.

LANDS, W. E. M. Renewed questions about polyunsaturated fatty acids. **Nutrition Reviews**, New York, v. 44, n.6, p.189-195, 1986.

LEE C. M.; TOLEDO, R. T. Degradation of fish muscle during mechanical deboning and storage with emphasis on lipid oxidation. **Journal of Food Science**, Chicago, v.42, p.1646-1649, 1977.

LOPEZ-BOTE, C.J.; GRAY, J.I.; GOMMA, E.A.; FLEGAL, C.J. Effect of dietary administration of oil extracts from rosemary and sage on lipid oxidation in broiler meat. **British Poultry Science**, London, v.39, n.2, p.235-240, 1998.

LUZIA, L. A.; SAMPAIO, G. R.; CASTELLUCCI, C. M. N.; OKANI, E. T.; TORRES, E. A. F. S. Avaliação da peroxidação lipídica em cinco espécies populares de pescados. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 17., 2000, Fortaleza. **Resumos...**p.5133-5133, 2000.

MACGIN, A. P. Rocking the boat: conserving fisheries and protecting jobs. **Word Watch Paper**. Washington D.C. World Watch Institute, 1998. 192p.

MADSEN, L.; RUSTAN, A. C.; VAAGENES, H.; BERGE, K.; DYROY, E.; BERGE, R. K. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid affect mitochondrial and peroxisomal fatty acid oxidation in relation to substrate preference. **Lipids**, Champaign, v.34, p.951-963, 1999.

MANCINI-FILHO, J.; VAN-KOIJ, A.; MANCINI, D.A.P.; COZZOLINO, F.F.; TORRES, R.P. Antioxidant activity of cinnamon (*Cinnamomum Zeylanicum*, Breyne) extracts. **Bollettino Chimico Farmaceutico**, Milano, v.137, n.11, p.443-447, 1998.

MARTINO, R.; TAKAHASHI, N. S. A impotência da adição de lipídeos em rações para a aqüicultura. **Óleos e grãos**, Sao Caetano do Sul, n.58, p.32-37, 2001.

MEDINA, I.; GONZÁLEZ, M.J.; PAZOS, M.; MEDAGLIA, D.D.; SACCHI, R.; GALLARDO, J.M. Activity of plant extracts for preserving functional food containing *n*-3-PUFA. **European Food Research and Technology**, Berlin, v.217, n.4, p.301-307, 2003.

MEHLENBACHER, V. C. **The Analysis of Fats and Oils**. Urbana: The Garrad Press, 1960. 616p.

MIRANDA, M.S.; SATO, S.; MANCINI-FILHO, J. Antioxidant activity of the microalga *Chlorella vulgaris* cultured on special conditions. **Bollettino Chimico Farmaceutico**, Milano, v.140, n.3, p.165-168, 2001.

MIELCHE, M. M.; BERTELSEN, G. Approaches to the prevention of warmed-over flavour. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 5, p. 322-327, 1994.

MONCADA, S.; VANE, J.R. Unstable metabolites of arachidonic acid and their role in haemostasis and thrombosis. **British Medical Bulletin**, London, v.34, p.129-135, 1978.

MONSEN, E.R. NIH launching major research program on fish oil and health. **Food Chemical News**, Washington, v.6, p.34-39, 1985.

MOONEY, B.D.; NICHOLS, P.D.; ELLIOT, N.G. **Seafood the Good Food II. Oil profiles for further Australian seafoods, and influencing factors**. Australia: Fisheries R&D Corporation (CSIRO), 2002. 126p.

MORRISSEY, P. A.; SHEEHY, P. J.; GALVIN, K.; KERRY, J. P.; BUCKLEY, D. J. Lipid stability in meat and meat products. **Meat Science**, Barking, v. 49, n. 1, p.73-86, 1998.

MUELLER, B. A.; TALBERT, R. L. Biological mechanisms and cardiovascular effects of omega-3 fatty acids. **Clinical Pharmacology**, Nova York v. 7, n. 11, p. 795-807, 1988.

NAIR, V.; TURNER, G. The thiobarbituric acid test for lipid peroxidation: Structure of the adduct with malondialdehyde. **Lipids**, Berlin, v.19, n.10, p. 804-805, 1984.

NAKATANI, N. Natural antioxidants from spices. In: HO, C.T.; LEE, C.Y.; HUANG, M.T. **Phenolic compounds in food and their effects on health. II. Antioxidants e cancer prevention**. Washington, DC: American Chemical Society, 1992. p.72-86.

NAKATANI, N. Antioxidants from spices and herbs. In: SHAHIDI, F. **Natural antioxidants: chemistry, health effects and applications**. Cicago:The American Oil Chemist's Society, 1997. p.64-75.

NAMIKI, M. Antioxidants/antimutagens in food. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.29, n.4, p.273-300, 1990.

NAWAR, W.W. Lipids. In: FENNEMA, O.R. **Food Chemistry**. 2nd ed. New York : Marcel Dekker, 1985. p.139-244.

NAWAR, W.W. Lipids. In: FENNEMA, O.R. **Food chemistry**, New York: Marcel Dekker, 1996. p.225-320.

NEES, A. R.; POWLES, J. W. Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: a review. **International Journal of Epidemiology**, London, v.26, p.1-13, 1997.

OETTERER, M. **Matéria-prima alimentar: pescado**. São Caetano do Sul: Centro de Pesquisas do Instituto Mauá de Tecnologia, 1991. 29p.

OGAWA, M.; MAIA, E.L. **Manual de Pesca: ciência e tecnologia do pescado**. São Paulo: Varela, 1999. v.1 430p.

OSAWA, C. C.; FELICIO, P. E.; GONCALVES, L. A. G. TBA test applied to meats and their products: traditional, modified and alternative methods. **Química Nova**, São Paulo, v.28, n.4, p.655-663, 2005.

PAPAS, A.M. Diet and antioxidants status. **Food and Chemical Toxicology**, London, v.37, p.999-1007, 1999.

PASTORIZA, L.; SAMPEDRO, G.; HERRERA, J.J. Effects of mincing and frozen storage on functional properties of ray muscle (*Rahe clavata*). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.66, p.35-44, 1994.

PEREIRA, A. A. F.; TENUTA, A. F. Evaluation of conditions of consumption of the sardine *Sardinella brasiliensis*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.4, p.720-725, 2005.

PIEIDADE, K. R.; NEVES, M. F.; SANTOS, M. J. M. Caracterização da Rede Produtiva do Camarão de Água Doce no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ECONOMIA E SOCIOLOGIA RURAL, EQUIDADE E EFICIÊNCIA NA AGRICULTURA BRASILEIRA, 2002. Passo Fundo. **Anais...**, Passo Fundo UPF, 2002. p.170.

PIEIDADE, K.R.; RACANICCI, A.M.C.; PINO, L.M ; PINO, A.P.M. ; REGITANO-D'ARCE, M. A.B. Atividade antioxidante de orégano (*Origanum vulgare*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*) sobre a estabilidade oxidativa de sardinha. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL TENDÊNCIA E INOVAÇÕES EM TECNOLOGIA DE ÓLEOS E GORDURAS, 2., 2005, Florianópolis. **Proceedings...** Florianópolis/SC: Sociedade Brasileira de Óleos e Gorduras e UFSC, 2005. 1 CD-Rom.

PYZH, M.V.; GRATSIANSKII, N.A.; DOBROVOL'SKII, A.B. The effect of long-term use of a diet enriched with omega-3 polyunsaturated fatty acids on the fatty acid composition, fibrinolytic system indices and lipid spectrum of the blood in patients with ischemic heart disease. **Kardiologiia**, Ministerstvo Zdravoohraneniya, Moskva, v. 33, n.10, p. 46-50, 1993.

PRATT, D.E. Natural antioxidants from plant material. In: HUANG, M.T., HO, C.T., LEE, C.Y. **Phenolic compounds in food and their effects on health. II. Antioxidants and Cancer Prevention**. Washington: American Chemical Society, 1992. 402p.

PROCON PBH (Pref.de Belo Horizonte): Cartilha Novas Tecnologias disponível em <http://www.consumidorbrasil.com.br/consumidorbrasil/textos/dicasconsumo/alimentosfuncionais.htm> acesso em: 19 mar. 2007.

RACANICCI, A. M. C. **O efeito do uso do óleo de vísceras de aves oxidado no desempenho de frangos de corte e na estabilidade oxidativa da carne da sobrecoxa**. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004. 92p.

RACANICCI, A.M.C.; DANIELSEN, B. ; MENTEN, J.M. ; D'ARCE, M.A.B.R ; SKIBSTED, L.H. Antioxidant effect of dittany (*Origanum dictamnus*) in pre-cooked chicken meat balls during chill-storage in comparison to rosemary (*Rosmarinus officinalis*). **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 218, p. 521-524, 2004.

RAHARJO, S.; SOFOS, J.N.; SCHMIDT, G. R. Solid-phase acid-extraction improves thiobarbituric acid method to determine lipid oxidation. **Journal of Food Science**, Chicago, v.58, n.4, p.921-924, 1993.

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

ROBARDS, K.; KERR, A. F.; PATSALIDES, E. Rancidity and its Measurement in Edible Oils and Snack Foods-A Review, **Analyst**, London, v.113, n.2, p.213-224, 1988.

ROBEY, W. Preventing the negative effects of nutrient oxidation on animal nutrition and performance. **Nutrition Updates**, St. Charles, v.4, n.2, p.1-10, 1994.
RUIZ-CAPILLAS, C.; MORAL, A. Free amino acids in hake stored bulk and packed in a combined system of atmospheres. **Journal of Food Science**, Chicago, v.68, n.1, p.110, 2003.

SANT'ANA, L. S. Efeito do armazenamento na composição em ácidos graxos de filés de peixes da espécie pacu (*Piaractus mesopotamicus*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 17. 2000, Fortaleza.
Resumos...Fortaleza, 2000. v.4. p.5272

SANT'ANA, L.S.; MANCINI-FILHO, J. Ação antioxidante de extratos de alecrim (*Rosemary officinalis* L.) em filés de peixes da espécie pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg). **Revista Brasileira de PI Médica**, Botucatu, v. 2, n. 1, p. 27-31, 1999.

SANT'ANA, L.S.; MANCINI-FILHO, J. Influence of addition of antioxidants *in vivo* on the fatty acid composition of fish fillets. **Food Chemistry**, Barking, v.68, p.175-178, 2000.

SALEM, N. Jr. Introduction to polyunsaturated fatty acids. **Backgrounder**, New Jersey, v.3, n.1, p.1-8, 1999.

SARANTOPÓULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; CANAVESI, E. **Requisitos de conservação de alimentos em embalagens flexíveis**. Campinas: CETEA/ITAL, v.1, 2001. 213p.

SERDAROGLU, M.; FELEKOGLU, E. Effects of using rosemary extract and onion juice on oxidative stability of sardine (*Sardina pilchardus*) mince. **Journal of Food Quality**, Westport, v.28, n.2, p.109-120, 2005.

SHAHIDI, F. Lípidos y proteínas funcionales del pescado In: Mazza, G. **Alimentos funcionales**: aspectos bioquímicos y de procesos. Zaragoza: Editora Acribia, 2000. p. 379-400.

SHAHIDI, F.; JANITHA, P.K.; WANASUNDARA, P.D. Phenolic antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.32, n.1, p.67-103, 1992.

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

SHAHIDI, F.; WANASUNDARA, U. N.; AMAROWICZ, R. Natural antioxidants from low-pungency mustard flour. **Food Research International**, Toronto, v.27, p.489-493, 1994.

SILLIKER, J.H.; WOLFE, S.K. Microbiological Safety Considerations in Controlled-Atmosphere Storage of Meats. **Food Technology**, Oxford, v.34, p.59-63, 1980.

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

SILVA, S.M.C.S. **Efeito do processamento sobre ácidos graxos poliinsaturados da fração lipídica de duas espécies de peixes**. 1992. 136p. Dissertação de (Mestrado em Faculdade de Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1992.

SIMIC, M.G.; JAVANOVIC, S.V. Inactivation of oxygen radicals by dietary phenolic compounds in anticarcinogenesis. In: HO, C.T., OSAWA, T., HUANG, T.M., ROSEN, R.T. (Ed.). **Food phytochemicals for cancer prevention**. Washington: American Chemical Society, 1994. p.20-33.

SIMEONIDOU, S.; GOVARIS, A.; VARELTZIS, K. Quality assessment of seven Mediterranean fish species during storage on ice. **Food Research International**, Toronto, v.30, n.7, p. 479-484, 1998.

SIMOPOULOS, A. P. Ômega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. **American Journal of Clinical Nutrition**, Philadelphia, v. 54, n.3, p. 438-463, 1991.

SIMOPOULOS, A. P. Symposium: role of poultry products in enriching the human diet with N-3 PUFA: human requirement for N-3 polyunsaturated fatty acids. **Poultry Science**, Ithaca, v.79, p.961-970, 2000.

SIMOPOULOS, A.P.; LEAF, A.; SALEM, N., JR. Workshop of the essentiality of and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. **Food Australia**, Australia, v.51, p.332-333, 1999.

SINNHUBER, R.O.; YU, T. C. 2-Thiobarbituric acid method for measurement of rancidity in fishery products. II. The quantitative determination of malonaldehyde. **Food Technology**, Chicago, v.12, p.9-12, 1958.

SOCCOL, M.C.H.; OETTERER, M. Seafood as Functional Food. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.46, n.3, p.443-454, 2003.

SOCCOL, M. C. H.; OETTERER, M.; GALLO, C. R.; SPOTO, M. H. F.; BIATO, D. O. Effects of Modified Atmosphere and Vacuum on the Shelf-Life of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fillets. **Brazilian journal of food technology**, Campinas, v.8, n.1, p.7-15, 2005.

SQUIRES, E. J.; VALDES, E. V.; WU, J.; LEESON, S. Utility of the thiobarbituric acid test in the determination of the quality of fats and oils in feeds. **Poultry Science**, Ithaca v.70, p.180-183, 1991.

ST-ANGELO, A. J. Lipid oxidation on foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.36, n.3, p.175–224, 1996.

STEINMETZ, K. A.; POTTER, J. D. Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review. **Journal of American Dietetic Association**, Chicago, v.96, n.10, p.1027-1039, 1996.
TARLADGIS, B. G.; WATTS, B. M.; YOUNATHAN, M. T. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v. 37, n. 1, p.44-48, 1960.

TOP 10 FUNCTIONAL FOOD TRENDS, 2006. Disponível em:
<http://www.ift.org/cms/?pid=1001414> , acesso em 22 jul. 2007.

TORRES, E. A. F. S.; OKANI, E.T. Teste de TBA: Ranço em alimentos. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, v.243, n.5, p.68-76, 1997.

TRINDADE, R. A.; SALUM, D. C.; ANDRADE-WARTHA, E. R. S.; SILVA, M.A.; AQUINO, S.; MANCINI-FILHO, J.; VILLAVICENCIO, A. L. C. H. Comparative analysis of antioxidant activity of aqueous extracts of oregano (*Origanum vulgare*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) by b-carotene/linoleic acid system. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.72, n.2, p.1-64, 2005.

VERMA, J.K.; SRIKAR, L.N.; SUDHAKARA, N.S.; SARMA, J. Effects of frozen storage on lipid freshness parameters and some functional properties of oil sardine (*Sardinella longiceps*) mince. **Food Research International**, Essex, v.28, n.1, p.87-90, 1995.

- VISENTAINER, J. V.; CARVALHO, P. O.; IKEGAKI, M.; PARK, Y.K. Concentração de ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosaheptaenóico (DHA) em peixes marinhos da costa brasileira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.20, n.1, p.90-93, 2000.
- XING, Y.; WHITE, P.J. Identification and function of antioxidants from oat groats and hulls. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v.74, n.3, p.303-307, 1997.
- YANAR, Y.; FENERCIOGLU, H. The utilization of carp (*Cyprinus carpio*) Flesh as Fish Ball. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, Turquia, v.23, p.361-365, 1999.
- YERLIKAYA, P.; GOKOGLU, N.; URAN, H. Quality changes of fish patties produced from anchovy during refrigerated storage. **European Food Research and Technology**, Berlin, v.220, n.3/4, p.287-291, 2005.
- YOUNATHAN, T.M.; OON, J.K.; YUSOF, R.B.M. Control of heat induced oxidative rancidity in refrigerated shark and mackerel. **Journal of Food Science**, Chicago, v.48, n.1, p.176-178, 1983.
- WADA, S.; FANG, X. The synergistic antioxidant effect of rosemary extract and α -tocopherol in sardine oil model system and frozen crushed fish meat. **Journal of Food Processing and Preservation**, Westport, v.16, p.263-274, 1992.
- WANASUNDARA, U.N.; SHAHIDI, F. Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extracts in marine oils. **Food Chemistry**, Oxford, v.63, n.3, p.335-342, 1998.
- WEAVER, B.J.; HOLOB, B.J. Health effects and metabolism of dietary eicosapentaenoic acid. **Progress in Food and Nutrition Science**, Oxford, v. 12, n.2, p. 111-150, 1988.
- WETTASINGHE M.; SHAHIDI, F. Antioxidant and free radical-scavenging properties of ethanolic extracts of defatted borage (*Borago officinalis* L.) seeds. **Food Chemistry**, Barking, v.67, n.4, p.399-414, 1999.
- WILLIAMSON, G.; FAULKNER, K.; PLUMB, G.W. Glucosinolates and phenolics as antioxidants from plant foods. **European Journal of Cancer Prevention**, Oxford, v.7, n.1, p.17-21, 1998.
- WÜRTZEN, G. Shortcomings of current strategy for toxicity testing of food chemicals: antioxidants. **Food Chemistry and Toxicology**, Oxford, v.28, n.11, p.743-745, 1990.
- ZHENG, W.; WANG, S. Antioxidant activity and phenolic composition in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, Chicago: v. 49, n. 11, p. 5165-5170, 2001.

2 ANTIOXIDANTES NATURAIS: NOVA TENDÊNCIA NA AGROINDÚSTRIA DE ALIMENTOS, NUTRIÇÃO E NAS PESQUISAS CIENTÍFICAS - UMA REVISÃO

Resumo

Mais de 95% do oxigênio consumido durante o metabolismo aeróbico é utilizado nas mitocôndrias para produção de energia; o restante acaba produzindo radicais livres, que são tóxicos, causando efeitos nocivos e capazes de lesar as estruturas dos sistemas biológicos, incluindo aí os sistemas alimentares. A deterioração oxidativa dos lipídeos é uma das reações mais importantes e indesejadas nos alimentos. Antioxidantes são usados na indústria de alimentos para retardar o processo de oxidação. A oxidação lipídica é um fator gerador de compostos indesejáveis. Recentemente o consumidor está mais exigente em relação à qualidade dos produtos que consome e a indústria de alimentos tenta se adaptar a essa demanda. Os antioxidantes naturais tem sido importante objeto de estudos. Essa revisão tem por objetivo trazer luz a esse campo tão importante da ciência dos alimentos, agroindústria e saúde e evidenciar a importância das substâncias antioxidantes naturais, utilizadas como conservantes alimentares, visando a redução da incidência da oxidação durante o processamento de alimentos ricos em óleos ou gorduras.

Palavras-chave: Antioxidantes; Antioxidantes naturais; Lipídeos

Abstract

More than 95% of the oxygen consumed during the aerobic metabolism is used in the mitochondrion for energy production; the remaining ending up producing free radicals. These compounds are toxic, harmful and may be deleterious to the structures of biological systems, including the foods. The oxidative lipid deterioration is the one of the most important undesirable reactions in foods. Antioxidants are used in the food industry to delay the oxidation process onset. Lipid oxidation is the cause of undesirable components production. Nowadays the consumer is more demanding in relation to the quality of the products that they consume and the food industry tries to cope with the market demand. Natural antioxidants have been important subject of studies today. This review has the objective to elucidate a little more on such important branch of the food science, agribusiness and health, aiming at the food preservation.

Keywords: Antioxidants; Natural Antioxidants; Lipids

2.1 Introdução

Os organismos vivos estão constantemente sujeitos à ação oxidativa do oxigênio, sendo que diversos estudos têm demonstrado que o consumo de substâncias antioxidantes na dieta pode oferecer uma ação protetora efetiva contra estes processos oxidativos que ocorrem no organismo. Os produtos alimentícios também se mostram susceptíveis à oxidação, gerando produtos finais prejudiciais e com características organolépticas indesejáveis, reduzindo com isso o tempo de conservação de diversos produtos.

Os antioxidantes e radicais livres interessam há décadas a pesquisadores e cientistas ligados às tecnologias de radiação, combustão, indústria da borracha e derivados, tintas e preservação de pinturas antigas, conservação de alimentos entre outros. Em cada uma dessas áreas o conceito de antioxidante varia conforme sua aplicação. A descoberta relativamente recente da importância de reações bioquímicas no organismo animal e nos alimentos envolvendo radicais livres despertou interesse da comunidade científica, inaugurando um novo campo de grande expansão que engloba atualmente a agroindústria de alimentos e bebidas.

Nos alimentos é sabido que a oxidação lipídica é a grande causadora de importantes danos. Ela é responsável pelo desenvolvimento de sabores e odores desagradáveis, denominadas de uma forma geral de ranço, tornando os alimentos impróprios para o consumo, além de provocar outras alterações que irão afetar não só a qualidade nutricional, devido à degradação de vitaminas lipossolúveis e de ácidos graxos essenciais, mas também a integridade e segurança dos alimentos. Esta alteração na qualidade é o principal parâmetro de controle físico-químico que define o prazo de validade de diversos produtos alimentícios processados.

Esses lipídeos são constituídos por tri, di e monoacilgliceróis, ácidos graxos livres, glicolipídeos, fosfolipídeos e outras substâncias. A maior parte destes constituintes é oxidável em diferentes graus. Com a finalidade de inibir ou retardar a oxidação lipídica de óleos, gorduras e alimentos gordurosos são empregados compostos de ação antioxidante.

Num passado não tão distante, os alimentos eram tidos somente como fontes de substâncias essenciais para o preenchimento dos requisitos nutricionais básicos. Hoje há uma percepção que eles oferecem muito mais e com ingredientes que tem funcionalidade. São exemplos os antioxidantes naturais que protegem o alimento e/ou o organismo de radicais livres e do oxigênio singlete agressivos às células. Geralmente são adicionados aos alimentos com a função de prevenir a oxidação.

Juntamente com a preferência do consumidor por produtos com apelo nutricional ou funcional percebe-se um aumento de interesse pelo uso e pesquisa de antioxidantes naturais. A indústria de alimentos está interessada no uso de antioxidantes naturais como várias especiarias e ervas e suas frações isoladas.

2.2 Revisão Bibliográfica

2.2.1 Histórico

O retardamento das reações oxidativas por certos compostos foi primeiramente registrado por Berthollet, em 1797, e depois esclarecido por Davy, em 1817. O trajeto da oxidação lipídica permaneceu desconhecido até Duclaux demonstrar que o oxigênio atmosférico era o maior agente causador de oxidação de ácidos graxos livres. Anos mais tarde, Tsujimoto descobriu que a oxidação de triglicerídios altamente insaturados poderia provocar odor de ranço em óleo de peixe. Wright, em 1852, observou que índios americanos preservavam gordura usando casca de omeiro. Esse produto foi patenteado como antioxidante 30 anos mais tarde. Moureu e Dufraise realizaram estudos clássicos dos produtos químicos que possuíam propriedades para prevenir a oxidação de gorduras em alimentos que levaram ao conhecimento atual. Durante a Primeira Guerra Mundial estes pesquisadores testaram a atividade antioxidante de mais de 500 compostos. Esta pesquisa desencadeou uma busca por aditivos químicos para controlar a oxidação. Das centenas de compostos que têm sido propostos para inibir a deterioração oxidativa, somente alguns podem ser usados em produtos para consumo humano (BAILEY, 1996).

Em meados dos anos 50 os radicais livres e os antioxidantes eram quase desconhecidos nas ciências clínicas e biológicas, mas os químicos já os conheciam no contexto da radiação, dos polímeros e da tecnologia de combustão. Em um artigo pioneiro em 1956, Gershman, Gilbert e seus colegas propuseram que a maioria dos efeitos danosos causados pelas concentrações elevadas de oxigênio nos organismos vivos podia ser atribuída à formação de radicais livres (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989). Entretanto, essa idéia não despertou interesse de muitos pesquisadores até a descoberta, em 1968, da enzima superóxido dismutase, que é específica para a remoção catalítica de um radical de oxigênio e portanto uma das principais defesas antioxidantes nos organismos superiores (MC CORD; FRIDOVICH, 1969; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989).

A partir do início dos anos 80, o interesse em encontrar antioxidantes naturais para o emprego em produtos alimentícios ou para uso farmacêutico, tem aumentado consideravelmente, com o intuito de substituir antioxidantes sintéticos, os quais têm sido restringidos devido ao seu potencial de carcinogênese bem como pela comprovação de outros males (YILDIRIM; MAVI; KARA, 2001; ZHENG; WANG, 2001; MELO; GUERRA, 2002; SIMÃO, 1985 apud DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ; SANTOS, 2004)

2.2.2 Antioxidantes

Radicais livres podem atacar biomoléculas, dentre as quais se destacam os lipídeos, as proteínas ou o DNA propriamente dito, que podem ser preservados pela ação dos antioxidantes (BRENNAN; PAGLIARINI, 2001; ZHENG; WANG, 2001).

Uma substância antioxidante pode ser definida como um composto ou substância química que inibe a oxidação, ou qualquer substância que, quando presente em baixa concentração comparada à do substrato oxidável, diminui ou inibe significativamente a oxidação do mesmo. Do ponto de vista biológico, pode-se definir antioxidantes como compostos que protegem os sistemas contra os efeitos potencialmente danosos de processos ou reações que promovem a oxidação de macromoléculas ou estruturas celulares (ABDALLA, 1993).

A atividade antioxidante de certos compostos e substâncias são principalmente devidas às suas propriedades de óxido-redução, as quais podem desempenhar um importante papel no seqüestro de radicais livres, reduzindo o oxigênio singlete, quelando metais de transição ou decompondo peróxidos (URITANI; GARCIA; MENDOZA, 1994 apud OSAWA, 1994; SCHWARZK; TERNES, 1992; ANTUNES; CANHOS, 1983; FENNEMA, 1993; SIMÃO, 1985).

Os antioxidantes, tanto sintéticos quanto naturais, são utilizados comumente em vários alimentos, especialmente nos que contêm óleos e gorduras. Atualmente, existe uma grande quantidade de compostos com propriedades antioxidantes, mas para o uso em alimentos, certos requisitos devem ser cumpridos, sendo um deles a segurança para a saúde (NAWAR, 1996).

Da mesma forma, o emprego de agentes antioxidantes visando a extensão do prazo de validade de produtos alimentícios é muito presente na área da tecnologia de alimentos. A Resolução número 04 de 24/11/88 relacionou pela primeira vez um total de 13 aditivos permitidos classificados como antioxidantes, possíveis de serem adicionados em aproximadamente 40 a 50 alimentos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1988).

Os antioxidantes estão presentes de forma natural ou intencional nos lipídeos e alimentos para retardar o aparecimento dos fenômenos de oxidação, mantendo intactas suas características sensoriais. Quando adicionados aos alimentos não devem causar efeitos fisiológicos negativos, produzir cores, odores nem sabores anômalos. Devem ser lipossolúveis, resistentes aos tratamentos a que seja submetido o alimento, ativos em baixas temperaturas e econômicos (ORDÓÑEZ et al., 2005)

2.2.3 Mecanismo de ação dos antioxidantes

Segundo Moreira e Mancini Filho (2004), os antioxidantes podem ser divididos em duas classes: com atividade enzimática e sem essa atividade. Na primeira, estão os compostos capazes de bloquear a iniciação da oxidação, ou seja, as enzimas que removem as espécies reativas ao oxigênio. Na segunda classe, estão as moléculas que interagem com as espécies radicalares e são consumidas durante a reação. Esta classificação inclui os antioxidantes naturais e sintéticos como os compostos fenólicos.

O sistema de defesa antioxidante do organismo compreende uma gama variada de substâncias que atuam em diferentes níveis. O sistema primário constitui uma primeira linha de defesa formada por substâncias que impedem a geração de espécies reativas ou que agem na neutralização das mesmas de forma a impedir sua interação com alvos celulares, bloqueando a etapa de iniciação da cadeia radicalar. Nesse grupo encontram-se as enzimas antioxidantes, quelantes e proteínas como a transferrina e a ceruloplasmina que transportam, respectivamente, ferro e cobre, impedindo que esses metais sejam liberados e catalisem a formação de espécies oxidantes e substâncias não-enzimáticas como o ascorbato, albumina e carotenóides que seqüestram radicais superóxido e hidroxila ou suprimem o oxigênio singlete, respectivamente. O sistema de defesa secundário é formado por compostos que atuam bloqueando a etapa de propagação da cadeia radicalar, seqüestrando radicais intermediários (ex. peroxila ou alcoxila). Esses antioxidantes geralmente são compostos fenólicos ou amins aromáticas, entre eles o α -tocoferol, flavonóides e vários antioxidantes sintéticos (ABDALLA, 1993).

As membranas das células e organelas contêm grandes quantidades de ácidos graxos poliinsaturados. A fluidez da membrana relaciona-se à presença de cadeias insaturadas dos fosfolipídeos e do colesterol e danos nesta camada lipídica tendem a diminuir a fluidez da membrana. A ação de algumas espécies reativas que abstraem um átomo de hidrogênio do grupo metileno das cadeias de ácidos graxos poliinsaturados, inicia o processo de peroxidação lipídica (GUTTERIDGE; HALLIWELL, 1994; HALLIWELL, 1987; 1997).

Os radicais de carbono formados dessa maneira podem reagir espontaneamente com o oxigênio, formando radicais peroxila que propagam a cadeia de peroxidação lipídica abstraindo átomos de hidrogênio para formar hidroperóxidos e novos radicais de carbono, levando à oxidação de muitas moléculas de ácidos graxos (JIAL; GRUNDY, 1992).

Através do uso de substâncias reativas ao oxigênio (ROS) em tecidos e HPLC, Tiidus et al. (1993) estudaram os efeitos da vitamina E na dieta e observaram que a peroxidação lipídica pode ser inibida por antioxidantes que interrompem a cadeia reagindo com os radicais peroxila ou alcoxila e, desta forma, gerando um hidroperóxido

e um radical livre formado a partir do antioxidante. Estes antioxidantes interagem com o oxigênio singlete e fornecem átomos de hidrogênio para o radical peroxila dos ácidos graxos, impedindo a reação em cadeia que se propaga nas membranas lipídicas.

Alguns nutrientes essenciais podem atacar diretamente os radicais de oxigênio. A vitamina E (α -tocoferol) é o antioxidante lipossolúvel mais importante presente em todas as membranas celulares e, portanto, atua na proteção contra a lipoperoxidação (KAY et al., 1986). Dos quatro isômeros dos tocoferóis conhecidos, o α -tocoferol é o mais importante biologicamente e os termos α -tocoferol e vitamina E são quase intercambiáveis na literatura (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989).

Os antioxidantes naturais funcionam como agentes redutores, como inibidores de radicais livres, como quelantes ou seqüestrantes do oxigênio singlete e como desativadores de metais pró-oxidantes (KÄHKÖNEN, et. al., 1999; RICE-EVANS et al., 1995).

Farmer et al. (1942) propuseram uma seqüência de reações interrelacionadas para explicar o processo de autoxidação dos lipídeos, que está associada à reação do oxigênio com ácidos graxos insaturados e ocorre em três etapas (iniciação, propagação e terminação).

No mecanismo de ação, onde ROO° e R° são os radicais livres; AH um antioxidante com um átomo de hidrogênio ativo e A° um radical inerte: $ROO^\circ + AH = ROOH + A^\circ$ ou ainda $O^\circ + AH = RH + O^\circ$, o átomo de hidrogênio ativo do antioxidante é abstraído pelos radicais livres R° e ROO° com maior facilidade que os hidrogênios alílicos das moléculas insaturadas. Assim formam-se espécies inativas para a reação em cadeia e um radical inerte (O°) procedente do antioxidante. Este radical, estabilizado por ressonância, não tem a capacidade de iniciar ou propagar as reações oxidativas (FRANKEL, 1980; 1984).

Os antioxidantes podem ser classificados em primários, sinergistas, removedores de oxigênio singlete, agentes quelantes e antioxidantes mistos (HUI, 1996).

Segundo Simic e Javanovic (1994), os antioxidantes primários são compostos fenólicos que promovem a remoção ou inativação dos radicais livres formados durante a iniciação ou propagação da reação, através da doação de átomos de hidrogênio a

estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia. Os antioxidantes principais e mais conhecidos deste grupo são os polifenóis, como butil hidroxi anisol (BHA), butil hidroxi tolueno (BHT), terc butil hidroquinona (TBHQ) e galato de propila (PG), que são sintéticos, e tocoferóis, que são naturais. Estes últimos também podem ser classificados como antioxidantes biológicos (NAMIKI, 1990).

Os sinergistas são substâncias com pouca ou nenhuma atividade antioxidante, que podem aumentar a atividade dos antioxidantes primários quando usados em combinação adequada. Alguns antioxidantes primários quando usados em combinação podem atuar sinergicamente (BAILEY; SWAIN, 1973; BAILEY, 1996).

Os removedores de oxigênio são compostos que atuam capturando o oxigênio presente no meio, através de reações químicas estáveis, tornando-o indisponível para atuar como propagador da autoxidação. O ácido ascórbico, seus isômeros e seus derivados são os melhores exemplos deste grupo, atuando também como sinergista na regeneração de antioxidantes primários (BELITZ ; GROSCH, 1988).

Segundo Bailey (1996) e Hui (1996) os antioxidantes biológicos incluem várias enzimas, como glucose oxidase, superóxido dismutase e catalases. Estas substâncias podem remover oxigênio ou compostos altamente reativos de um sistema alimentício. Os agentes quelantes/seqüestrantes complexam íons metálicos, principalmente cobre e ferro, que catalisam a oxidação lipídica. Um par de elétrons não compartilhado na sua estrutura molecular promove a ação de complexação. Os mais comuns são ácido cítrico e seus sais, fosfatos e sais de ácido etileno diaminotetracético (EDTA). Os antioxidantes mistos incluem compostos de plantas e animais que têm sido amplamente estudados como antioxidantes em alimentos. Entre eles estão várias proteínas hidrolisadas, flavonóides e derivados de ácido cinâmico.

Portanto para evitar a autoxidação há necessidade de diminuir a incidência de todos os fatores que a favorecem e que são responsáveis pelo desencadeamento do processo de formação desses radicais, evitando ao máximo o contato com oxigênio e bloqueando a formação de radicais livres por meio de antioxidantes, os quais, em pequenas quantidades, interferem nos processos de oxidação.

2.2.4 Antioxidantes sintéticos

Os principais antioxidantes sintéticos utilizados habitualmente nos alimentos são os fenóis com várias substituições no anel. A eficácia de um antioxidante está relacionada com muitos fatores, como a energia de ativação, as constantes de velocidade, o potencial de óxido-redução, a facilidade com a qual se pode destruir ou perder o antioxidante e a sua solubilidade. Os antioxidantes fenólicos são excelentes doadores de elétrons ou de hidrogênio e, além disso, seus radicais intermediários são relativamente estáveis devido à deslocação por ressonância e à falta de posições moleculares apropriadas para serem atacados pelo oxigênio molecular (GOMEZ, 2003).

BHA, BHT, PG e TBHQ são os antioxidantes sintéticos mais utilizados na indústria de alimentos (NAMIKI, 1990; NENADIS; ZAFIROPOULOU; TSIMIDOU, 2003). A estrutura fenólica destes compostos permite a doação de um próton a um radical livre, regenerando, assim, a molécula do acilglicerol e interrompendo o mecanismo de oxidação por radicais livres. Estes radicais podem se estabilizar sem promover ou propagar reações de oxidação (BUCK, 1981).

Os antioxidantes sintéticos como, o butil hidroxil anisol (BHA), o butil hidroxil tolueno (BHT), o terc butil hidroquinona (TBHQ) e o galato de propila (PG) são utilizados para reduzir a extensão da fase de propagação da reação de oxidação. Entretanto, apresentam o inconveniente de serem voláteis e facilmente decompostos em altas temperaturas com baixo 'carry-through'. Os riscos à saúde, associados com o consumo crônico dessas substâncias merecem atenção e continuam a ser estudados (MARTINEZ-TOME et al., 2001).

O fenômeno de sinergismo entre os antioxidantes sintéticos se produz quando uma mistura de antioxidantes tem uma atividade mais acentuada do que a atividade dos antioxidantes individuais. São conhecidos dois tipos de sinergismo, um deles que implica a ação de aceptores de radicais livres misturados e um outro que combina a ação de um acceptor de radical livre e um quelante de metais (NAWAR, 1996).

Estudos revelaram que os antioxidantes BHA e BHT poderiam apresentar certa toxicidade e eficiência mais baixa que alguns antioxidantes naturais. Junto a consciëntização dos consumidores para a qualidade e segurança dos aditivos nos

alimentos, surgiu a necessidade de se identificarem mais fontes naturais alternativas (WANASUNDARA; SHAHIDI, 1998).

Tendo em vista os indícios de problemas que podem ser provocados pelo consumo de antioxidantes sintéticos, mais pesquisas têm sido conduzidas no sentido de encontrar produtos antioxidantes, os quais permitirão substituir os sintéticos ou serem associados a eles a fim de diminuir a quantidade adicionada aos alimentos.

2.2.5 Antioxidantes Naturais

2.2.5.1 Evidências

Muitos estudos têm sido realizados na determinação de novas fontes de antioxidantes naturais e no isolamento de compostos de plantas tais como sementes, frutas, folhas e raízes (CHEVOLLEAU, et al., 1992, NAKATANI, 1992; PRATT, 1992; HETTIARACHCHY et al., 1996; RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996; NAKATANI, 1997; XING; WHITE, 1997; MANCINI-FILHO et al., 1998; WETTASINGHE; SHAHIDI, 1999; MILOS; MASTELIC; JERKOVIC, 2000; MIRANDA; SATO; MANCINI FILHO, 2001; ZHENG; WANG, 2001).

Para Wanasundara, Shahidi e Shukla (1997) muitos são os componentes naturalmente presentes nos alimentos que apresentam atividade antioxidante, incluindo flavonóides, precursores de lignanas, ácidos fenólicos, terpenos, tocoferóis e fosfolípidos, entre outros.

O efeito antioxidante de partes de plantas foi, inicialmente, evidenciado por CHIPAULT et al. (1952) que avaliaram a ação de 32 especiarias, das quais o alecrim e a sálvia foram consideradas as mais eficazes. Esta capacidade antioxidante tem sido constatada ao longo dos anos na soja e produtos de soja (PRATT; BIRAC, 1979), na canela (MANCINI et al., 1998), no espinafre e repolho (ISMAIL; MARJAN; FOONG, 2004), na maçã (LEJA; MARECZEK; BEN, 2003), no coentro (MELO; MANCINI FILHO; GUERRA, 2005), entre outros.

Muitos autores relataram que os extratos de várias sementes oleaginosas possuem propriedade antioxidante, as quais, em alguns casos exercem melhor efeito

que o observado pelos antioxidantes sintéticos nas mesmas concentrações (AMAROWICZ et al., 1993; OOMAH; KENASCHUK; MAZZA, 1995).

As propriedades antioxidantes de ervas e especiarias são indicadas como efetivas para retardar o processo de peroxidação lipídica em óleos e alimentos lipídicos e tem angariado o interesse de muitos grupos de pesquisa (MILOS; MASTELIC; JERKOVIC, 2000).

2.2.5.2 Plantas, ervas e especiarias

Moreira e Mancini Filho (2004) ressaltaram que as especiarias, cuja história se confunde com a da indústria alimentícia, podem atuar sobre alimentos potencialmente funcionais, prevenindo contra o processo oxidativo protegendo ou agindo como agentes terapêuticos para doenças de resposta inflamatória. Além da ação preventiva de substâncias fenólicas, presentes nas especiarias, sobre a oxidação lipídica em alimentos, os resultados obtidos sugerem, também, um provável efeito antiinflamatório destes compostos, devido à ação inibitória sobre enzimas da biossíntese dos eicosanóides.

Os temperos podem ser acrescentados nos alimentos de várias formas: inteiros, frescos ou como extratos isolados. O termo especiaria é definido como material seco da planta que normalmente é acrescentado ao alimento para melhorar o 'flavor' (MADSEN; BERTELSEN, 1995). Desde antigamente, especiarias e ervas têm sido usadas não somente para melhorar o sabor e odor e estender o tempo de prateleira dos alimentos, mas também pelas suas propriedades anti-sépticas e medicinais. O efeito de preservação das especiarias e ervas sugere a presença de constituintes antioxidantes e antimicrobianos (NAKATANI, 1997).

As matérias-primas *in natura* disponíveis como frutas, vegetais em geral e condimentos contém numerosos fitoquímicos além dos compostos fenólicos como, por exemplo, carotenóides, ácido ascórbico e tocoferóis. Muitos destes fitoquímicos apresentam significativa capacidade antioxidante e sua ingestão está associada à baixa incidência de câncer e baixa mortalidade em seres humanos (ZHENG; WANG, 2001; YILDIRIM; MAVI; KARA, 2001; WATANABE, 1998).

Os compostos que proporcionam estabilidade oxidativa têm sido identificados em especiarias como o alecrim, orégano, sálvia, tomilho, cravo-da-índia e diversas outras ervas e especiarias. Tais compostos que apresentam propriedade antioxidante são, principalmente, os compostos fenólicos (MADSEN; BERTELSEN, 1995; MADSEN et al., 1996).

Segundo Moroney et al. (1988), os compostos fenólicos são antioxidantes primários que agem como seqüestradores de radicais livres e bloqueadores de reações em cadeia. Eles estão largamente distribuídos na natureza e são derivados dos ácidos benzóicos e cinâmico, bem como de flavonóides.

Shahidi, Janitha e Wanasundara (1992) demonstraram que o efeito antioxidante de plantas aromáticas é devido à presença de grupos hidroxila dos seus compostos fenólicos. Tem sido estabelecido que os efeitos antioxidantes sejam principalmente por causa dos compostos fenólicos (MADSEN; BERTELSEN, 1995; SCHWARZK; TERNES, 1992; SCHWARZK et al., 2001).

Os compostos fenólicos exibem grande quantidade de propriedades fisiológicas como antialergênica, antiarteriogênica, antiinflamatória, antimicrobiana, antitrombótica, cardioprotetora e vasodilatadora, mas o principal efeito dos compostos fenólicos têm sido atribuído à sua ação antioxidante em alimentos (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006).

De acordo com um banco de dados fotoquímico, o número de diferentes substâncias antioxidantes em algumas plantas pode alcançar a casa dos 40 (42 na soja, 36 nos chás, 35 no funcho, 34 no orégano, 32 na cebola, 32 no tomilho, entre outros). Neste banco de dados, o conteúdo mais alto de antioxidantes é encontrado em nozes, goiaba e coco, dentre outras plantas menos conhecidas (USDA, 2003).

Tsimidou e Boskou (1994) concluíram que entre as plantas extensivamente estudadas da família Lamiaceae e Labiaceae, muitas possuem atividade antioxidante significativa. As famílias Labiatae, Umbelliferae e Zingiberaceae contêm compostos fenólicos e sulfurosos que possuem efeitos antioxidantes e podem inibir reações dos radicais de carnes e peixes fritos. (CRAIG, 1999; GIBIS; SCHOH; FISCHER, 1999). A espécie *Allium* é um bom exemplo.

Dentre as ervas da família Labiatae, o alecrim é o mais extensivamente estudado e seus extratos são os mais conhecidos dentre os antioxidantes naturais. O orégano, também da família Labiatae, tem ganhado o interesse de muitos grupos de pesquisa como um potente antioxidante para sistemas lipídicos. O orégano desidratado assim como extratos obtidos usando solventes de diferentes polaridades (hexano, diclorometano, metanol) tem sido aplicado como retardadores da oxidação lipídica em sistemas modelo (TSIMIDOU; PAPAVERGOU; BOSKOU, 1995; CHIPAULT; MIZUNO; LUNDBERG, 1956). Para Nakatani (1997), os ácidos fenólicos carboxílicos são muito comuns nessa família, apresentando o orégano os ácidos protocatequínico e caféico.

Os autores têm estudado especiarias como alecrim, sálvia, cravo, canela, tomilho, gengibre, noz-moscada, dentre outras, para determinação da atividade antioxidante e identificação dos compostos responsáveis pela atividade mencionada (MILOS; MASTELIC; JERKOVIC, 2000; MADSEN et al., 1996)

Lagouri e Boskou (1996) e Milos, Mastelic e Jerkovic (2000) trabalharam com orégano (*Origanum vulgare*) para detectar a presença de antioxidantes e a sua atividade. Já Frankel et al. (1996) estudaram o alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e a sua propriedade antioxidante. Segundo Pratt (1992), a atividade antioxidante do alecrim depende principalmente da concentração dos ácidos carnósico e rosmarínico, sendo este último derivado do ácido caféico. No orégano, as agliconas também foram associadas à prevenção da oxidação (MILOS; MASTELIC; JERKOVIC, 2000).

Os compostos fenólicos mais importantes identificados em amostras de alecrim e sálvia são o ácido rosmarínico, ácido carnósico, carnosol, carnosato de metila, rosmanol, epirosmanol e rosmadiol (SCHWARZK; TERNES, 1992; RICCHEIMER et al., 1996).

O carnosol, o ácido carnósico, o rosmanol, o rosmaridifenol, o rosmadiol, a rosmariquinona e vários ésteres etílicos e metílicos dessas substâncias estão presentes no alecrim e na sálvia e os derivados de ácidos fenólicos, tocoferóis, ácido rosmarínico e carvacrol estão presentes no orégano (PIZZALE et al., 2002). O ácido clorogênico é um composto fenólico encontrado na semente do girassol, com propriedades antioxidantes (CLIFFORD, 1999).

2.2.5.3 Tocoferóis e Compostos Fenólicos

Os tocoferóis estão presentes de forma natural na maioria dos óleos vegetais. Existem quatro tipos: α , β , γ , e δ tocoferol, sendo o α -tocoferol o mais abundante nos alimentos e o de maior atividade biológica como vitamina E (KAMAL; APPELQVIST, 1996).

Entre os antioxidantes naturais, os tocoferóis lipossolúveis têm sido amplamente estudados por serem os melhores antioxidantes para a inibição da oxidação dos óleos e gorduras. A atividade antioxidante dos tocoferóis é principalmente devida à capacidade de doar seus hidrogênios fenólicos aos radicais livres lipídicos interrompendo a propagação em cadeia. Contudo, tem sido notado, que a atividade dos tocoferóis *in vitro* depende também de muitas outras possíveis reações paralelas que são drasticamente afetadas por suas concentrações (JUNG; MIN, 1990), pela temperatura e luz, pelo tipo de substrato e por outras espécies químicas atuando como pró-oxidante e sinergista no sistema (KOCHHAR, 2000; ROMERO, 2004).

Os tocoferóis estão presentes de forma natural na maioria dos óleos vegetais, em alguns tipos de pescado e atualmente são fabricados por síntese. A legislação brasileira permite a adição de 300 mg.kg^{-1} de tocoferóis em óleos e gorduras, como aditivos intencionais, com função antioxidante (ABIA - Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação, 1999).

O α -tocoferol pode atuar como antioxidante ou pró-oxidante dependendo do sistema testado, da concentração, do tempo de oxidação e do método usado para acompanhar a oxidação. A concentração usual para a estabilidade oxidativa de óleo de soja é entre 400 e 600 mg.Kg^{-1} de tocoferol (FRANKEL, 1996).

O reino vegetal é rico em compostos fenólicos, os quais são encontrados em especiarias e folhas de plantas aromáticas de regiões quentes e secas (ECONOMOU; OREOPOULOU; THOMOPOULOS, 1991).

Os compostos fenólicos de plantas podem reter ou retardar o início da oxidação lipídica, influenciando tanto na decomposição de hidroperóxidos nos alimentos, como também, em tecidos animais (WETTASINGHE; SHAHIDI, 1999).

Durán e Padilla (1993) enumeraram diversos autores que verificaram o potencial antioxidante dos ácidos fenólicos com o objetivo de substituir os antioxidantes sintéticos em alimentos. Segundo Ferguson e Harris (1999), os ácidos fenólicos caracterizam-se pela presença de um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, que conferem propriedades antioxidantes.

Os fenólicos podem inibir tanto a lipoxigenase como a cicloxigenase. Isto justifica pesquisas que avaliam o efeito inibitório de substâncias fenólicas sobre enzimas da biossíntese dos eicosanóides. Dada a importância antioxidante dos compostos fenólicos para estudos *in vitro* e *in vivo*, e devido à implicação destas substâncias na inibição de enzimas de substâncias de resposta inflamatória, questionam-se como estas substâncias fenólicas, presentes em alimentos normalmente consumidos (especiarias), atuam no metabolismo de ácidos graxos como, por exemplo, os das séries *n-3* e *n-6* (MOREIRA; MANCINI, 2004).

Shahidi, Janitha e Wanasundara (1992) descreveram os antioxidantes fenólicos como seqüestrantes de radicais e, algumas vezes, como quelantes de metais, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. São divididos em ácidos benzóicos, ácidos cinâmicos e cumarinas que são derivadas do ácido cinâmico.

Os compostos fenólicos de fontes vegetais podem ser divididos em dois grupos: os flavonóides e os não flavonóides, sendo que ambos são metabólitos secundários presentes em frutas e vegetais. (BURNS et al., 2001).

Em estudos cinéticos mais recentes, utilizando-se triacilgliceróis e metil ésteres de óleo de girassol, verificou-se que os ácidos fenólicos participaram mais efetivamente na fase de iniciação da oxidação e os ácidos ferúlico, caféico e sinápico atuaram nas reações de propagação (YANISHLIEVA et al., 1999; MARINOVA; YANISHLIEVA, 1997).

Em investigações de ácidos fenólicos presentes em grãos de soja, quatro ácidos apresentaram atividade significativa quando aplicados em óleo de soja: ácidos clorogênico, caféico, *p*-cumárico e ferúlico, tendo este último a maior atividade antioxidante (NAGEN; ALBUQUERQUE; MIRANDA, 1992).

2.2.5.4 Antioxidantes naturais em alimentos processados

Embora se saiba que diferentes plantas possuem diferentes eficiências nos vários tipos de alimentos (CHIPAULT et al., 1952), o alecrim tem sido, freqüentemente, a primeira opção para alimentos processados (NISSEN et al., 2000). Uma alternativa interessante ao alecrim parece ser o orégano, em especial para aplicação em alimentos como antioxidante solúvel em água e tem sido demonstrado em um grande número de experimentos (MOLLER et al, 1999).

Tanabe, Yoshida e Tomita (2002) observaram que dentre as ervas da família Labiatae estudadas, a oxidação lipídica em carne de porco foi inibida pelos extratos de sálvia, alecrim, tomilho, segurelha, orégano e manjerição, nessa ordem. Os efeitos antioxidantes observados dos extratos das ervas da família Labiatae, especialmente da sálvia, alecrim, tomilho e segurelha foram menores que os extratos das ervas da família Umbelliferae, da salsa e do coentro.

Lagouri et al. (1993) estudaram a atividade antioxidante de óleos essenciais, e verificaram que o óleo essencial de orégano, rico em timol e carvacrol, tem efeito antioxidante considerável no processo de oxidação de óleos e gorduras animais.

Dietas administradas com óleo de alecrim ou sálvia reduziram o teor das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico na carne de porco (MONAHAN et al., 1992) e de frango (LOPEZ-BOTE et al., 1998).

Um extrato líquido desodorizado de alecrim mostrou boa atividade antioxidante em carne de porco. Foi demonstrado o efeito da adição de extrato de alecrim em bolas de carne, embutidos de frango e gordura suína, retardando a oxidação de frações lipídicas e o aparecimento de sabor de ranço nesses produtos (LEE et al., 1997; KPRINSKA; BOOROWSKI; DANOWSKA-OZIEWICZ, 2000; ARUOMA et al., 1996).

Racanicci et al. (2004) demonstraram que o orégano e alecrim desidratados tiveram ação antioxidantes em almôndegas de peito de frango cozidas e armazenadas sob refrigeração. Na concentração de 0,050%, o alecrim foi a erva mais eficiente.

A atividade antioxidante de folhas secas de orégano e alecrim foi avaliada em almôndegas pré-cozidas de filés de sardinha armazenadas sob refrigeração durante seis dias em embalagens de polietileno. O orégano foi mais eficiente na proteção das

almôndegas contra oxidação lipídica do que o alecrim adicionado na mesma concentração (PIEADADE et al., 2005).

A capacidade antioxidante de certos compostos tem fundamentado diversos estudos aplicados à ação antioxidante em produtos cárneos (RACANICCI et al., 2004; PIEADADE et al., 2005; BARRETO, 1996; SOARES, 1998; LEAL, 2000) e na proteção contra danos oxidativos de emulsões, aumentando a vida de prateleira (EMPSON; LABUZA; GRAF, 1991).

2.2.5.5 Extratos

Tanabe, Yoshida e Tomita (2002) estudaram extratos de sálvia, alecrim, tomilho, segurelha, orégano, manjeriço, salsa e coentro. Os efeitos antioxidantes da sálvia, alecrim, tomilho e segurelha foram menores que os da salsa e do coentro.

Os extratos das folhas de alecrim contêm um diterpeno fenólico, o carnosol. Além disso, o rosmanol, outro diterpeno fenólico, cuja estrutura está intimamente relacionada ao carnosol e o rosmaridifenol, foi também identificado nas folhas de alecrim (HOULIHAN; HO; CHANG, 1984). Os ácidos carnósico e rosmárico foram indicados como sendo os constituintes de maior atividade antioxidante do alecrim. Os extratos de antioxidantes comerciais (via destilação molecular ou a vácuo) do alecrim estão disponíveis como um pó fino. Dependendo da quantidade de atividade dos antioxidantes, eles são recomendados para o uso nas concentrações entre 200 e 1000 mg.kg⁻¹ do produto processado (SHAHIDI; JANITHA; WANASUNDARA, 1992).

O carnosol e ácido carnósico possuem atividade seqüestrante de radicais peroxila e hidroxila, já que inibem a formação de radicais e metais quelatos, enquanto o ácido carnósico seqüestra o peróxido de hidrogênio (ARUOMA et al., 1992).

Em estudos recentes Yanishlieva et al. (1999) examinaram a atividade antioxidante de extratos de orégano cultivados na Bulgária assim como o mecanismo de ação do timol e carvacrol puros. Segundo Tsimidou, Papavergou e Boskou (1995), extratos de orégano obtidos por solventes de diferentes polaridades têm sido testados como retardadores da oxidação lipídica em produtos alimentícios. Madsen et al. (1996) demonstraram que a atividade antioxidante do orégano é devida à variedade dos

componentes, incluindo compostos fenólicos solúveis em sistemas aquosos e lipídicos, e eles encontraram boa relação entre atividade antioxidante e quantidade total de fenólicos, detectados espectrofotometricamente, em extratos da especiaria.

As folhas secas do orégano foram sucessivamente extraídas com diclorometano e metanol e seus compostos antioxidantes foram isolados, sendo o principal composto identificado como um glicosídeo fenólico (KIKUZAKI; NAKATANI, 1989; VEKIARI et al., 1993). O carvacrol e timol foram isolados de óleo essencial de orégano e seus efeitos antioxidantes têm sido relatados por vários pesquisadores (DEIGHTON et al., 1993). Os trabalhos com orégano e seus vários extratos concentram-se principalmente nos compostos não polares. Muito pouco se sabe sobre a fração não polar extraída por hexano que é antioxidante (LAGOURI; BOSKOU, 1996). Kikuzaki e Nakatani (1989) isolaram cinco diferentes tipos de compostos de extrato metanólico de folhas de orégano (*Origanum vulgare*). Todos os cinco mostraram atividade antioxidante.

Extratos etanólicos de alecrim e orégano adicionados a óleo de soja armazenado ao ambiente e sob condições aceleradas de oxidação demonstraram atividades antioxidantes comparáveis às dos antioxidantes sintéticos. Apesar de não atingirem a eficiência do TBHQ, os extratos naturais foram tão efetivos quanto a mistura BHA + BHT (DORIA; REGITANO-D'ARCE, 2000).

De testes realizados para determinar o grau de inibição da oxidação nos diferentes extratos (alcoólico e aquoso) de especiarias foi verificado que o extrato aquoso foi o que apresentou maior atividade antioxidante, 73,78% para o orégano e 82,22% para o alecrim. Constatou-se também, o efeito sinérgico quando utilizado o antioxidante sintético junto com os extratos dos antioxidantes naturais (GOMEZ, 2003).

2.2.5.6 Métodos de extração e avaliação da capacidade antioxidante

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

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

Algumas etapas preliminares devem ser realizadas para facilitar o processo de extração e conservar os compostos antioxidantes, que são sensíveis à ação da luz, oxigênio e calor. As partes de plantas normalmente são desidratadas, liofilizadas ou congeladas, e ainda peneiradas ou moídas antes do processo de extração.

Segundo Schwarz et al. (2001), o procedimento de extração é determinado pelos tipos de compostos antioxidantes que podem ser extraídos. A escolha e seleção de um procedimento de extração procuram aumentar a concentração do componente antioxidante de determinada planta. Para polifenóis e outros antioxidantes de materiais de origem vegetal três técnicas principais de extração simples podem ser usadas: extração com solventes, extração de fase sólida e extração supercrítica. Pode-se completar o processo de extração com o uso da secagem, congelamento ou liofilização.

A extração líquida sob pressão foi recentemente usada para a extração de compostos fenólicos. Esta técnica emprega altas temperatura e pressão para acelerar a extração. Resultados muito interessantes foram obtidos no estudo de atividade antioxidante de sálvia no qual a extração com água quente e pressão foi tido como o procedimento de extração mais efetivo, seguido por maceração com 70% de etanol, hidrodestilação, uso de ultrassom e extração com metanol (OLLANKETO et al., 2000).

Os extratos obtidos usando solventes orgânicos podem ser concentrados com o uso da destilação molecular. Os óleos essenciais presentes em extratos de especiarias são responsáveis pelo aroma característico e podem ser obtidos por destilação a vapor em pressão atmosférica normal ou a vácuo, mas a atividade antioxidante pode ser parcialmente perdida (POKORNY; YANISLIEVA; GORDOM, 2001).

Na extração com ultrassom é frequentemente usado solvente líquido e materiais de plantas. A extração também pode ser executada por Soxhlet, combinando filtração, imersão e outras técnicas. Várias técnicas de extração com solventes foram

patenteadas usando polaridades diferentes, como éter de petróleo, tolueno, acetona, etanol, metanol, acetato, e água (SCHWARZ et al., 2001).

A extração por infusão é uma técnica simples e muito usada. Wettasinghe e Shahidi (1999) efetuaram a extração de compostos de chás por infusão, na qual um sachê de cada tipo de chá foi adicionado em um volume de água destilada fervente de 250mL. O tempo da infusão foi de 3, 5 e 10 minutos e os teores de fenólicos totais dos extratos foram determinados utilizando o reagente Folin-Ciocalteu, tendo a catequina como padrão.

Roesler (2007) para avaliar a atividade antioxidante de frutas do cerrado realizou uma extração aquosa e uma etanólica dos compostos das frutas analisadas, que foram separadas em sementes, polpas e cascas. O extrato aquoso foi preparado com água destilada na proporção de 1:3 (fruta:água). O material foi filtrado em tecido fino e o resíduo foi reextraído com água nas mesmas condições. O material filtrado, bem como o material retido no filtro, foi liofilizado a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $13,3\text{ Pa}$ para as análises. Já para o extrato etanólico, as frutas também separadas foram tratadas com solução aquosa de etanol (5:95, v.v⁻¹, água:etanol) na proporção de 1:3 (fruta: solução de etanol). O material foi filtrado em tecido fino e o resíduo foi reextraído e armazenado nas mesmas condições. Com exceção do extrato aquoso de casca de pequi, a extração etanólica foi a mais eficiente para remoção dos compostos fenólicos.

As técnicas cromatográficas analíticas têm permitido identificar os compostos antioxidantes, não somente nas especiarias tradicionais, como também em ervas aromáticas, entre elas o alecrim e o orégano. Estes compostos são de natureza fenólica, o que explica essa atividade. Destes compostos, talvez o maior interesse seja o ácido rosmarínico, muito mais potente que o BHA e o BHT. São comercializados os extratos de alecrim, dispersíveis em óleo, em água ou como agentes sinérgicos para serem combinados com o tocoferol (DE LA TORRE; LÓPEZ, 1997).

Para a determinação da atividade antioxidante existem muitos métodos que são agrupados de diferentes formas, e alguns são utilizados tanto em alimentos como em sistemas biológicos, e às vezes isso dificulta a expressão dos resultados (SÁNCHEZ-MORENO; LARRAURI, 1998). Certas considerações são necessárias considerando a aplicabilidade dos métodos de sistemas biológicos e a interpretação dos dados torna-se

essencial, já que a complexidade de sistemas biológicos e alimentares pode contradizer a validade dos sistemas analíticos existentes (NAMIKI, 1990).

Na seleção de antioxidantes, são desejáveis as seguintes propriedades: eficácia em baixas concentrações (0,001 a 0,1%); ausência de efeitos indesejáveis na cor, no odor, no sabor e em outras características do alimento; compatibilidade com o alimento e fácil aplicação; estabilidade nas condições de processo e armazenamento e os compostos e produtos de oxidação não podem ser tóxicos, mesmo em doses muito maiores das que normalmente seriam ingeridas no alimento (HUI, 1996). Na escolha de um antioxidante deve-se considerar também outros fatores, incluindo legislação, custo e preferência do consumidor (RAFECAS et al., 1998).

A atividade de um antioxidante pode ser estimada quantitativamente determinando produtos primários e secundários da oxidação de lipídeos ou monitorando outras variáveis como os estudos de condições de oxidação acelerada ou testes de sistemas modelos (SHAHIDI; JANITHA; WANANSUDARA 1992).

Os métodos para avaliar o comportamento dos antioxidantes podem ser divididos entre os que medem a sua atividade em alimentos e os que avaliam a bioatividade em humanos. No caso de sistemas alimentares a necessidade é testar a eficiência do antioxidante na proteção do alimento contra os danos oxidativos. Uma subcategoria envolve a mensuração da atividade em alimentos, particularmente frutas, vegetais e bebidas, mas destinada à dietética (HOLLMAN; ARTS, 2000). No caso da avaliação da capacidade antioxidante de ervas e especiarias para sistemas lipídicos, os testes acelerados ainda são de grande valia, já que tornam possível a comparação do desempenho de diferentes concentrações e extratos (POKORNY; YANISLIEVA; GORDOM, 2001).

Os produtos mais freqüentemente medidos são os hidroperóxidos e os dienos conjugados, compostos primários da oxidação, e substâncias voláteis secundárias (MOURE et al., 2001). A maioria dos métodos químicos se baseia na capacidade de seqüestro de radicais livres, mas também a capacidade quelante é responsável pela atividade antioxidante em sistemas lipídicos (CHEN; RATNAYAKE; CUNNANE, 1994). O malonaldeído (MDA) é um aldeído de cadeia curta, sendo um dos compostos medidos pela reação com o ácido tiobarbitúrico. A formação de malonaldeído ocorre

pela decomposição dos hidroperóxidos lipídicos e sua concentração tem sido utilizada para estimar a intensidade da peroxidação lipídica em sistemas biológicos, em células e tecidos (BONNES; GUÉRIN, 1992).

A metodologia usada para a avaliação do grau de eficácia de sistemas antioxidantes é basicamente a mesma que se utiliza para a determinação da estabilidade oxidativa de sistemas lipídicos. Esta resulta da aplicação de técnicas analíticas muito diversas (ex.: cromatografia, espectrofotometria, condutimetria, polarografia), da adoção de diferentes condições de ensaio e da medida de diferentes indicadores de oxidação.

É importante ressaltar que a escolha do método para extração e de análise dos compostos fenólicos é fundamental em uma pesquisa e que ainda faltam estudos para o aprimoramento desses processos e análises assim como dos parâmetros envolvidos como, por exemplo, a razão solvente:massa, o tempo de extração, o número de reextrações, as técnicas analíticas, dentre outros.

2.2.5.7 Tendência de mercado

Segundo Namiki (1990), a aplicação de antioxidantes sintéticos como inibidores da oxidação lipídica é bem conhecida na indústria de alimentos. Os antioxidantes mais conhecidos deste grupo são os polifenóis, como butil hidroxi anisol, butil hidroxi tolueno, terc-butil hidroquinona e galato de propila. Esses antioxidantes artificiais são efetivos nesse propósito, mas, por outro lado, existem muitos estudos que afirmam que o uso pode trazer certos prejuízos à saúde (NAMIKI, 1990; POKORNY, 1991).

As propriedades antioxidantes de muitas ervas e temperos são relatadas como eficientes na retardação do processo de peroxidação lipídica em óleos e alimentos gordurosos. Lagouri et al. (1993) relataram um grande número de estudos sobre a atividade antioxidante de plantas aromáticas durante os últimos 20 anos. A capacidade antioxidante de alguns desses compostos tem sido atestada como equivalente e algumas vezes até maior que a de antioxidantes sintéticos (NAMIKI, 1990; POKORNY, 1991).

Madsen e Bertelsen (1995) identificaram que certas especiarias e extratos de especiarias contêm componentes com atividade antioxidante. Tal atividade se confirma na aplicação destes componentes em diferentes preparações culinárias para intensificar as características organolépticas, aumentar a aceitabilidade e principalmente, melhorar a estabilidade oxidativa.

Por essa razão, há um crescente interesse por estudos com aditivos naturais, ervas e especiarias pelas indústrias e grupos científicos devido as suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas vindas de várias substâncias, incluindo algumas vitaminas, flavonóides, terpenóides, carotenóides, fitoestrógenos, minerais e outros (CALUCCI et al., 2003). Foram demonstrados em experimentos com alimentos, diferentes resultados com vários extratos de plantas, contribuindo para o endosso que atualmente testes baseados em plantas oxidantes devem ser feitos com produtos alimentícios (SCHWARZ et al, 2001).

Tsaliki, Lagouri e Doxastakis (1999) recomendaram a substituição dos antioxidantes sintéticos pelo uso preferencial de ingredientes naturais que naturalmente possuem atividade antioxidante no processamento de alimentos. O uso de temperos e ervas é importante na indústria de alimentos na proteção de alguns produtos como óleos e gorduras comestíveis prevenindo a oxidação dos ácidos graxos insaturados e retardando o desenvolvimento de sabores e odores desagradáveis (ANDERSEN; LAURIDSEN; SKIBSTED, 2003; BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995).

As ervas e especiarias melhoram o sabor do alimento e seus compostos antioxidantes retardam a degradação oxidativa de lipídeos, além de desempenhar um importante papel na prevenção de doenças (ACHINEWHU; OGBONNA; HART, 1995; TSALIKI; LAGOURI; DOXASTAKIS, 1999; NAKATANI, 2000).

Na agroindústria, os antioxidantes naturais podem se originar de um ou mais compostos endógenos do próprio alimento, de substâncias formadas de reações durante o processamento ou de aditivos isolados de fontes exógenas (PRATT, 1992).

Racanicci et al. (2004) compararam a adição de folhas secas de orégano (*Origanum dictamnus*) com as do alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) como antioxidante em bolinhos de carne de frango pré-cozidos, durante armazenamento refrigerado. A adição dessas duas ervas se mostrou eficiente na preservação da oxidação.

Piedade et al. (2005) determinaram a atividade antioxidante de folhas de orégano e alecrim desidratadas, moídas e adicionadas a filés de sardinhas frescas triturados com 0,5% de sal para a confecção de almôndegas armazenadas sob refrigeração à temperatura média de 4 graus Celsius durante 6 dias. Pode-se observar que os ácidos graxos insaturados de cadeia longa foram mais preservados nas amostras que continham orégano, seguido pelas amostras que continham alecrim.

Regitano-d'Arce et al. (2006) relataram a capacidade antioxidante de folhas secas de coentro e salsa em almôndegas de carne de frango armazenadas sob refrigeração. As duas ervas se mostraram eficientes.

Doria e Regitano-d'Arce (2000) estudaram a ação antioxidante de extratos etanólicos de alecrim e orégano em óleo de soja. Os extratos foram comparados com os antioxidantes sintéticos TBHQ e BHA+BHT. Os resultados de atividade antioxidante do teste usando sistema modelo diferiram das respostas do teste acelerado em estufa. Nos ensaios em estufa os valores de peróxido e absorvidade em 232nm dos óleos de soja foram menores do que os dos óleos adicionados dos extratos de orégano (1000 mg.Kg⁻¹), de alecrim (500 mg.Kg⁻¹) ou da mistura deles. Todos os tratamentos retardaram a oxidação do óleo, entretanto os extratos naturais não atingiram a eficiência do TBHQ, mas foram tão efetivos quanto a mistura BHA+BHT.

Uma outra maneira de melhorar a estabilidade de produtos priorizando o processamento é através do aumento da concentração de antioxidante natural em tecidos animais através do incremento de seu teor suplementação da dieta (GATLIN; BAI; ERICSON, 1992; RACANICCI et al., 2007). Portanto pesquisadores se concentraram na oferta na dieta de vitamina C, vitamina E e carotenóides (MALLET et al. 1994), assim como nos extratos de plantas que contêm antioxidantes naturais flavonóides (QINYUN et al.,1992), fenóis e ácidos fenólicos (FINGER; KUHR; ENGELHARDT,1992)

2.3 Considerações finais e conclusão

Há forte tendência de substituição dos antioxidantes sintéticos por antioxidantes naturais, visto que as pesquisas têm demonstrado a possibilidade dos sintéticos apresentarem algum efeito tóxico.

Apesar de ser uma área altamente estudada nos dias de hoje ainda é necessário que se realizem maiores investigações e ensaios biológicos mais abrangentes, para que outras conclusões possam ser tiradas a respeito da atuação dos compostos fenólicos de ervas e especiarias sobre o metabolismo lipídico e para assegurar o efeito das mesmas como alimentos funcionais.

Verifica-se que as pesquisas envolvendo agentes antioxidantes em espécies vegetais devem continuar, pois as mesmas mostram sua importância para a indústria alimentícia no sentido de obter aditivos livres de características indesejáveis, observadas nos atuais antioxidantes empregados.

Referências

ABDALLA, D.S.P. Antioxidantes: conceitos básicos e perspectivas terapêuticas. **ARS Curandi**, São Paulo, v.26, p.141-164, 1993.

ACHINEWHU, S.C.; OGBONNA, C.C.; HART, A.D. Chemical composition of indigenous wild herbs, spices, fruits, nuts and leafy vegetables used as food. **Plant Foods for Human Nutrition**, London, v.48, p.341-348, 1995.

ANDERSEN, M.L.; LAURIDSEN, R.K.; SKIBSTED, L.H. IN: JOHNSON, I.; WILLIANSON, G. **Optimizing the use of phenolic compounds in foods**. Cambridge: Cambridge University Press, 2003. p. 315-346.

ANTUNES, A. J.; CANHOS, V. **Aditivos em alimentos**. São Paulo: Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia, 1983. 178p.

AMAROWICZ, R.; WANASUNDARA, U.; WANASUNDARA, J.; SHAHIDI, F. Antioxidant activity of ethanolic extracts of flaxseed in a α -carotenelinoleate model system. **Journal of Food Lipids**, Trumbull, v.1, p.111-117, 1993.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DA ALIMENTAÇÃO. Compêndio da Legislação de Alimentos: **Consolidação das Normas e Padrões de Alimentos** 7. ed. São Paulo: Abia, 1999. v.1

ARUOMA, O.I.; HALLIWELL, B.; AESCHBACH, R.; LOLIGERS, J. Antioxidant and pro-oxidant properties of active rosemary constituents. Carnosol and carnosic acid. **Xenobiotica**, London, v.22, p.257-268, 1992.

ARUOMA, O.I.; SPENCER, J.P.; ROSSI, R.; AESCHBACH, R.; KHAN, A.; MAHMOOD, N.; MUNOZ, A.; MURCIA, A.; BULTER, J.; HALLIWELL, B. An evaluation of antioxidant and antiviral action of extracts of rosemary and provençal herbs. **Food and Chemical Toxicology**, London, v.34, n.5, p.449-456, 1996.

BAILEY, A. E.; In: Hui, Y.H. **Bailey's industrial oil and fat products, edible oil and fat products**: Products and application technology. 5th ed. New York: Jonh Wiley,1996. v.3. 600p.

BAILEY, M.E.; SWAIN, J.W. Influence of nitrite on meat flavor. In: MEAT INDUSTRY RESEARCH CONFERENCE, 1973. Chicago. **Anais...** Chicago: American Meat Institute Foundation, 1973. p. 29.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, London, v. 99, n. 1, p. 191-203, 2006.

BARRETO, A.C.S. **Efeito da adição de antioxidantes naturais na oxidação lipídica e cor de carne de frango e derivado**. 1996. 74p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 1996.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W. **Química de los Alimentos**. Acribia: Zaragoza, 1988. 1134p.

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

BRENNA, O.V.; PAGLIARINI, E. Multivariate analyses of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. Chicago, v.49, n.10, p. 4841-4844, 2001.

BONNES, T.; GUÉRIN, T. Is malonaldeyde a valuable of peroxidation? **Biochemical Pharmacology**, Oxford, v.44, n.5, p.985-988, 1992.

BUCK, D. F. Antioxidants in soya oil. **Journal of the American Oil Chemits' Society**, Chicago, v.58, p.275-278, 1981.

BURNS, J.; GARDNER, P.T.; MATTHEWS, D.; DUTHIE, G.G.; LEAN, M. E. J.; CROZIER, A. Extraction of phenolics and changes in antioxidant activity of red wines during vinification. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.49, n.12, p. 5797-5808, 2001.

CALUCCI, L.; PINZONO, C.; ZANDOMENEGHI, M.; CAPOCCHI, A. Effects of gamma-irradiation on the free radical and antioxidant contents in nine aromatic herbs and spices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.51, p.927–934, 2003.

CHEN, Z.Y.; RATNAYAKE, W.M.N.; CUNNANE, S.C. Oxidative stability of flaxseed lipids during baking. **The Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v.71, n.6, p.629-632, 1994.

CHEVOLLEAU, S.; MALLET, J.F.; UCCIANI, E.; GAMISANS, J.; GRUBER, M. Antioxidant activity in leaves of some mediterranean plants. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 69, n.12, p. 1269-1271, 1992.

CHIPAULT, J.R.; MIZUNO, G.R.; HAWKINS, J.M.; LUNDBERG, W.O. The antioxidant properties of natural spices, **Food Reviews International**, New York, v.17, p.46-55, 1952.

CHIPAULT, J.R.; MIZUNO, G.R.; LUNDBERG, W.O. The antioxidant properties of spices in foods. **Food Technology**, Champaign, v.10, n.5, p.209-211, 1956.

CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids and other cinnamates nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.79, p.363-372, 1999.

CRAIG, W.J. Health promoting properties of common herbs. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.70, n.3, p.491-499, 1999.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N.; SANTOS, R.J. Atividade antioxidante de extrato de fruto de aroeira (*Shinus terebenthifoliud Raddi*). In: ENCONTRO DE QUALIDADE DOS ALIMENTOS E MEIO AMBIENTE, 2., 2004, Rio Grande **Anais...**Rio Grande: FURG, 2004. v.1, p. 1-4.

DE LA TORRE, M.C.; LOPES, E. T. El papel de los antioxidantes: En la tecnología de los alimentos. En la biodegradación oxidativa del organismo. **Alimentaria: Revista de tecnología e higiene de los alimentos**, Madrid, v.97, p.19-27, 1997.

DEIGHTON, N.; GRIDWELL, S. M.; DEANS, S. J.; GROODMAN, B. A. Identification by EPR spectroscopy of carvacrol and thymol as the major sources of free radicals in the oxidation of plant essential oils. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.63, p.221-225, 1993.

DORIA, R.F.A.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B. Antioxidant activity of rosemary and oregano ethanol extracts in soybean oil under thermal oxidation. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n.2, p.197-203, 2000.

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

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

EMPSON, K.L.; LABUZA, T.P.; GRAF, E. Phytic acid as a food antioxidant. **Journal of Food Science**, v.56, n.2, p.560-563, 1991.

FARMER, E. H.; BLOOMFIELD, G. F.; SUNDARALINGAM, A.; SUTTON, D. A. The course and mechanism of autoxidation reactions in olefinic and polyolefinic substances, including rubber. **Transactions of the Faraday Society**, London, v. 38, p. 348-356, 1942.

FENNEMA, O.R. **Química de los alimentos**. 2 ed. Zaragoza: Acribia, 1993, 1095p.

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

FRANKEL, E.N. Lipid oxidation. **Progress in Lipid Research**, Oxford, v.19, n.1/2, p.1-22, 1980.

FRANKEL, E.N. Lipid oxidation: mechanisms, products and biological significance. The **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v.61, n.12, p.1908-1915, 1984.

FRANKEL, E. N. Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality, **Food Chemistry**, Barking, v.57, 51-55, 1996.

FRANKEL, E.N. ; HUANG, S.W.; AESCHBACH, R. ; PRIOR, E. Antioxidant activity of a rosemary extract and its constituents, carnosic acid, carnosol and rosmarinic acid in bulk oil and oil-in-water emulsion. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.44, p.131-135, 1996.

GIBIS, M.; SCHOH, A.; FISCHER, A. The effect of spices on the reduction of the formation of mutagenic/carcinogenic heterocyclic amines in beef patties. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 45., 1999. Yokohama. **Proceedings...** Yokohama, 1999. p.716-717.

GOMEZ, M.E.D.B. **Modulação da composição de ácidos graxos polinsaturados ômega 3 de ovos e tecidos de galinhas poedeiras, através da dieta.I. Estabilidade oxidativa.** 2003. 129p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2003.

GUTTERIDGE, J.M.C., HALLIWELL, B. **Antioxidants in nutrition, health, and disease.** New York: Oxford University Press, 1994. p.63-81.

HALLIWELL, B. Oxidants and human disease: some new concepts. **Federation of American Societies for Experimental Biology Journal**, Bethesda, 1987, v.1, n.5, p. 358-364.

HALLIWELL, B. Antioxidants and human disease: a general introduction. **Nutrition Reviews**, New York, v.55, n.1/2, p.44-52, 1997.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free radicals in biology and medicine.** Oxford: Clarendon Press, 1989. 543 p.

HETTIARACHCHY, N.S.; GLENN, K.C.; GNANASAMBANDAM, R.; JOHNSON, M.G. Natural antioxidant extract from fenugreek (*Trigonella foenumgraecum*) for ground beef patties. **Journal of Food Science**, Chicago, v.61, n.3, p.516-519, 1996.

HOLLMAN, P.C.H.; ARTS, I.C.W. Flavonoids, flavones and flavanols - nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.80, p.1081-1093, 2000.

HOULIHAN, C.M.; HO, C.T.; CHANG, S.S. Elucidation of the chemical structure of novel antioxidant, rosmaridiphenol, isolated from rosemary. **Journal of American Oil Chemists' Society**, Champaign, v.61, n.6, p.1036-1039, 1984.

HUI, Y.H. **Bailey's industrial oil and fat products, edible oil and fat products: Products and application technology.** 5th ed. New York: John Wiley, 1996. v.3.

ISMAIL, A.; MARJAN; Z. M.; FOONG, C. W. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. **Food Chemistry**, Barking, v. 87, n. 4, p. 581-586, 2004.

JIAL I.; GRUNDY, S.D. Influence of antioxidant vitamins on LDL oxidation. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v.669, n.30, p.239-248, 1992.

JUNG, M. Y.; MIN, D. B. Effects of α , γ , e δ tocopherols on oxidative stability of soybean oil. **Journal Food Science**, Chicago, v.55, p.1464-1465, 1990.

KÄHKÖNEN, M.P.; HOPIA, A.I.; VUORELA, H.J.; RAUHA, J.-P.; PIHLAJA, K., KUJALA, T.S.; HEINONEN, M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **Journal Agricultural of Food and Chemistry**, Columbus, v.47, n.10, p.3954-3962, 1999.

- KAMAL, E. A.; APPELQVIST, L. A. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. **Lipids**, Berlin, v.31, n.7, p.671-701, 1996.
- KIKUZAKI, H.; NAKATANI, N. Structure of a new antioxidative phenolic acid from oregano (*Oreganum vulgare L.*). **Agriculture and Biological Chemistry**, Tokyo, v.53, p.519-524, 1989.
- KOCHHAR, S. P. Stabilization of frying oils with natural antioxidative components. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v.102, p.552-559, 2000.
- KPRINSKA, M.; BOOROWSKI, J.; DANOWSKA-OZIEWICZ, M. Antioxidative activity of rosemary extract in lipid fraction of minced meatballs during storage in a freezer. **Die Nahrung**, Weinheim, v.44, n.1, p.38-41, 2000.
- LAGOURI, V.; BOSKOU, D. Nutrient antioxidants in oregano. **International Journal of Food Science and Nutrition**, Birmingham, v.47, p.493-497, 1996.
- LAGOURI, V.; BLEKAS, G.; TSIMIDOU, M.; KOKKINI, S.; BOSKOU, D. Composition and antioxidant activity of essential oil from oregano plants grown in Greece, **Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und Forschung**, Berlin, v.197, n.1, p.20-23, 1993.
- LEAL, E.S. **Extração, obtenção e caracterização parcial de ácido fítico do germe grosso de milho e aplicação como antioxidante**. 2000. 86p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2000.
- LEE, T.G.; WILLIAMS, S.K.; SLOAN, D.; LITTELL, R. Development and evaluation of a chicken breakfast sausage manufactured with mechanically deboned chicken meat. **Poultry Science**, Ithaca, v.76, n.2, p.415-421, 1997.
- LEJA, M.; MARECZEK, A.; BEN, J. Antioxidant properties of two apple cultivars during long-term storage. **Food Chemistry**, Barking, v. 80, p. 303-307, 2003.
- LOPEZ-BOTE, C.J.; SANZ ARIAS, R.; REY, A.I.; CASTAÑO, A.; ISABEL, B.; THOS, J. Effect of free-range feeding on *n*-3 fatty acid and α -tocopherol content and oxidative stability of eggs. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.72, p.33-40, 1998.
- MADSEN, H.L.; BERTELSEN, G. Spices as antioxidants. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v.6, n.8, p.271-277, 1995.
- MADSEN, H.L.; NIELSEN, B.R.; BERTELSEN, G.; SKIBSTED, L.H. Screening of antioxidative activity of spices. A comparison between assays based on ESR spin trapping and electrochemical measurement of oxygen consumption. **Food Chemistry**, Barking, v.57, n.2, p.331-337, 1996.

MCCORD, J.M.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.244, n.22, p. 6049-6055, 1969.

MANCINI-FILHO, J., VAN-KOIJ, A., MANCINI, D.A.P., COZZOLINO, F.F., TORRES, R.P. Antioxidant activity of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*, Breyne) extracts. **Bollettino Chimico Farmaceutico**, Milano, v.137, n.11, p.443-447, 1998.

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

MARTINEZ-TOME, M.; JIMENEZ, A.M.; RUGGIERI, S.; FREGA, N.; STRABBIOLI, R.; MURCIA, M. Antioxidant properties of Mediterranean spices compared with common food additives. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 64, n. 9, p.1412-1419, 2001.

MELO, E. A; MANCINI FILHO, J.; GUERRA, N. B. Characterization of antioxidant compounds in aqueous coriander extract (*Coriandrum sativum* L.). **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, London, v.38, n.1, p. 15-19, 2005.

MELO, E.A.; GUERRA, N.B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos, **Boletim SBCTA**, Campinas: v.36, n. 1, p. 1-11, 2002.

MILOS, M.; MASTELIC, J.; JERKOVIC, I. Chemical composition and antioxidant effect of glycosidically bound volatile compounds from oregano (*Origanum vulgare* L. *hirtum*). **Food Chemistry**, Barking, v.71, p.79-83, 2000.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Resolução, nº 04 de 24 de novembro de 1988**. Aditivos Intencionais. Brasília: Ministério da Saúde, 1988.

MIRANDA, M.S.; SATO, S.; MANCINI-FILHO, J. Antioxidant activity of the microalga *Chlorella vulgaris* cultured on special conditions. **Bollettino Chimico Farmaceutico**, Milano, v.140, n.3, p.165-168, 2001.

MOLLER, J.K.S.; MADSEN, H.L.; AALTONEN, T.; SKIBSTED, L.H. Dittany (*Origanum dictamnus*) as a source of water-extractable antioxidants. **Food Chemistry**, Barking, v.64, p.215-219, 1999.

MONAHAN, F.J.; GRAY, J.I.; BOOREN, A.M.; MILLER, E.R.; BUCKLEY, D.J.; MORRISSEY, P.A.; GOMMA, E.A. Influence of dietary treatment on cholesterol oxidation in pork. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.40, p.1301-1315, 1992.

MOREIRA, A.V.B.; MANCINI-FILHO, J. Influence of spices phenolic compounds on lipoperoxidation and lipid profile of rats tissues. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.17, n,4, p.411-424, 2004.

MORONEY, M. A.; ALCARAZ, M. J.; FORDER, R.A.; CAREY, F.; HOULT, R. S. Selectivity of neutrophil 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase inhibition by anti-inflammatory flavanoid glycoside and related aglycone flavonoids. **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, Arlington, v.40, p.787-92, 1988.

MOURE, A.; CRUZ, J.M.; FRANCO, D.; DOMÍNGUEZ, J.M.; SINEIRO, J.; DOMÍNGUEZ, H.; NÚÑEZ, M.J.; PARAJÓ, J.C. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, Barking, v.72, p.145-171, 2001.

NAGEN, T.J.; ALBUQUERQUE, T.T.O.; MIRANDA, L.C.G. Ácidos fenólicos em cultivares de soja: ação antioxidante. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v.35, n.1, p.129-138, 1992.

NAKATANI, N. Natural antioxidants from spices. In: HO, C.T.; LEE, C.Y.; HUANG, M.T. Phenolic compounds in food and their effects on health. II. Antioxidants e cancer prevention, **American Chemical Society**, Washington, DC, v.2, n.507, p.72-86, 1992.

NAKATANI, N. Antioxidants from spices and herbs. In: SHAHIDI, F. **Natural antioxidants: chemistry, health effects and applications**. Champaign: The American Oil Chemist's Society, 1997. p.64-75.

NAKATANI, N. Phenolic antioxidants from herbs and spices. **Biofactors**, Ozaka, v.13, n.1/4, p.141-146, 2000.

NAMIKI, M. Antioxidants/antimutagens in food. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.29, n.4, p.273-300, 1990.

NAWAR, W.W. Lipids. In: FENNEMA, O.R. **Food chemistry**, New York: Marcel Dekker, 1996. p.225-320.

NENADIS, N; ZAFIROPOULOU, I; TSIMIDOU, M. Commonly used food antioxidants: a comparative study in dispersed systems. **Food Chemistry**, Barking, v.82, 403-407, 2003.

NISSEN, L.R.; MANSSON, L.; BERTELSEN, G.; HUYNH-BA, T.; SKIBSTED, L.H. J. Protection of dehydrated chicken meat by natural antioxidants as evaluated by electron spin resonance spectrometry, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.48, n.11, p.5548-5556, 2000.

OLLANKETO, M.; PELTOKETO, A.; HARTONEN, K.; HILTUNEN, R.; RIEKKOLA, M.L. Extraction of sage by pressurized hot and conventional methods: antioxidant activity of the extracts. **European Food Research and Technology**, Berlin, v.215, p.158-163, 2000.

- OOMAH, B.D.; KENASCHUK, E.O.; MAZZA, G. Phenolic acids in flaxseed. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.43 n.8, p.2016-2019, 1995.
- ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnología de alimentos: componentes dos alimentos e processos**. Porto Alegre: Editora Artmed, 2005. 294p.
- OSAWA, T. Novel natural antioxidants for utilization in food and biological systems. In URITANI, I.; GARCIA, V.V.; MENDOZA, E.M. Postharvest biochemistry of plant food materials in the tropics, **Japan Scientific Societies Press**, Tokyo, v.2, n.2, p.241-251, 1994.
- PIEADADE, K.R.; RACANICCI, A.M.C.; PINO, L.M.; PINO, A.P.M.; REGITANO-D'ARCE, M. A.B. Atividade antioxidante de orégano (*Origanum vulgare*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*) sobre a estabilidade oxidativa de sardinha. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL TENDÊNCIA E INOVAÇÕES EM TECNOLOGIA DE ÓLEOS E GORDURAS, 2., 2005, Florianópolis. **Proceedings...** Florianópolis/SC: Sociedade Brasileira de Óleos e Gorduras e UFSC, 2005. 1 CD-Rom.
- PIZZALE, L.; BORTOLOMEAZZI, R.; VICHI, S.; CONTE, L.S. Antioxidant activity of sage and oregano extracts related to their phenolic compound content. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.82, p.1645-1651, 2002.
- POKORNY, J. Natural antioxidant for food use. **Trends in Food Science Technology**, Cambridge, v.9, p. 223-227, 1991.
- POKORNY, J.; YANISLIEVA, N.; GORDOM, M. **Antioxidants in food practical applications**. Boca Raton: CRC Press, 2001. 380p.
- PRATT, D.E. Natural antioxidants from plant material. In: HUANG, M.T.; HO, C.T.; LEE, C.Y. **Phenolic compounds in food and their effects on health. II. Antioxidants and Cancer Prevention**. Washington: American Chemical Society, 1992. 402p.
- PRATT, D. E.; BIRAC, P. M. Source of antioxidant activity of soybeans and soy products. **Journal of Food and Science**, Chicago, v. 44, p. 1720-1722, 1979.
- RACANICCI A.M.C.; DANIELSEN B.; MENTEN J.F.M.; REGITANO-D'ARCE M.A.B.; SKIBSTED L.K. Antioxidant effect of dittany (*Origanum dictamnus*) in pre-cooked chicken meat balls during chill-storage in comparison to rosemary (*Rosmarinus officinalis*). **European Food Research and Technology**, Berlin, v.218, p.521-524, 2004.
- RACANICCI, A.M.C.; PIEADADE, K.R.; PINO, L.M.; BUISSA, R.S.; MENTEN, J.F.M.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B.; ALENCAR, S.M. Atividade antioxidante de ervas, condimentos e vitamina E suplementados na dieta de frangos de corte. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL TENDÊNCIA E INOVAÇÕES EM TECNOLOGIA DE ÓLEOS E GORDURAS, 2., 2007 Florianópolis. **Anais...** Florianópolis/SC. 1 CDROM.

- RAFECAS, M.; GUARDIOLA, F.; ILLERA, M.; CODONY, R.; BOATELLA, J. Liquid chromatographic determination of phenolic antioxidants in bakery products. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v.822, n.2, p.305-309, 1998.
- REGITANO-D'ARCE, M.A.B.R.; PINO, A.P.M.; MENTEN, J.F.M.; RACANICCI, A.M.C.; PINO, L.M.; PIEDADE, K.R. Antioxidative capacity of coriander and parsley leaves in pre-cooked chicken breast meat balls stored under refrigeration.. In: EURO FED LIPID CONFERENCE, 4., 2006, Madrid. **Proceedings...** Frankfurt ,2006. v. 4. p. 378-378.
- REHMAN, Z.; HABIB, F.; SHAH, W. H. Utilization of potato peels extract as a natural antioxidant in soy bean oil. **Food Chemistry**, London, v. 85, n. 2, p. 215-220, 2004.
- RICCHEIMER, S.L.; BERNART, M.W.; KING, G.A.; KENT, M.C.; BAILEY, D.T. Antioxidant activity of lipid-soluble phenolic diterpenes from rosemary. **Journal of American Oil Chemists' Society**, Champaign, v.73, p.507-514, 1996.
- RICE-EVANS, C.; MILLER, N.; PAGANGA, G. Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.
- RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; BOLWELL, P.G.; BRAMLEY, P.M.; PRIDHAM, J.B. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. **Free Radical Research**, London, v.22, n.4, p.375- 383, 1995.
- ROESLER, R.; MALTA, L.G.; CARRASCO, L.C.; HOLANDA, R.B.; SOUSA, C.A.S.; PASTORE, G.M. Antioxidant activity of cerrado fruits. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p.53-60, 2007.
- ROMERO, N. ; ROBERT, P.; MASSON, L.; ORTIZ, J.; PAVEZ, J.; GARRIDO, C.; FOSTER, M.; DOBARGANES, C. Effect of α -tocopherol and α -tocotrienol on the performance of Chilean hazelnut oil (*Gevuina avellana* Mol) at high temperature. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.84, n.9, p.943-948, 2004.
- SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J.A.; Main methods used in lipid oxidation determination. **Food Science and Technology International**, London, v.4, n.6, p.391-399, 1998.
- SCHWARZ, K.; TERNES, W. Antioxidative constituents of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis*. II. Isolation of carnosic acid and formation of other phenolic diterpenes. **Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung**, Alemanha, v.195, n.2, p.99-103, 1992.
- SCHWARZ, K.; BERTELSEN, G.; NISSEN, L.R.; GARDNER, P.T.; HEINONEN M.I.; HOPIA A.; HUYNH-BA T.; LAMBELET P.; MACPHAIL, D.; SKIBSTED, L.H.; TIJBURG, L. Investigation of plant extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation. **European Food Research and Technology**, Berlin, v.212, n.3, p.319–328, 2001.

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

SHAHIDI, F.; JANITHA, P.K.; WANASUNDARA, P.D. Phenolic antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.32, n.1, p.67-103, 1992.

SIMÃO, A.M. **Aditivos para alimentos sob o aspecto toxicológico**. São Paulo: Nobel, 1985. 274p.

SIMIC, M.G.; JAVANOVIC, S.V. Inactivation of oxygen radicals by dietary phenolic compounds in anticarcinogenesis. In: HO, C.T.; OSAWA, T.; HUANG, T.M.; ROSEN, R.T. (Ed.). **Food phytochemicals for cancer prevention**. Washington: American Chemical Society, 1994. p.20-33.

SOARES, A.L. **Ação de ácido fítico e vitamina E na oxidação lipídica e aroma de requeijado em filés de peito de frango**. 1998. 105p. Dissertação de (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 1998.

TANABE, H.; YOSHIDA, M.; TOMITA, N. Comparison of the antioxidant activities of 22 commonly used culinary herbs and spices on the lipid oxidation of pork meat. **Animal Science Journal**, Taikoku, v.73, p.389-393, 2002.

TIIDUS, P.M., BEHUNS, W.A., MADERE, R. Effects of vitamin E status and exercise training on tissue lipid peroxidation based on two methods of assessment. **Nutrition Research**, New York, v.13, p.189-193, 1993.

TSIMIDOU, M.; BOSKOU, D. Antioxidant activity of essential oils from the plants of Lamiaceae family. In: CHARALAMBOUS, G. **Spices, herbs and edible fungi**. Amsterdam: Elsevier, 1994. p.273-284.

TSALIKI, E.; LAGOURI, V.; DOXASTAKIS, G. Evaluation of the antioxidant activity of lupin seed flour and derivatives (*Lupinus albus* ssp. *Graecus*). **Food Chemistry**, Barking, v.65, p.71-75, 1999.

TSIMIDOU, M.; PAPAVERGOU, E.; BOSKOU, D. Evaluation of oregano antioxidant activity in mackerel oil. **Food Research International**, Essex, v.28, n.4, p.431-433, 1995.

USDA, ARS, National Genetic Resources Program. Phytochemical and Ethnobotanical Databases. [Online Database]. **National Germplasm Resources Laboratory**, Beltsville, Maryland, 25 June 2003. Available from (<http://www.arsgrin.gov/duke/>)

VEKIARI, S. A.; TZIA, C.; OREOPOULO, V.; THOMOPOULOS, C. D. Isolation of natural antioxidants from oregano. **Rivista Italiana delle Sostanze Grasse**, Milano, v.70, n.1, p.25-28, 1993.

XING, Y.; WHITE, P.J. Identification and function of antioxidants from oat groats and hulls. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v.74, n.3, p.303-307, 1997.

YANISHLIEVA, N.V.; MARINOVA, E.M.; GORDON, M.H.; RANEVA, V.G. Antioxidant activity of selected species of the family Lamiaceae grown in Bulgaria. **Nahrung**, Weinheim, v.39, n.5, p.458-463, 1999.

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

WANASUNDARA, U.N.; SHAHIDI, F. Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extracts in marine oils. **Food Chemistry**, Oxford, v.63, n.3, p.335-342, 1998.

WANASUNDARA, P.K.J.P.D.; SHAHIDI, F.; SHUKLA, V.K.S. Endogenous antioxidants from oilseeds and edible oils. **Food Reviews International**, New York, v.13, n.2, p.225-292, 1997.

WATANABE, M. J. Catechins as antioxidants from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moech). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Chicago, v. 46, n. 3, p. 839-845, 1998

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

WETTASINGHE, M.; SHAHIDI, F. Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Chicago, v.47, n.5, p.1801-1812, 1999.

ZHENG, W.; WANG, S. Antioxidant activity and phenolic composition in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, n. 11, p. 5165-5170, 2001.

3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE ORÉGANO (*Origanum vulgare*) E ALECRIM (*Rosmarinus officinalis*) SOBRE A ESTABILIDADE OXIDATIVA DE SARDINHA

Resumo

A atividade antioxidante de folhas secas de orégano e alecrim foi avaliada em almôndegas pré-cozidas de filés de sardinha armazenadas sob refrigeração durante 6 dias em embalagens de polietileno. No início do período de armazenamento foram analisados os compostos fenólicos presentes no orégano e no alecrim, a composição centesimal e o perfil de ácidos graxos das almôndegas. Periodicamente foram determinados TBARS nas amostras refrigeradas para avaliação da estabilidade oxidativa durante o armazenamento. Para uma adição de 0,10% de folhas secas, os valores de TBARS indicaram que o orégano foi mais eficiente ($P < 0,0001$) na proteção das almôndegas contra oxidação lipídica do que o alecrim adicionado na mesma concentração, apesar do mesmo também ter sido eficaz em relação ao controle não protegido.

Palavras-chave: Oxidação Lipídica; PUFA; Orégano; Alecrim; TBARS; Compostos Fenólicos.

Abstract

The antioxidant activity of dried leaves of oregano and rosemary was evaluated in pre-cooked meat balls made from sardine filets stored chilled during 6 days in polyethylene packing. At the beginning of the storage assay the composition of phenolic compounds was evaluated in oregano and rosemary dried leaves and chemical composition and fatty acids profile was determined on fish meat balls. Periodically TBARS values were evaluated on chilled meat balls to study oxidative stability during storage. The addition of oregano (0.10% of dried leaves) resulted on lower TBARS values on fish meat balls which showed its higher efficiency on protection against lipid oxidation compared to rosemary added in the same concentration.

Keywords: Lipid Oxidation; PUFA; Oregano; Rosemary; TBARS; Phenolic Compounds.

3.1 Introdução, justificativa e objetivo

Produtos alimentícios elaborados com peixe têm atraído fortes interesses da indústria processadora e dos consumidores, devido aos valores nutricionais, principalmente associados às altas concentrações e funcionalidade dos ácidos graxos essenciais. Óleos de peixes marinhos possuem altas concentrações de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA), em particular, ácido ecosapentanóico (20:5, *n*-3) e o ácido docosahexanóico (22:6, *n*-3), que tem mostrado potenciais benefícios para a saúde humana, particularmente para a prevenção de doenças cardiovasculares (Medina et al., 2003). Por outro lado, a oxidação lipídica é reconhecida como a maior causa de deterioração de produtos cárneos pré-cozidos. O uso de especiarias e ervas como antioxidante natural tem se tornado importante na indústria alimentícia. O alecrim e o orégano têm apresentado alta atividade antioxidante em diversos estudos (Racan Ricci et al., 2004).

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do uso do orégano e do alecrim na estabilidade oxidativa da sardinha armazenada sob refrigeração a temperatura média de 4 °C durante 6 dias em embalagens de polietileno. Foram analisados os compostos fenólicos presentes no orégano e no alecrim, a composição centesimal e o perfil de ácidos graxos das almôndegas. Periodicamente foram determinados TBARS nas amostras.

3.2 Materiais e métodos

3.2.1 Preparo das amostras

As plantas foram adquiridas em vasos, as folhas foram desidratadas em estufa por 12 horas a 40°C (\pm 3°C) e moídas. As sardinhas foram adquiridas frescas e os filés foram separados e triturados. O sal foi adicionado à carne triturada na concentração de 0,50%. Uma parte desta carne foi considerada controle e outras duas partes foram adicionadas de 0,10% de folhas secas de orégano e alecrim, respectivamente.

Depois da adição dos ingredientes, foram confeccionadas almôndegas pesando aproximadamente 30g. As almôndegas foram embaladas a vácuo e cozidas durante 4 minutos a 100°C e transferidas para embalagens de polietileno e armazenadas sob refrigeração a temperatura média de 4°C durante 6 dias.

3.2.2 Análises Químicas

Para determinação de compostos fenólicos totais foram elaborados extratos de alecrim e orégano em solução de água e 80% de metanol (0,50g de folhas secas/20 ml de solução), de acordo com Woisky e Salatino (1998) usando reagente Folin-Ciocalteu e expressos em miligramas de ácido gálico. Duas amostras de almôndegas cruas e cozidas foram analisadas para determinação da composição centesimal: umidade e cinza, de acordo com AOAC (1995) e proteína bruta e gordura, segundo AOCS (1990). O perfil dos ácidos graxos foi determinado no início do ensaio de armazenamento após a extração dos lipídeos segundo Bligh e Dyer (1959), esterificação e metilação (Hartman; Lago, 1973) e injeção em cromatógrafo a gás (HP 5890) equipado com uma coluna capilar DB-23, 60 m x 0,25 mm, acoplado a um detector de ionização de chama. Para verificação da estabilidade oxidativa foram feitas determinações de TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances, expressas em μ moles de malonaldeídos por kg de carne) de acordo com Madsen et al. (1998). As análises foram efetuadas em duplicata em duas amostras por tratamento no tempo inicial e após 1, 2 e 6 dias de armazenamento refrigerado para o acompanhamento do estado oxidativo da carne.

3.2.3 Análises estatísticas dos dados

As médias dos valores de TBARS foram analisadas de acordo com o esquema fatorial envolvendo os fatores: tratamento (dois tipos de extratos vegetais) e tempo de armazenamento (tempos 0, 1, 2 e 6), através do PROC GLM do SAS.

3.3 Resultados e discussão

O grau de proteção antioxidante das almôndegas de filé de sardinha pré-cozidas foi caracterizado pela quantidade de compostos fenólicos presentes no orégano (82,23 mg ácido gálico/g) e no alecrim (21,29 mg ácido gálico/g) adicionados. A composição centesimal das almôndegas cozidas (na matéria original) consistiu de 70,42% de umidade, 20,27% de proteína bruta, 4,39% de óleo e 2,19% de cinza. O perfil dos ácidos graxos presentes nas amostras de almôndegas está apresentado na Tabela 6, e indica que os ácidos graxos insaturados de cadeia longa foram mais preservados nas amostras que continham orégano, seguido pelas amostras pelas que continham alecrim.

Tabela 6 - Perfil dos ácidos graxos (%) da fração lipídica das amostras de almôndega de sardinha com 6 dias de refrigeração

<i>Ac. Graxos</i>	<i>Controle</i>	<i>Orégano</i>	<i>Alecrim</i>
C14:0	17,89	11,77	13,94
C16:0	33,99	29,97	30,32
C16:1	11,13	9,33	9,99
C18:0	3,84	5,03	4,27
C18:1	7,96	9,64	8,63
C18:2	2,31	2,07	2,29
C18:3	0,52	0,61	0,61
C20:5	6,67	10,09	9,96
C22:6	2,32	5,42	4,89
<i>Total de PUFA</i>	<i>11,82</i>	<i>18,19</i>	<i>17,75</i>
<i>Total geral</i>	<i>86,6</i>	<i>83,9</i>	<i>84,9</i>

O cozimento e posterior armazenamento refrigerado em embalagens permeáveis ao oxigênio foram usados para simular uma condição favorável ao desenvolvimento de oxidação lipídica, a qual foi observada pelo efeito do cozimento (TBARS em micromol de malonaldeído por Kg de amostra: 4,27 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ na carne crua e 8,76 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ na cozida) e pelo aumento constante durante o armazenamento para todos os tratamentos.

Para os cálculos da curva padrão foi determinado uma equação da reta de uma regressão linear ($y = 0.0778x + 0.0374$; $R^2 = 0.977$) plotando a concentração e a absorbância nos eixos x e y respectivamente, a partir da qual se obtém a concentração da amostra, expressas em “valor de TBARS” definidos em μmoles de malonaldeído por kg, nos casos, filés de sardinha processados. Foi utilizado o padrão 1,1,3,3 tetraetoxipropano (TEP), cuja hidrólise ácida gera malonaldeído na proporção de 1mol: 1mol, para construção de uma curva padrão, composta por pontos de diferentes concentrações (0; 0,1; 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 4,0; 6,0 mmol.L^{-1} de TEP).

Conclui-se que a adição de 0,10% de orégano em almôndegas de sardinha preveniu de maneira mais eficiente ($P < 0,0001$) a oxidação dos lipídeos durante 6 dias de armazenamento refrigerado do que o alecrim, já que as almôndegas tratadas com orégano apresentaram menores valores ($P < 0,0001$) de TBARS em relação ao controle (Figura 8). Portanto, em relação à prevenção da oxidação lipídica, o orégano foi mais eficiente que o alecrim.

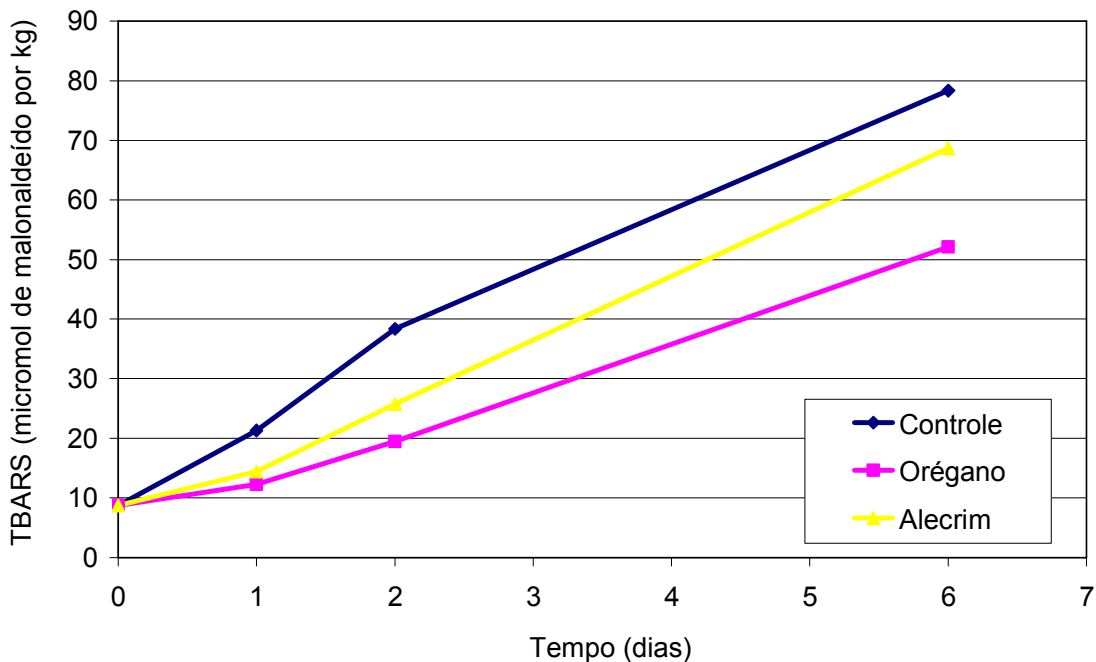


Figura 8 - Resultados médios de TBARS ($\mu\text{mol} \cdot \text{Kg}^{-1}$) nas almôndegas de sardinha

Referências

- AMERICAN OIL CHEMISTS´SOCIETY. **Official and tentative methods**. Champaign, 1990. v.1.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15. ed. Washington,1995. v.2.
- BLIGH E.G.; DYER W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, v.37, n.8, p.911-917, 1959.
- HARTMAN L.; LAGO R. C. Rapid determination of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, London, v.22, n.7, p.475-476, 1973.
- KINSELLA, J. E. **Seafoods and fish oils in human health and disease**. **Food Science and Technology**. New York: Marcel Dekker, 1987. 320p.
- MADSEN H.L.; SØRENSEN B.; SKIBSTED L.H.; BERTELSEN G. The antioxidative activity of summer savory (*Satureja hortensis* L) and rosemary (*Rosemarinus officinalis* L) in dressing stored exposed to light or in darkness. **Food Chemistry**, Barking, v.63, p.173-180, 1998.
- MEDINA, I.; GONZÁLEZ, M.J.; PAZOS, M.; MEDAGLIA, D.D.; SACCHI, R.; GALLARDO, J.M. Activity of plant extracts for preserving functional food containing *n*-3-PUFA. **European Food Research and Technology**, Berlin, v.217, n.4, p.301-307, 2003.
- WOISKY R., SALATINO A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, London, v.37, n.2, p.99-105, 1998.

4 USO DE ERVAS NA ESTABILIDADE OXIDATIVA DE FILÉS DE SARDINHA (*Sardinella brasiliensis*) PROCESSADOS

Resumo

A atividade antioxidante de dez ervas comumente usadas no Brasil foi avaliada em almôndegas cozidas de filés de sardinha, embaladas a vácuo em embalagens de polietileno com barreira ao oxigênio. Foi determinado o teor de compostos fenólicos presentes nessas ervas selecionadas. Quando adicionadas na concentração de 0,10% de folhas secas (por peso de filé), Os valores de TBARS, comparados com o controle (sem ervas), indicaram a salsa (*Petroselinum crispum*), o orégano (*Origanum vulgare*) e o alecrim (*Rosmarinus officinalis*) como as ervas com maior atividade antioxidante em ordem decrescente. Estas três ervas foram testadas em outras duas concentrações (0,15% e 0,3%), isoladas e em combinações binárias e ternárias. A concentração mais eficiente para adições das ervas isoladamente foi a mais baixa. As ervas adicionadas individualmente se mostraram mais eficientes do que as mesmas adicionadas isoladamente nas outras duas concentrações (0,15% e 0,3%). As misturas binárias e ternárias foram melhores na concentração de 0,3% de folhas secas e as misturas binárias (na mesma concentração) mantiveram a seqüência de eficiência: orégano com alecrim, salsa com alecrim e orégano com salsa. Nessa concentração (0,3%), de maneira geral, as misturas binárias e ternárias foram melhores do que as ervas isoladas na mesma concentração, mas não melhores que as isoladas na menor concentração (0,1%), na qual as ervas ainda mantiveram a seqüência de eficiência: salsa, orégano e alecrim. Analisando apenas a combinação ternária, houve um decréscimo nos valores de TBARS conforme as concentrações de ervas foram aumentadas, indicando ocorrência de sinergismo. Em alguns casos, nas misturas binárias houve um indício de que as combinações de ervas e/ou o aumento das concentrações podem provocar um comportamento pró-oxidativo.

Palavras-chave: Atividade Antioxidante; Ervas; Oxidação Lipídica; Compostos Fenólicos; TBARS; Salsa; Orégano; Alecrim.

Abstract

The antioxidant activity of dried leaves of ten commonly used in Brazil herbs was evaluated in fish balls prepared from sardine filets cooked under vacuum in polyethylene bags with oxygen barrier. Phenolic compounds contents were determined in these herbs. When added at a concentration of 0,10% (per fish weight) of dried leaves, the TBARS values compared with control treatment (without herbs) showed that parsley

(*Petroselinum crispum*), oregano (*Origanum vulgare*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) showed the highest antioxidant activity in a decreasing order. These three herbs were tested in two other concentrations (0,15% and 0,3%), individually and in binary and ternary mixtures. For the addition of 0,10% of dried leaves, the TBARS values showed that oregano, rosemary and parsley isolated, in this sequence, were higher efficient compared to the addition of this herbs in two different concentrations (0,15% and 0,3%). When added individually, the lowest concentration was the most efficient. The binary and ternary mixtures were more efficient at a 0,3% level of addition. At this level, the best binary mixtures were, in a decreasing order of antioxidant activity, oregano with rosemary, parsley with rosemary and oregano with parsley. At this concentration (0,3%), the binary and ternary mixtures showed a better performance than the herbs used individually in the same concentration but not better than these ones in the lower concentration (0,1%) when these herbs kept the decreasing sequence: parsley, oregano and rosemary. When analysing the performance of the ternary mixtures TBARS values decreased as the herbs concentrations increased, indicating occurrence of synergism. In some cases, when working with binary mixtures either the increase in concentration or the combination of the herbs induced a pro-oxidative behavior.

Keywords: Antioxidant Activity; Natural Antioxidants; Herbs; Lipid Oxidation; Phenolic Compondes; TBARS; Parsley; Oregano; Rosemary.

4.1 Introdução e justificativa

Alimentos funcionais ou nutracêuticos, termos que se referem aos alimentos ou aos ingredientes isolados de alimentos que trazem benefícios fisiológicos à saúde, foram claramente um dos principais focos da indústria de alimentos no começo dos anos 90. Dentre os diferentes produtos comerciais, os que contêm lipídios bioativos têm sido amplamente estudados pelas indústrias. A estabilização do omega-3, geralmente de fontes marinhas, é um exemplo dessa preocupação.

A importância do consumo dos produtos funcionais tem sido documentada amplamente em pesquisas, artigos e congressos. Produtos marinhos com altas concentrações de ácidos graxos poliinsaturados são considerados potenciais aliados da saúde humana, particularmente na prevenção de doenças cardiovasculares. O melhor seria a ingestão do próprio músculo do peixe ou de óleos marinhos *in natura*, mas já existem produtos como margarinas e maioneses que contem essas substâncias e que são tidas como convenientes. Para esse tipo de produto o desenvolvimento de off-flavor

e a rancidez oxidativa continuam sendo os principais entraves na produção e comercialização dos mesmos.

No caso da sardinha, por exemplo, que é consumida fresca, enlatada ou salgada, a oxidação lipídica, depois da microbiológica, é um dos mais importantes fatores responsáveis de deterioração durante armazenamento refrigerado e congelado. A oxidação lipídica em alimentos cárneos pode ser iniciada por reações não enzimáticas (AKHTAR et al., 1998).

A estabilidade de óleos marinhos e de ácidos graxos dos peixes envolve estudos sobre degradação oxidativa, suas conseqüências e as estratégias direcionadas para estabilizar essa oxidação. Os antioxidantes, naturais ou sintéticos, ganham importância em relação a preservação da integridade dos ácidos graxos poliinsaturados (DONNELLY; ROBINSON, 1995). Os antioxidantes sintéticos, como são purificados, podem apresentar problemas de solubilidade, contribuir com sabores estranhos e apresentar algum risco de toxidez, o que pode dificultar o seu emprego. Neste contexto, as ervas surgem como uma alternativa de apelo natural.

Durante a última década foi dada muita atenção ao papel dos radicais livres nas oxidações biológicas. O interesse foi crescente do cientista de alimentos ao fisiologista. Seqüestradores de radicais livres são necessários para a preservação dos alimentos. Tem sido sugerido que se aumente o uso de antioxidantes em dietas com alto índice de gorduras, principalmente poliinsaturadas (DONNELLY; ROBINSON, 1995).

Por todos esses motivos, nos últimos 50 anos, tem sido dada ênfase à pesquisa de possíveis antioxidantes presentes em produtos naturais, com destaque para as especiarias mundialmente utilizadas para fins culinários (CHIPAULT; MIZUNO; LUNDBERG, 1956; PALIZCH et al., 1969; ABDEL-FATTAH; EL-ZEANY, 1979; SZANTO, 1980; GERHARDT; SCHRÖTER, 1983; SAITO; KIMURA; SAKAMOTO, 1976; AMAROWICZ et al., 1996; SHAHIDI, 2000).

A atividade antioxidante das especiarias e de seus extratos é atribuída principalmente aos compostos fenólicos (BRACCO et al., 1981; CHANG et al., 1977). A presença dos compostos fenólicos em plantas tem sido estudada já que esses apresentam interessantes atividades farmacológicas e principalmente por inibirem a oxidação lipídica e a proliferação de fungos (NAGEN; ALBUQUERQUE; MIRANDA,

1992; GAMACHE; RYAN; ACWORTH, 1993; IVANOVA et al., 1997; AZIZ et al., 1998; FERNÁNDEZ; SAENZ; GARCIA, 1998; HOLLMAN; KATAN, 1998), além de participarem de processos responsáveis pela cor, adstringência e aroma em vários alimentos (PELEG; BODINE; NOBLE, 1998; GAMACHE; RYAN; ACWORTH, 1993).

As ervas e especiarias comumente estudadas são: o orégano, o alecrim, a sálvia, o tomilho, a pimenta malagueta, a pimenta vermelha, o gengibre, a canela, o cravo-da-índia, dentre outros. Em vários estudos o alecrim, que pertence a família Labiatae tem sido mostrado como o antioxidante natural mais potente dentre as ervas comuns (CHIPAULT; MIZUNO; LUNDBERG, 1956; HERRMANN et al., 1981; NAKATANI, 1992; NAKATANI, 1994; SHAHIDI; JANITHA; WANASUNDARA, 1992; MADSEN; BERTELSEN, 1995). Esse potencial tem sido atribuído ao ácido rosmarínico (BRIESKORN; DOMLING, 1969; CUVELIER; RICHARD; BERSET, 1996). A maioria dos compostos relatados nas plantas da família Lamiaceae, também muito estudada, são os ácidos cinâmicos e os flavonóides (HERRMANN, 1980; HEGNAUR, 1989). Reschke (1983) encontrou altas quantidades de ácido rosmarínico nessas plantas. Também da mesma família, o orégano (*Origanum vulgare* L.) tem sido estudado pela alta concentração de compostos fenólicos (VICHI et al., 2001; TAKACSOVA; PRIBELA; FAKTOROVA, 1995). Lagouri e Boskou (1996) verificaram a presença de cinco compostos principais com atividade antioxidante em orégano.

Trindade et al. (2005) testaram extratos de orégano e alecrim. Um dos parâmetros usados para medir a atividade antioxidante foi a diminuição da velocidade de oxidação. Para o extrato aquoso do orégano, a inibição da oxidação foi de 78,89% em uma concentração de 200 ppm. Para o extrato aquoso do alecrim, a inibição da oxidação foi de 82,12% em uma concentração de 200 ppm.

Estudos realizados por Racanicci et al. (2004) comprovaram que a utilização de antioxidantes naturais como o orégano e o alecrim em almôndegas de carne de frango retardaram significativamente a oxidação das mesmas. Piedade et al. (2005) associaram o grau de proteção antioxidante do orégano em almôndegas de filé de sardinha pré-cozidas à quantidade de compostos fenólicos presentes no orégano (82,23 mg.g⁻¹), em mg de ácido gálico por g de amostra, comparada à presente nas folhas de alecrim (21,29 mg.g⁻¹).

Já Guerra e Lajolo (2005) estudaram a ação antioxidante de especiarias como a cebolinha verde, o coentro e a salsa e comprovaram que a cebolinha não é tão eficiente, mas a salsa e o coentro possuem compostos polares e apolares que mostram ação antioxidante sobre os lípideos.

Serdaroglu e Felekoglu (2005) revelaram que 300 ppm de extrato de alecrim retardaram as mudanças oxidativas no mince congelado de sardinha. Já com suco de cebola (1ml/100g) não foi notada tanta efetividade como no extrato de alecrim para a estabilidade oxidativa. A adição de suco de cebola retardou o desenvolvimento da rancificação durante três meses de armazenamento congelado. De acordo com Boyd et al. (1993) a composição dos ácidos graxos de filés de peixe cozidos e tratados com extrato de alecrim não foi diferente dos filés-controle depois do armazenamento a 20 °C.

Piedade et al. (2005) demonstraram que o uso de orégano e alecrim como antioxidantes naturais preservou a composição de ácidos graxos e valores de TBARS de filés de sardinha, armazenados e refrigerados durante sete dias, em relação ao controle. Boyd et al. (1993) estudaram o uso de extrato de alecrim em filés de peixe cozidos e armazenados e verificaram que não houve mudanças significativas no perfil de ácidos graxos desses filés. Younathan, Oon e Yusof (1983) demonstraram o efeito da adição de extrato de cebola na estabilidade de ácidos graxos poliinsaturados de mince de tubarão, comprovando seu efeito. Sant´ana e Mancini-Filho (2000) mostraram que o uso de antioxidantes manteve a composição de ácidos graxos em filés de peixe. Serdaroglu e Felekoglu (2005) revelaram que 300 ppm de extrato de alecrim retardaram as mudanças oxidativas no mince congelado de sardinha.

Foi analisada a influência da adição de oxidantes in vivo na composição de ácidos graxos de polpa do peixe de água doce Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) alimentados com dietas especiais. Foi usado extrato de alecrim em um dos tratamentos. Os resultados mostraram que o uso de antioxidantes alterou a composição de ácidos graxos nos filés. Os valores de TBARS confirmaram o importante papel do antioxidante natural na proteção da oxidação lipídica (SANT´ANA; MANCINI-FILHO, 1999).

4.2 Objetivo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do uso de folhas desidratadas de ervas na estabilidade oxidativa de filés de sardinha processados, embalados a vácuo e cozidos, através dos valores de TBARS e do teor de compostos fenólicos das 10 ervas escolhidas.

4.3 Materiais e métodos

4.3.1 Preparo das ervas

As plantas de salsa, cebolinha, estragão, manjericão, coentro, tomilho, alecrim, orégano, hortelã e louro foram adquiridas em vasos produzidos em estufa com temperatura e irrigação controladas, na empresa “Horta em Casa” na cidade de Cabreúva, interior de São Paulo.

Quando as ervas já estavam relativamente bem desenvolvidas, as folhas foram separadas do talo e foram desidratadas em estufa com circulação de ar por 12 horas a 40°C (\pm 3°C). Posteriormente foram moídas em cadinho até uma granulometria reduzida. Já moídas, foram acondicionados em potes de vidro escuro e bem vedados para evitar a passagem de luz e de oxigênio, respectivamente, e colocados em congelador até o momento de uso.

4.3.2 Sardinhas

O comércio de pescado no atacado em São Paulo é sempre realizado na CEAGESP (Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais do Estado de São Paulo) depois de transportado (via rodoviária) de diferentes portos localizados ao longo do litoral paulista e de outros Estados. A partir daí, esse pescado é direcionado ao comércio varejista, como feiras livres e supermercados.

As sardinhas (*Sardinella brasiliensis*) usadas na pesquisa foram sempre adquiridas às 7 horas da manhã em um mesmo fornecedor (supermercado varejista) na

cidade de Piracicaba, recém chegadas da Ceagesp da capital São Paulo (06h00min da manhã do mesmo dia). Os lotes de sardinha costumam chegar à Ceagesp às 03h30min da madrugada e já são imediatamente comercializados e entregues para os varejistas, inclusive para o de Piracicaba que forneceu as amostras. Elas foram transportadas sobre o gelo até Piracicaba em caminhões refrigerados. Já no fornecedor (varejista) foram acondicionadas em isopor e transportadas até o laboratório, onde começaram a ser processadas a partir das 8 horas da manhã. Portanto todo o processo, desde a chegada à Ceagesp de madrugada até o uso no laboratório de manhã, ocorreu no mesmo dia.

4.3.3 Preparo das almôndegas e amostragem

O preparo das almôndegas foi baseado em trabalhos de Racanicci et al. (2004; 2007) nos quais as carnes do peito de frango foram desossadas e adicionadas de sal para produzir bolas (almôndegas) de carne. Este foi o modelo cárneo utilizado para estudar a eficiência dos antioxidantes naturais, já utilizado em trabalhos de outros autores (ERSOY; YILMA, 2003; PINO; REGITANO-D'ARCE; RACANICCI, 2004; PIEDADE et al., 2005; PINO et al., 2005; NIELSEN; MOLINA, 1999; YANAR; FENERCIOGLU, 1999).

Na primeira etapa do trabalho, foram usadas todas as dez ervas. Os filés das sardinhas foram separados e triturados em processador caseiro, marca Arno. O sal foi adicionado na concentração de 0,50% do peso da carne triturada. Essa carne triturada e salgada foi separada em doze partes. Duas partes foram consideradas controle (uma delas não recebeu tratamento térmico e foi chamada de 'controle cru' e a outra de 'controle cozido' e nas outras dez partes foram adicionados 0,10% (do peso da almôndega) de folhas secas e trituradas das dez ervas, isoladamente. Foram confeccionadas três almôndegas para cada um dos doze tratamentos, pesando aproximadamente 30g (+ ou - 0,5g). Embalagens de polietileno com três camadas, específicas para vácuo e cozimento em altas temperaturas (sacos encolhíveis a vácuo Cryovac® ou filmes termoencolhíveis de alto desempenho) com barreira ao oxigênio foram cedidas pela empresa Cryovac Sealed Air, com filial na cidade de São Paulo.

Para cada tratamento foi usada uma embalagem e as três almôndegas foram juntamente embaladas a vácuo em seladora Selovac 300 B, solda n°. 3 e vácuo n°. 4, sempre procurando manter as almôndegas afastadas uma da outra dentro de cada embalagem na hora de selar. As almôndegas embaladas foram cozidas durante 8 minutos a 100°C em banho-maria e posteriormente (tempo de esfriar um pouco) cada almôndega foi picada em pequenos pedaços (mais ou menos 0,5 x 0,5 x 0,5 cm). De cada almôndega foram retiradas duas amostras de 5g (+ ou - 0,10g), portanto seis amostras por tratamento (triplicata com repetição).

Na segunda etapa do trabalho, foram usadas apenas as três ervas escolhidas (salsa, orégano e alecrim) conforme critérios já discutidos, em três diferentes concentrações (0,10%, 0,15% e 0,30%), seguindo o mesmo preparo anterior. O sal foi adicionado a toda a carne triturada na concentração de 0,50%. A carne triturada e salgada foi separada em dezesseis partes. Uma parte foi considerada “controle” (recebeu tratamento térmico, mas não foi adicionado de ervas) e nas outras 15 partes foram adicionados 0,10%, ou 0,15% ou 0,3% (do peso da almôndega) de folhas secas e trituradas das três ervas escolhidas. Foram seis tratamentos usando as ervas isoladas, seis tratamentos de misturas binárias das ervas e três tratamentos ternários. No tratamento 0,15% foi preparada apenas a mistura ternária, como ponto a mais para a comparação e discussão. Foram confeccionadas duas almôndegas, para cada um dos dezesseis tratamentos, pesando aproximadamente 30g (+ ou - 0,5g). Embalagens de polietileno com três camadas, específicas para vácuo e cozimento em altas temperaturas (sacos encolhíveis a vácuo Cryovac® ou filmes termoencolhíveis de alto desempenho) com barreira ao oxigênio foram usadas para cada tratamento. Essas embalagens multicamadas são elaboradas com Nylon e Polietileno sendo um material coextrusado. As duas almôndegas de cada tratamento foram embaladas a vácuo, sempre afastadas umas das outras. Foram cozidas durante 8 minutos a 100°C em banho-maria e posteriormente (tempo de esfriar um pouco) cada almôndega foi picada em pequenos pedaços (mais ou menos 0,5 x 0,5 x 0,5 cm). De cada almôndega foram retiradas duas amostras de 5g (+ ou - 0,10g), portanto quatro amostras por tratamento (duplicata com repetição).

4.3.4 Composição Centesimal

Duas amostras de filés de sardinha crus e de almôndegas cozidas (controle) foram analisadas para determinação da umidade e cinza, de acordo com a AOAC (1995) e proteína bruta e gordura, segundo a AOCS (2003). O teor de carboidratos totais foi calculado pela diferença entre 100 e a soma dos demais componentes.

4.3.5 Compostos Fenólicos

4.3.5.1 Extração dos Compostos Fenólicos

O procedimento adotado para a extração dos compostos fenólicos foi o de Racanicci et al. (2004). Para determinação de compostos fenólicos totais foram elaborados extratos das dez ervas desidratadas estudadas em solução de água e 80% de metanol. O solvente foi escolhido na procura de se aproximar da polaridade do substrato em questão. Foram testadas diversas quantidades (em gramas) de ervas na solução, até que se encontrasse uma ideal (0,50g de folhas secas para 20 ml de solução) para a realização da leitura.

4.3.5.2 Metodologia para quantificação dos Compostos Fenólicos Totais

A metodologia para a determinação do teor de fenólicos totais foi a de Woisky e Salatino (1998), usando reagente Folin-Ciocalteu na qual os compostos fenólicos são expressos em microgramas de ácido gálico por 0,5 ml de solução ($\mu\text{g} \times 0,5^{-1} \text{ ml}$).

4.3.6 Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

Para verificação da estabilidade oxidativa foram feitas determinações de TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances - Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico), de acordo com Sørensen e Jørgensen (1996) adaptado de Vynche (1970 e 1975).

As análises foram feitas em três almôndegas por tratamento em duplicata na primeira parte do trabalho ou em duas almôndegas por tratamento em duplicata, na segunda parte do trabalho. O cozimento e embalagem em embalagens impermeáveis ao oxigênio foram usados para simular uma condição favorável ao desenvolvimento de oxidação lipídica observada pelo efeito do cozimento

4.4 Análise estatística dos dados

Os valores de TBARS foram analisados através de um teste de Tukey ao nível de 95% (0,05), através do SANEST.

4.5 Resultados e discussão

4.5.1 Composição Centesimal

O resultado das análises de composição centesimal da sardinha crua e processada está apresentado na Tabela 7. Depreende-se dos resultados que pouca alteração nos componentes principais ocorreu com o cozimento.

Tabela 7 - Composição centesimal da sardinha fresca (filés) e das almôndegas cozidas (g/100g)

Tratamento	Umidade	Proteína Bruta *	Lipídios *	Cinza *	Carboidratos *
Sardinha fresca**	72,80	15,14	5,26	5,50	1,30
Almôndega***	72,22	15,60	5,34	5,58	1,26

* valores médios calculados em base seca

** desvio-padrão variando de 0,34 a 0,69

*** desvio-padrão variando de 0,57 a 0,68

Segundo Ito; Sanches e Silva (1969), a *Sardinella brasiliensis* apresenta teores lipídicos inferiores a 7 g/100g, abaixo dos de muitas espécies de peixes também pelágicos, como o arenque, cujos níveis ultrapassam 20 g/100 g.

Com relação à umidade, a variação situou-se na faixa correspondente aos peixes marinhos, entre 66 e 84% (AQUARONE et al., 1983). São citados na literatura teores entre 70-80% e 64-90% (BADOLATO et al., 1994). BADOLATO et al. (1994) encontraram valores entre 77,2 e 83,8% para espécies marinhas, dentre elas, a sardinha, capturadas no inverno de 1992. A estação do ano afeta o conteúdo de água do pescado, o que já foi constatado por outros autores quando relacionaram a época de captura com a composição centesimal (LEWUS; KAISER; MONTVILLE, 1991).

O teor de lipídios encontrado nas amostras também é coerente com a literatura (MULLER; TOBIN, 1991). Pesquisas mostraram que peixes de águas tropicais costumam apresentar teores muito inferiores aos do Hemisfério Norte (BERTULLO, 1975), também constatado neste trabalho. A importância da variação sazonal é complexa, pois as sardinhas podem apresentar 2% de lipídios na primavera e até 8,6% no outono. As sardinhas jovens podem conter 3% de lipídios e aos 3 anos (fase de reprodução) entre 5 e 15%, conforme a estação do ano.

4.5.2 Compostos Fenólicos

A capacidade de diferentes compostos fenólicos em inibir o início da oxidação lipídica tem sido reportado na fase polar (BORS et al., 1990; RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996; YEN; DUH, 1994) e na fase lipídica (DUGAS et al., 2000; SAWA et al., 1999). Eles ainda inibem vários tipos de enzimas oxidantes (COS et al., 1998; LAUGHTON et al., 1991).

Os compostos fenólicos totais presentes nos extratos das 10 ervas escolhidas foram estimados através do método Folin-Ciocalteu assim como em recentes estudos (DORMAN et al., 2003a; DORMAN et al., 2003b; OKTAY; GULCIN; KUFREVIOGLU, 2003; SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA-RAVENTO'S, 1999) e expressos em miligrama de ácido gálico por grama de amostra.

Os valores de compostos fenólicos totais (Figura 9) foram correlacionados com os valores de TBARS das 10 ervas selecionadas e usadas na concentração 0,10%, já que este foi um dos parâmetros para a escolha das 3 melhores ervas. Os compostos

fenólicos totais não foram correlacionados com as ervas isoladas ou combinadas nas outras concentrações.

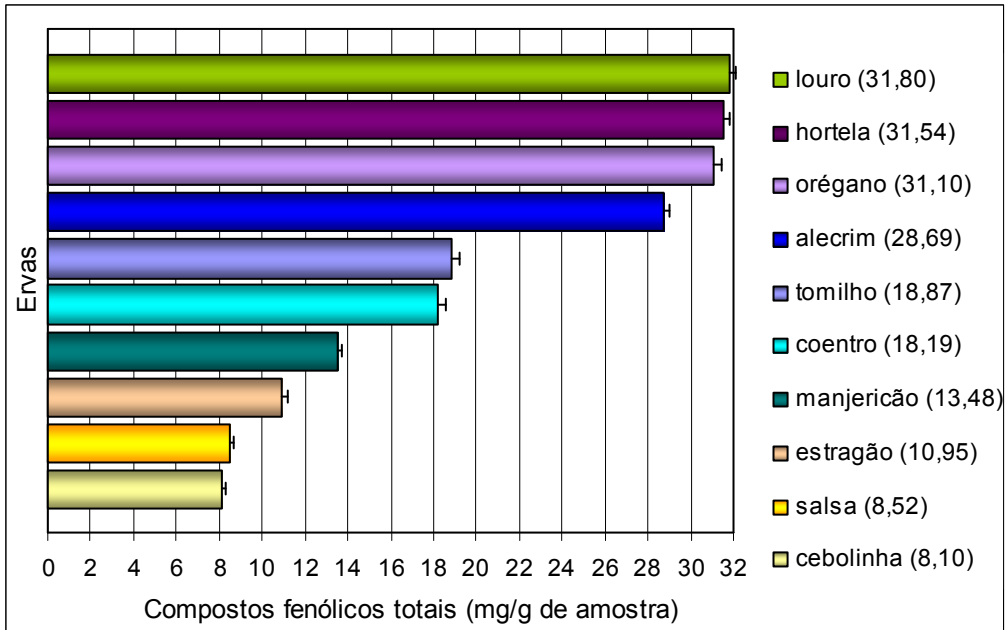


Figura 9 - Teor de compostos fenólicos totais das 10 ervas em estudo

A atividade antioxidante de ervas tem sido objeto de constantes estudos constante (OOMAH; MAZZA, 1996; OOMAH; KENASCHUK; MAZZA, 1995; WANG et al., 1996, 1998; AMAROWICZ et al., 1996), no entanto, informações sobre a correlação entre atividade antioxidante e o teor de compostos fenólicos totais nem sempre está disponível. Wangenstein, Samuelsen e Malterud (2004) encontraram uma boa correlação entre o teor de compostos fenólicos totais e efeito antioxidante em extratos de coentro.

Extratos de vários tipos de chá foram usados para retardar a oxidação lipídica de blue sprat (um tipo de peixe), porém não foi encontrada nenhuma relação entre essa atividade antioxidante e o teor de compostos fenólicos totais.(SETO et al., 2005).

De uma maneira geral pode ser observada alguma correlação entre a atividade antioxidante e o teor de compostos fenólicos totais. No caso do orégano, alecrim, hortelã, manjerição, coentro, tomilho, estragão e da cebolinha há boa indicação de que a atividade antioxidante se deva aos compostos fenólicos presentes, ao contrário do

que foi constatado com a salsa, visto que os valores são inversamente proporcionais. Apesar de a salsa ter sido a erva mais eficiente na inibição da oxidação a 0,10% (TBARS de $40,91 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$), apresentou o mais baixo teor de fenólicos ($8,52 \text{ mg.g}^{-1}$). Isto pode estar associado à presença de outros compostos de ação antioxidante que não os fenólicos, conforme relatado por Guerra e Lajolo (2005). Os compostos apolares foram mais eficientes em condições de baixa atividade de água e os polares em situação de atividades de água mais altas. Nesse estudo os extratos polares e apolares da salsa foram mais eficazes até mesmo que o ácido cítrico e que o coentro em qualquer condição de atividade de água.

O louro também foi uma exceção já que mesmo possuindo a mais alta quantidade de compostos fenólicos totais ($31,80 \text{ mg.g}^{-1}$) não inibiu efetivamente a oxidação lipídica dos filés de sardinha (TBARS de $51,69 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$).

A cebolinha apresentou o mais baixo teor de compostos fenólicos totais ($8,11 \text{ mg.g}^{-1}$) mas diferentemente da salsa, refletiu na baixa atividade antioxidante (TBARS de $54,33 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$), seguido apenas pelo estragão, dentro da gama de ervas exploradas. Estes resultados se assemelharam ao observado por Guerra e Lajolo (2005). Naquele estudo a cebolinha mostrou bem pouca atividade antioxidante ao contrário da salsa e do coentro que tiveram desempenho semelhante.

Os valores de compostos fenólicos totais do coentro ($18,19 \text{ mg.g}^{-1}$) e da salsa ($8,52 \text{ mg.g}^{-1}$) podem ser comparados com os encontrados por Pino et al (2005). Nesse estudo, as almôndegas de peito de frango pré-cozidas adicionadas de coentro foram as mais protegidas da oxidação, seguidas pelas com salsa, o que foi correlacionado ao teor de compostos fenólicos presentes no coentro ($19,54 \text{ mg.g}^{-1}$) e na salsa ($15,77 \text{ mg.g}^{-1}$).

Os valores de compostos fenólicos totais do alecrim ($28,70 \text{ mg.g}^{-1}$) e do orégano ($31,11 \text{ mg.g}^{-1}$) podem ser comparados com os estudos de Piedade et al. (2005) que encontraram valores de $82,23 \text{ mg.g}^{-1}$ para o orégano e de $21,29 \text{ mg.g}^{-1}$ para o alecrim. No caso do alecrim os valores são numericamente comparáveis.

Segundo Dorman et al. (2003), os teores de compostos fenólicos totais dos extratos de orégano, alecrim, sálvia e tomilho foram 149, 185, 166, 95.6 mg de ácido gálico por g de amostra fresca, respectivamente. Nesses extratos aquosos, o ácido

rosmarínico foi o composto fenólico mais presente a exemplo dos trabalhos de Ollanketo, Peltoketo, Hartonen, Hiltunen e Riekkola (2002). Mata et al. (2006) e Trouilla et al. (2003) encontraram valores comparáveis de compostos fenólicos em alecrim ($73,5 \text{ mg.g}^{-1}$), indicando que a forma de extração determina a sua quantificação e atividade antioxidante.

Trindade et al. (2005) testaram extratos de orégano e alecrim e um dos parâmetros usados para medir a atividade antioxidante foi a redução da velocidade de oxidação. Para o extrato aquoso do orégano, a inibição da oxidação foi de 78,89% e para o extrato aquoso do alecrim, a inibição da oxidação foi de 82,12%.

Pizzale et al. (2002) estudaram a atividade antioxidante de extratos metanólicos de orégano e sálvia e foi verificado que os compostos fenólicos totais não mostraram diferenças significativas entre as duas espécies e que o ácido rosmarínico estava presente em grandes quantidades também no orégano.

Segundo Dorman et al. (2003), o orégano e o alecrim têm teores de compostos fenólicos totais equivalentes ($31,11$ e $28,70 \text{ mg.g}^{-1}$, respectivamente) enquanto que o tomilho tem valores aproximadamente duas vezes menores ($18,88 \text{ mg.g}^{-1}$).

Os compostos fenólicos de ervas, como o tomilho, são responsáveis pela atividade antioxidante dos extratos polares (DAPKEVICIUS et al., 2002; WANG et al., 1998) e muitos autores não fazem referência aos compostos químicos presentes nessas ervas, assumindo que os fenólicos são os responsáveis pela atividade observada. Estudos de Kanatt, Chander e Sharma (2007) mostraram que o total de compostos fenólicos de extratos aquosos de hortelã foram $25,62 \text{ mg}$ de catequina por grama de amostra. Dorman et al. (2003) encontraram 128 mg de ácido gálico por grama de amostra seca. Triantaphyllou, Blekas e Boskou (2001) reportaram que os compostos fenólicos do hortela são devidos aos ácidos fenólicos e aos flavonóides.

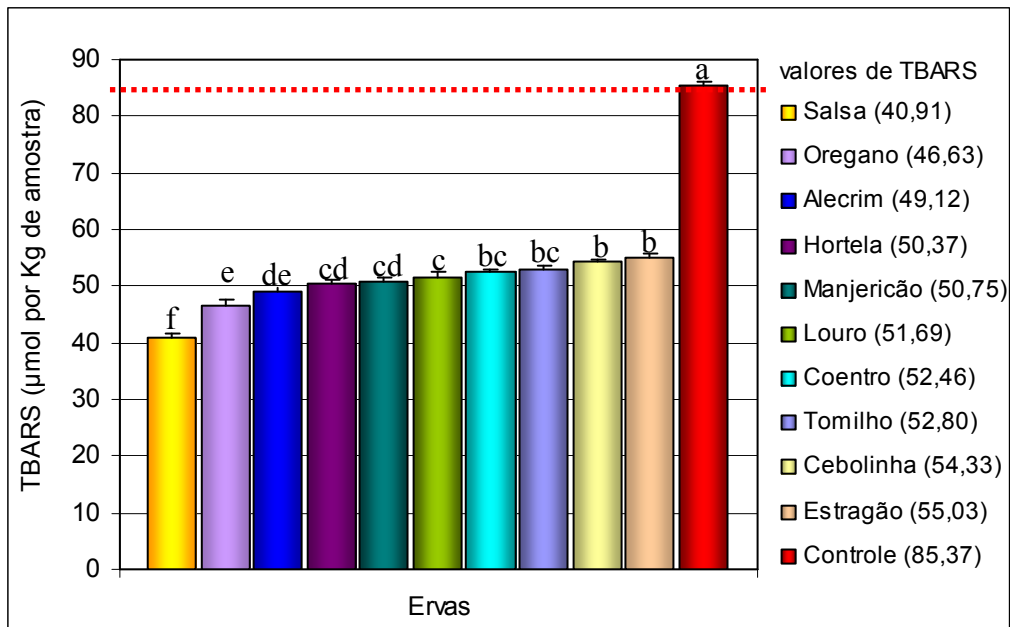
Nos estudos de Zheng e Wang (2001), a correlação entre fenólicos totais e atividade antioxidante foi constatada. Contudo nos estudos de Dorman et al. (2003; 2004) essa correlação não pode ser totalmente observada, variando conforme a matriz estudada.

4.5.3 Valores de TBARS, oxidação lipídica e eficiência das ervas

Nesta discussão os valores de TBARS serão sempre expressos em μmol de malonaldeído por kg de amostra ($\mu\text{mol.Kg}^{-1}$), unidade usada no presente trabalho. Os estudos de outros autores foram transformados nesta unidade.

Na literatura não há um valor padrão de TBARS estabelecida nos estudos, que defina a ocorrência de oxidação lipídica e/ou indique que a partir dele o pescado não possa ou não deva ser consumido (KELLEHER; HULTIN; WILHELM, 1994).

Os valores de TBARS das 10 ervas estudadas na concentração 0,1% mostraram que a salsa, o orégano e o alecrim foram as ervas mais eficientes na prevenção da oxidação (Figura 10).



As colunas com a mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de significância

$C_v = 1,533\%$; $D.M.S. 5\% = 2,385$

Figura 10 - Valores de TBARS das ervas na concentração 0,1%

A salsa foi a mais eficiente com valor médio de $40,91 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$, seguido do orégano com $46,63 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$ e do alecrim com $49,12 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$ e esse valores indicam reduções de 52,08%, 45,37% e 42,46%, respectivamente, nos valores de TBARS em

relação ao tratamento sem ervas (controle). Esses resultados fornecem um indicativo da influência da qualidade de antioxidantes naturais presentes nas ervas sobre a estabilidade oxidativa das almôndegas de filés de sardinha processados dentro da faixa estudada. A partir desses resultados elas foram escolhidas para serem testadas isoladamente e como misturas binárias e ternárias em diferentes concentrações.

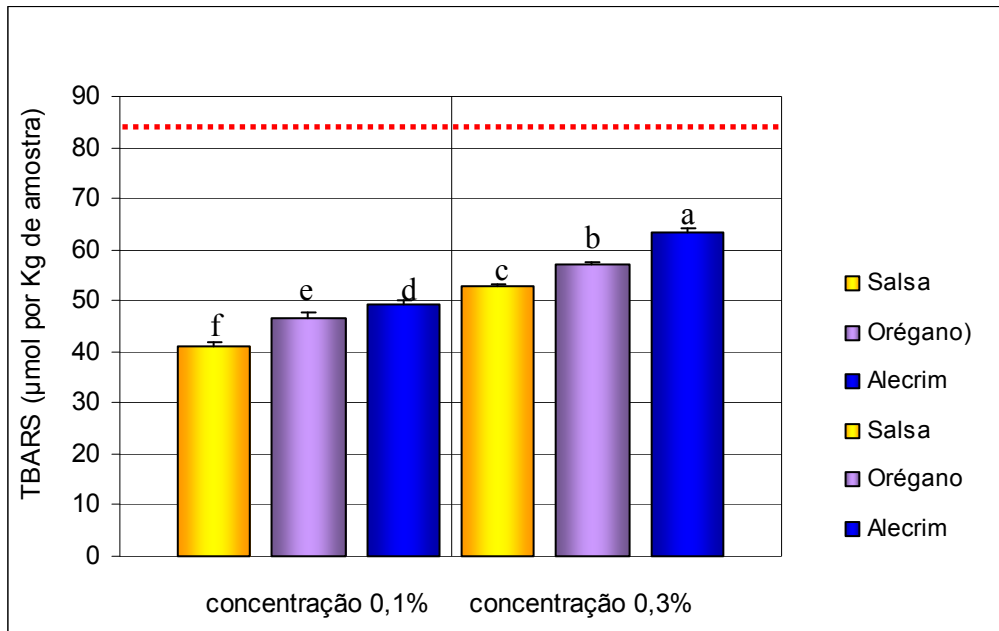
Pino et al. (2005) estudaram a estabilidade oxidativa de almôndegas cozidas de carne de frango adicionadas de 0,1% de folhas secas de salsa e coentro através da determinação dos TBARS durante um período de 9 dias sob refrigeração. Ao final do armazenamento, a amostra controle apresentou $45,27 \mu\text{mol.kg}^{-1}$, o tratamento com salsa, $22,12 \mu\text{mol.kg}^{-1}$ e o tratamento com coentro, $36,39 \mu\text{mol.kg}^{-1}$.

Assim como no presente trabalho, os estudos de Pino et al. (2005) mostraram que a adição de 0,1% de salsa se comportou com extrema eficiência já que reduziu em 51,13% e em 31,94% na segunda etapa a incidência da oxidação. Estes resultados comprovam a maior susceptibilidade à oxidação das almôndegas sem adição das ervas. Fato também comprovado por Racanicci et al. (2004).

O hortelã seria com certeza a quarta erva escolhida já que foi a quarta erva com maior quantidade de fenólicos e a quarta erva que mais controlou os valores de TBARS. Segundo Kanatt, Chander e Sharma (2007) a efetividade de folhas de hortelã na estabilidade da carne de cordeiro foi investigada. Extratos de hortelã com compostos fenólicos e flavonóides foram analisados através do DDPH e mostraram ter alta capacidade antioxidante. Foi encontrada uma possível correlação entre a atividade antioxidante e o poder redutor desses antioxidantes. Os extratos também foram comparados através dos valores de TBARS na carne de cordeiro e se mostraram significativamente eficientes ($p < 0.05$) em relação ao controle (sem hortelã).

A salsa foi mais eficiente ($40,91 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$), seguida do orégano ($46,6 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$) e do alecrim ($49,12 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$). Essa seqüência de eficiência foi mantida na segunda concentração estudada (0,3%) com valores de TBARS de $53 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$ para a salsa seguido de $56,97 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$ para o orégano e de $63,38 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$ para o alecrim. Em relação à utilização das 3 ervas escolhidas e utilizadas separadamente, os valores de TBARS indicam que a 0,1% as ervas se mostraram mais eficientes que na concentração 0,3%. Desses resultados se depreendeu que o aumento de concentração

não provocou um aumento correspondente na capacidade antioxidante das ervas (Figura 11), contudo, não se pode afirmar que houve atividade pró-oxidante, visto que os valores de TBARS se mantiveram terem se mantido abaixo dos valores do controle.

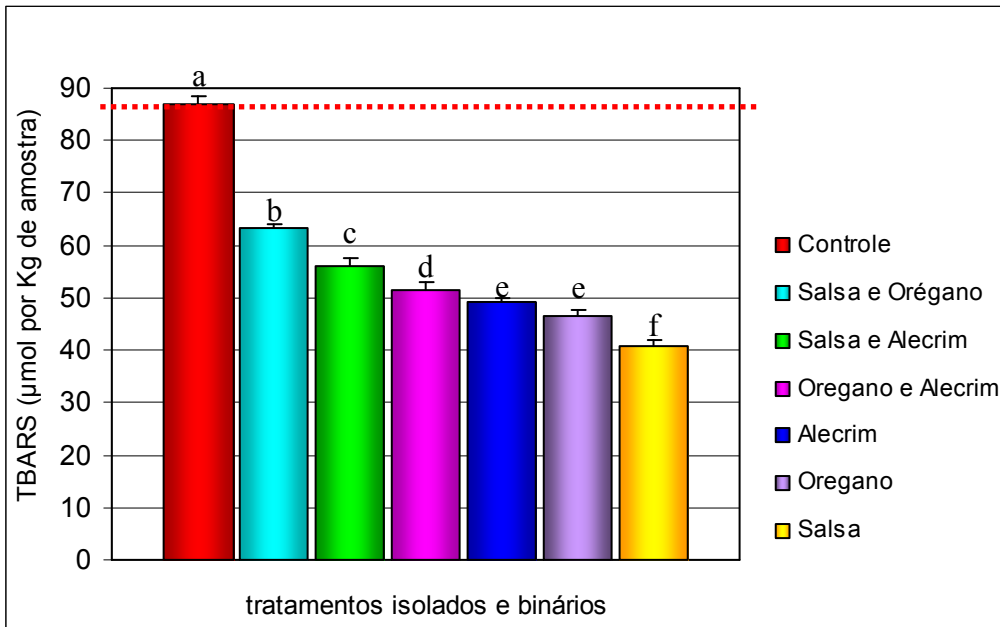


As colunas com a mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de significância
 $Cv = 1,592\%$; $D.M.S. 5\% = 2,239$

Figura 11 - Valores de TBARS das ervas isoladas a 0,1% e 0,3%

A literatura não registra avaliação de diferentes concentrações de ervas em alimentos. Mais comum é a dosagem em diferentes níveis dos extratos. Juntachote et al. (2007) avaliaram a eficácia de diferentes concentrações de extrato etanólico de manjeriço e de manjeriço desidratado no retardo da rancidez oxidativa em carne cozida de porco e refrigerada durante 14 dias através de valores de TBARS. Foi verificado que o manjeriço foi mais eficiente na inibição da oxidação do que o extrato etanólico e que o processo de oxidação foi significativamente influenciado pelo tipo e concentração de antioxidante. Um aumento de eficácia foi observado conforme a concentração foi aumentada nos dois tipos de antioxidantes, diferentemente do que ocorre no presente trabalho. Lai et al. (1991) também verificaram que a estabilidade oxidativa de nuggets de frango foi influenciada pela concentração de alecrim adicionada.

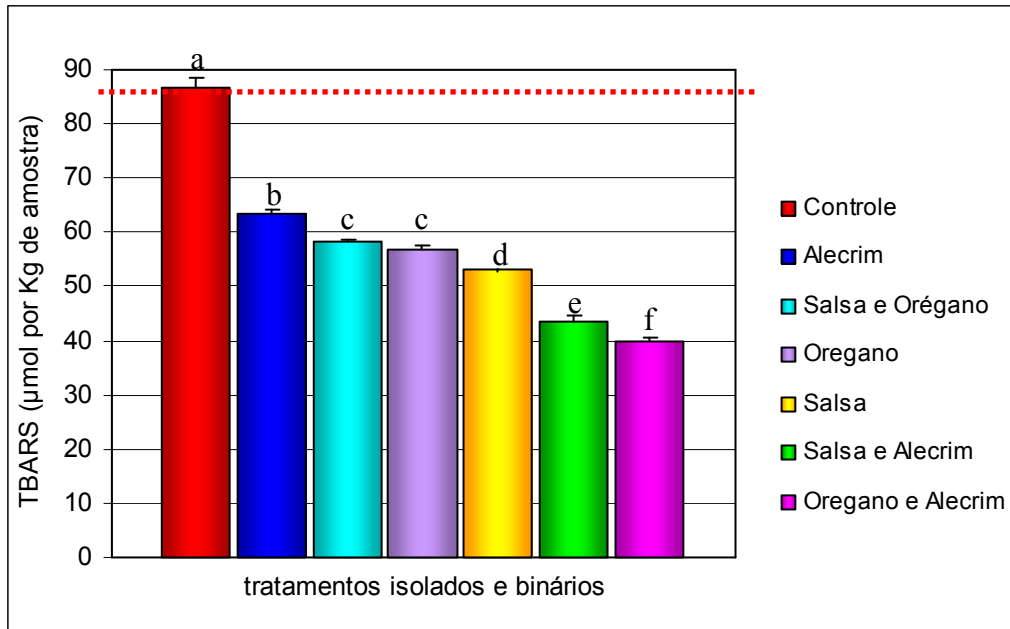
Quando correlacionados os valores de TBARS das misturas binárias das 3 ervas com os valores da adição das ervas isoladas a 0,1%, observa-se que as misturadas foram menos eficientes na prevenção da oxidação lipídica dentro da faixa de estudo (Figura 12).



As colunas com a mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de significância
 $Cv = 1,744\%$; $D.M.S. 5\% = 2,721$

Figura 12 - Valores de TBARS das 3 ervas isoladas e das misturas binárias a 0,1%

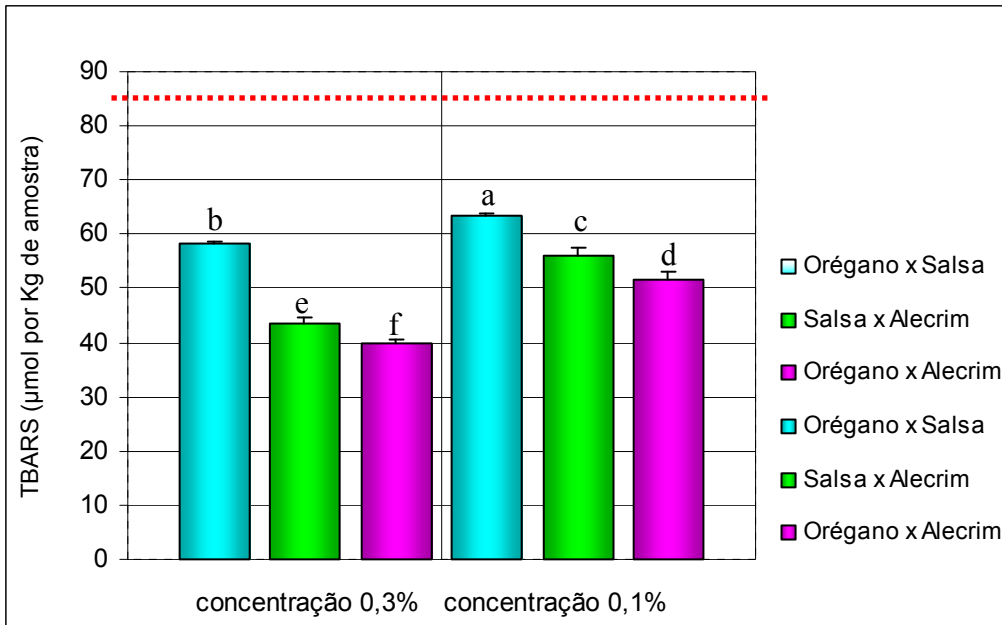
No entanto quando se analisam os valores de TBARS das misturas binárias e das ervas isoladas a 0,3% a situação se inverte de uma maneira geral já que duas das misturadas binárias (orégano e alecrim; salsa e alecrim) foram mais eficientes na prevenção da oxidação lipídica. Os valores de TBARS da combinação da salsa com o orégano foram os que mais se aproximaram dos valores do controle, se comportando como uma exceção. Nessa análise é possível verificar que o alecrim utilizado juntamente com outras ervas talvez tenha um papel fundamental para os reduzidos valores encontrados (Figura 13).



As colunas com a mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de significância
 Cv = 1,486% ; D.M.S. 5% = 2,356

Figura 13 - Valores de TBARS das 3 ervas isoladas e das misturas binárias a 0,3%

Para uma análise isolada das misturas binárias das 3 ervas em duas concentrações (0,1% e 0,3%) foi possível verificar que a 0,3% as misturas foram mais eficientes na prevenção da oxidação lipídica. O orégano e o alecrim juntos a 0,3% ($39,77 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$) foram melhores do que a salsa e o alecrim ($43,53 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$). A salsa junto ao orégano foi a mistura menos eficiente ($58,13 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$). Nota-se que essa ordem de eficiência das misturas se manteve na outra concentração estudada (0,1%) com valores de $51,67 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$, $56,08 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$, $63,27 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$. Novamente, nas duas concentrações em questão, pode se suspeitar que o alecrim seja uma erva que se comporta com eficiência quando existe sinergismo com outra erva (Figura 14).

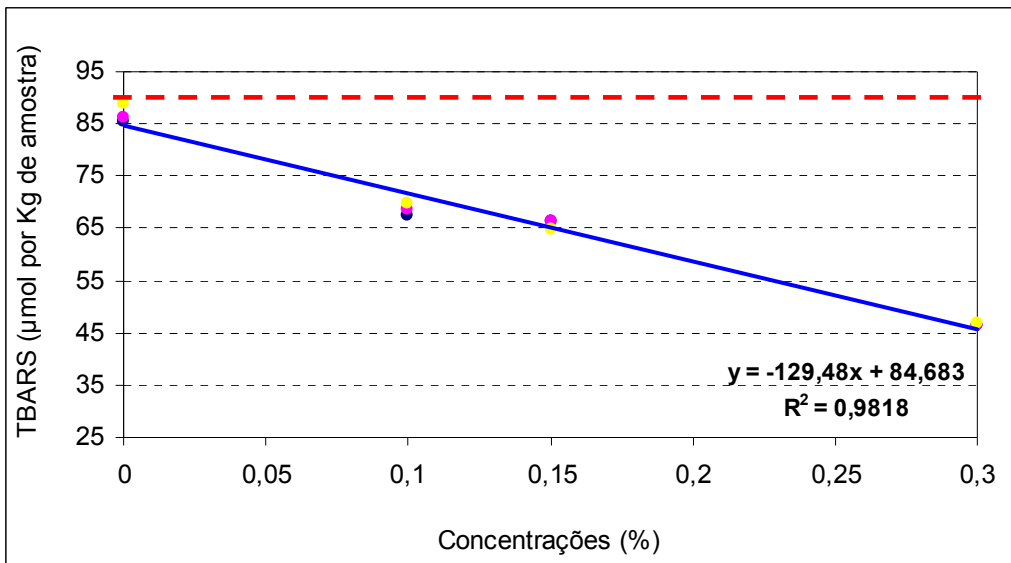


As colunas com a mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de significância
 $C_v = 1,372\%$; $D.M.S. 5\% = 1,939$

Figura 14 - Valores de TBARS das misturas binárias a 0,1% e 0,3%

Conclui-se que as misturas binárias são mais eficientes em maiores concentrações, porém mantém a sequência orégano com alecrim, seguido de alecrim com salsa e do orégano com a salsa. Nessas misturas binárias os valores sugerem que a salsa seria a erva menos eficiente e o alecrim, o mais eficiente. Ainda é possível concluir dentro da faixa de estudo que o orégano combinado ao alecrim a 0,3% equivale à salsa a 0,1%.

No caso das misturas ternárias foi verificado, dentro da faixa estudada, que o sinergismo é benéfico conforme a concentração vai sendo aumentada. O mesmo ocorre nas misturas binárias conforme já discutido. Para a mistura ternária das ervas a 0,3% houve um decréscimo de 49,83% nos valores de TBARS, seguidos de 24% e 20% a 0,15% e 0,1% respectivamente (Figura 15).



desvio padrão dos pontos em 0%: 1,726; desvio padrão dos pontos em 0,15%: 0,934; desvio padrão dos pontos em 0,3%: 0,168

Figura 15 - Valores de TBARS das misturas ternárias em 3 diferentes concentrações

Kelleher et al. (1994) correlacionaram teores de até $2 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$ de amostra com o odor suave (frescor desejável) do filé de savelha, e de $2 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$ a $3,27 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$ com o odor de ranço. Neiva (2003) trabalhando com sardinha fresca desembarcada no porto de Santos-SP, após armazenamento em gelo triturado, por período não superior a 2 dias, encontrou valores médios de TBARS de até $5,7 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$ apontando assim para possíveis falhas nas operações a bordo. Segundo Pereira e Tenuta (2005), o conteúdo médio de TBARS ($6,6 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$) indicou que a sardinha comercializada em feira livre (varejo), antes do defeso, apresentou um nível de peroxidação lipídica bem maior, quase 5 vezes mais, que o verificado em relação à da comercializada na CEAGESP (atacado; $1,6 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$). No caso da sardinha descongelada comercializada em feiras livres, oferecida durante o defeso, o valor médio da concentração de TBARS ($35 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$) foi cerca de 40 vezes maior que o da sardinha fresca comercializada na CEAGESP e ao redor de 9 vezes em relação ao produto fresco obtido em feiras livres. Níveis de até $72 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$ foram detectados. Das amostras analisadas, 71% estariam rancificadas de acordo com Kelleher e colaboradores (1994). Pereira e Tenuta (2005) constataram um teor médio de TBARS de $25 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$ na sardinha salmourada

integral. Este resultado é mais alto que o da sardinha fresca, comercializada na CEAGESP e nas feiras livres, mas abaixo do da sardinha descongelada vendida em feiras livres. Os resultados de TBARS para sardinha anchovada mostraram um valor médio de $20,5 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$, intermediário entre os das amostras lavadas ($6 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$) e não-lavadas ($19 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$) de sardinha salmourada. Ayensa et al. (1993) verificaram a ocorrência da oxidação em níveis de $229 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$ em sardinha (*Sardina pilchardus*) anchovada, no 40º dia de processamento, reduzida posteriormente a $23 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$ no 180º dia. Estudos feitos por Aubourg, Soletto e Gallardo (1997) com *Sardina pilchardus*, registraram valores de até $37 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$ quando refrigerada sob gelo por 9 dias. García e Careche (2002) propuseram a conservação da sardinha em água salgada e gelo até chegar ao consumidor, e nessas condições detectaram valores máximos de $3,5 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$. Simeonidou, Govaris e Varelziz (1998) detectaram até $85 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$ na sardinha *Sardine mediterraneus* estocada em gelo por 6 dias. Pacheco et al. (2000) detectaram $160 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$ em sardinha *Sardinops sagax caerulea*, após 11 dias estocadas sob o gelo. Robles-Martinez, Cervantes e Ke (1982) *apud* Kurade e Baranowski (1987) indicaram valores abaixo de $6 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$ como indicadora de rancidez para o pescado congelado. Dentre os trabalhos feitos com a sardinha *Sardina pilchardus* congelada, Careche e Tejada (1990) registraram $49 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$ após 6 meses de estocagem. Aubourg et al. (1998) observaram valores máximos para TBARS de $23 \mu\text{mol.Kg}^{-1}$ após 4 meses de estocagem.

Existem estudos que mostram que baixos valores de TBARS em pescado podem estar subestimando consideravelmente a oxidação lipídica ocorrida, já que pode ocorrer uma combinação entre o malonaldeído e as proteínas (PICHE et al., 1988; KUBOW, 1992; GIRÓN et al., 2002).

Ao analisar a oxidação lipídica dos filés de sardinha adicionados de ervas foi verificado que em todos os casos estes não apresentaram a mesma tendência do controle (sem as ervas) no qual possivelmente houve uma acelerada formação de peróxidos, devido ao aumento de temperatura no cozimento e a catalise metálica que se contrapõe ao efeito antioxidante.

Palizch et al. (1969) referiram-se também à necessidade de se considerar o efeito da concentração. Helmann e Von Pezold (1957) observaram que com o aumento da concentração de certas especiarias pode promover o início de uma vagarosa ação pró-oxidativa nos alimentos estudados.

Sobre o efeito da concentração para conclusões definitivas são necessários mais estudos envolvendo substâncias ativas purificadas. Estudos desse tipo sanariam as dúvidas quanto às formas de ação antioxidante de cada composto individualmente em lugar dos desempenhos verificados quando se trabalham com extratos brutos ou com as ervas desidratadas como neste trabalho.

Maillard, Cuvelier e Berset (2003) estudaram a interação entre antioxidantes fenólicos em sistemas binários induzidos à oxidação com o intuito de analisar o efeito protetor das misturas e compará-las com os antioxidantes usados isoladamente. A interação foi determinada com o uso de dois antioxidantes simultaneamente em iguais proporções em dispersão aquosa. O efeito de sinergismo foi observado entre o ácido rosmarínico com a quercetina ou com o ácido caféico. Efeitos antagonistas foram observados em diversas misturas. Esses efeitos podem ser parcialmente explicados pelos mecanismos de regeneração entre os antioxidantes que depende das estruturas químicas das moléculas e da possível formação de complexos instáveis entre as moléculas.

4.6. Conclusão

Os estudos realizados confirmaram a presença de compostos fenólicos com potencial antioxidante nas ervas desidratadas. A relação entre a concentração de fenóis totais e a capacidade de retardar a oxidação nos filés de sardinha processados foi significativa, visto que, de uma maneira geral, as ervas com maiores concentrações de compostos fenólicos foram justamente as com maior atividade antioxidante quando analisadas através dos valores de TBARS. Essa relação sugere que a contribuição dos compostos fenólicos nesse modelo foi relevante.

A salsa, o orégano e o alecrim foram as ervas mais eficientes na prevenção da oxidação. Quando empregadas isoladamente, o aumento de concentração das ervas de

0,1% para 0,3% não provocou um aumento correspondente na capacidade antioxidante, contudo, não se pode afirmar que houve atividade pró-oxidante, visto os valores de TBARS terem se mantido abaixo dos valores do controle. Quando presentes em misturas binárias, o aumento da concentração de ervas de 0,1% para 0,3% resultou numa maior eficiência. Foi possível verificar que o alecrim utilizado juntamente com outras ervas teve um papel fundamental para os reduzidos valores encontrados dentro da faixa de estudo. Conclui-se que as misturas binárias são mais eficientes em maiores concentrações e as ervas isoladas em menores. No caso das misturas ternárias, o sinergismo ocorreu com o aumento das concentrações.

Referências

ABDEL-FATTAH, L.E.; EL-ZEANY, B.A. Effect of spices on the autoxidation of fatty foods. **Rivista Italiana delle Sostanze Grasse**, Milano, v.56, p. 441-443, 1979.

AKHTAR, P.; GRAY, J.I.; BOOREN, A.M.; GARLING, D.L. Effect of dietary components and surface application of oleoresin rosemary on lipid stability of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle during refrigerated and frozen storage. **Journal of Food Lipids**, St John, v.5, n.1, p.43-45, 1998.

AMAROWICZ, R.; WANASUNDARA, U. N.; KARAMAC, M.; SHAHIDI, F. Antioxidant activity of ethanolic extract of mustard seed. **Nahrung**, Weinheim v.40, n.5, p. 261-268, 1996.

ANDRADE, A. D.; RUBIRA, A. F.; MATSUSHITA, M.; SOUZA, N. E. w3 fatty acids in freshwater fish from South Brasil. **Journal of The American Oil Chemists' Society**, Champaign, v.72, n.10, p.1207-1210, 1995.

AQUARONE, E.; ALMEIDA LIMA, U.; BORZANI, W. **Alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo: E. Blücher, 1983. 227 p.

AUBOURG, S.P.; SOTELO, C.G.; GALLARDO, J.M. Quality assessment of sardines during storage by measurement of fluorescent compounds. **Journal of Food and Science**, Chicago, v. 62, n.2, p.295-304, 1997.

AUBOURG, S.P.; SOTELO, C.G.; PÉREZ-MARTÍN, R. Assessment of quality changes in frozen sardine (*Sardina pilchardus*) by fluorescence detection. **Journal of American Oil Chemists' Society**, Champaign, v.75, n.5, p.575-580, 1998.

AYENSA, G.; BANDARRA, N.; NUNES, M.L.; PASCUAL, C. Evolución de los ácidos grasos de la *Sardina pilchardus* a lo largo del proceso de anchoado. **Alimentaria**, Madrid, v. 239, p. 77-80, 1993.

AZIZ, N.H.; FARAG, S.E.; MOUSA, L.A.; ABO-ZAID, M.A. Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. **Microbios**, Cambridge, v.93, n.374, p.43-54, 1998.

BADOLATO, E.S.; CARVALHO, J.B.; AMARAL MELLO M.R.P.; TAVARES M.; CAMPOS N.C.; AUED-PIMENTEL, S.; MORAIS C Centesimal composition of fatty acids and caloric-value of five marine fish species in the different seasons. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.54, n.1, p.27-35, 1994.

BATTEMAN, L. Olefin oxidation. **Quarterly Review**, London, v.8, p.147-168, 1954.

BERTULLO, V.H. **Tecnología de los productos y subproductos de pescados, moluscos y crustáceos**. Buenos Aires: Hemisferio Sur, 1975. 538 p.

BORS, W.; HELLER, W.; MICHEL, C.; SARAN, M. Flavonoids as antioxidants: determination of radical-scavenging efficiencies. **Methods in Enzymology**, New York, v.186, p.343-355, 1990.

BOYD, L.C.; GREEN, D.P.; GIESBRECHT, F.B.; KING, M.F. Inhibition of oxidative rancidity in frozen cooked fish flakes by tertiary-butylhydroquinone and rosemary extract. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.61, n.1, p.87-93, 1993.

BRACCO, U.; LOLIGER, J.; VIRET, J.I. Production and use of natural antioxidants, **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v.58, p. 686-690, 1981.

BRIESKORN, C.; DOMLING, H. J. Carnosic acid as an antioxidant in rosemary and sage leaves. **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung**, Berlin, v.141, p.10-16, 1969.

CARECHE, M.; TEJADA, M. Effect of neutral and oxidized lipids on protein functionality in megrim (*Lepidorhombus whiffiagonis* W.) and sardine (*Sardina pilchardus* R.) during frozen storage. **Food Chemistry**, Kidlington, v. 37, p. 275-287, 1990.

CHANG, S. S.; OSTRIC-MATIJESEVIC, B.; HSIEH, O. A. L.; HUANG, C.L. Natural antioxidants from rosemary and sage. **Journal of Food Science**, Chicago, v.42, p.1102-1106, 1977.

CHIPAULT, J.R.; MIZUNO, G.R.; LUNDBERG, W.O. The antioxidant properties of spices in foods. **Food Technology**, Champaign, v.10, n.5, p.209-211, 1956.

COS, P.; YING, L.; CALOME, M.; HU, J. P.; CIMANGA, K.; VAN POEL, B.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A. J.; VAN DEN BERGHE, D. Structure activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. **Journal of Natural Products**, Pittsburgh, v.61, n.1, p.71-76, 1998.

CUVELIER, M. E.; RICHARD, H.; BERSET, C. Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v.73, p.645-652, 1996.

DAPKEVICIUS, A.; VAN BEEK, T. A.; LELYVELD, G. P.; VAN VELDHUIZEN, A.; DE GROOT, A.; LINSSEN, J. P. H. Isolation and structure elucidation of radical scavengers from *Thymus vulgaris* leaves. **Journal of Natural Products**, Pittsburgh, v.65, p.892-896, 2002.

DONNELLY, J.K.; ROBINSON, D.S. Invited review. Free radical in foods. **Free Radical Research**, Yverdon, v.22, n.2, p.147-176, 1995.

DORMAN, H. J. D.; BACHMAYER, O.; KOSAR, M.; HILTUNEN, R. Antioxidant properties of aqueous extracts from selected Lamiaceae species grown in Turkey, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.52, p. 762-770, 2004.

DORMAN, H. J. D.; KOSAR, M.; KAHLOS, K.; HOLM, Y.; HILTUNEN, R. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties, and cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.51, p.4563-4569, 2003.

DORMAN, H.J.D.; PELTOKETO, A; HILTUNEN, R.; TIKKANEN, M.J. Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. **Food Chemistry**, Barking, v.83, p.255-262, 2003.

DUGAS, A. J. Jr.; CASTAÑEDA-ACOSTA, J.; BONIN, G. C.; PRICE, K.; FISCHER, N. H.; WINSTON, G. W. Evaluation of the total peroxy radical-scavenging capacity of flavonoids: structure–activity relationships. **Journal of Natural Products**, Pittsburgh, v.63, n.3, p.327-331, 2000.

ERSOY, B.; YILMA, A.B. Frozen Storage of African Catfish (*Clarias gariepinus* BURCHELL, 1822) Mince Balls. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, Turquia, v.27, p.827-832, 2003.

FARMER, E. H.; BLOOMFIELD, G. F.; SUNDARALINGAM, A.; SUTTON, D. A. The course and mechanism of autoxidation reactions in olefinic and polyolefinic substances, including rubber. **Transactions of the Faraday Society**, London, v. 38, p. 348-356, 1942.

FERNÁNDEZ, M.A.; SAENZ, M.T.; GARCIA, M.D. Anti-inflammatory activity in rats and mice of phenolic acids isolated from *Scrophularia frutescens*. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, London, v.50, n.10, p.1183-1186, 1998.

GAMACHE, P.; RYAN, E.; ACWORTH, I.N. Analysis of phenolic and flavonoid compounds in juice beverages using high-performance liquid chromatography with coulometric array detection. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v.635, n.1, p.143-150, 1993.

GARCÍA, R.; CARECHE, M. Influence of chilling methods on the quality of sardines (*Sardina pilchardus*). **Journal Food Protection**, Des Moines, v. 65, n. 6, p. 1024-1032, 2002.

GERHARDT, U.; SCHRÖTER, A. Antioxidative wirkung von Gewürzen. **Gordian**, Hamburg, v.9, p.171-176, 1983.

GIRÓN-CALLE, J.; ALAIZ, M.; MILLÁN, F.; RUIZ-GUTIÉRREZ, V.; VIOQUE, E. Bound malonaldehyde in foods: bioavailability of the N-2-propenals of lysine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 50, p. 6194-6198, 2002.

GUERRA, N. B.; LAJOLO, F. M. Ação antioxidante de especiarias face diferentes atividades de água. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.1, p.45-50, 2005.

GUTIERREZ, L.E.; SILVA, R.C.M. Composição em ácidos graxos de peixes comercialmente importantes do Brasil. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.50, n.3, p.478-483, 1993.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2.ed. Campinas: Editora.Unicamp, 1999. 212p.,

HEGNAUER, R. **Chemotaxonomie der Pflanzen** (Chemotaxonomy of the Plants), Basel, Stuttgart : Birkhäuser,1989. 718p.

HELMANN, W.; VON PEZOLD, H. Uberdie prooxidierende wirkung von antioxydantien. **Fette Seifen Anstrichm**, Berlin, v.59, p.330, 1957.

HERRMANN, K. Occurence of hydroxybenzoic acids and hydroxycinnamic acids in spices, **Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und Forschung**, Berlin, v.171, p.193-199, 1980.

HERRMANN, K.; SCHFITTE, M.; MIILLER, H.; DESMER, R. The antioxidative action of spices. **Deutsche Lebensmittel Rundschau**, Stuttgart, v.77, p.134-139, 1981.

HOLLMAN, P.C.; KATAN, M.B. Bioavailability and health effects of dietary flavonoids in man. **Archives of Toxicology Supplement** ,Berlin, v.20, p.237-248, 1998.

ITÔ, Y.; SANCHES, L.; SILVA, D.R. Seasonal variation of the chemical composition of sardine. **Contribuição Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo**, São Paulo, n. 6, p. 1-8, 1969.

IVANOVA, A.; MILKOVA, T.; GALABOV, A.S.; NIKOLAEVA, L.; VOYNOVA, E. Transformation of cholanic acid derivatives into pharmacologically active esters of phenolic acids by heterogeneous Wittig reaction. **Zeitschrift fuer Naturforschung**, Tuebingen, v.52, n.7/8, p.516-521, 1997.

JUNTACHOTE, T.; BERGHOFER, E.; SIEBENHANDL, S.; BAUER, F. Antioxidative effect of added dried Holy basil and its ethanolic extracts on susceptibility of cooked ground pork to lipid oxidation. **Food Chemistry**, Barking, v.100, p.129-135, 2007.

KANATT, S.R.; CHANDER, R.; SHARMA, A. Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation-processed lamb meat. **Food Chemistry**, Barking, v.100, p.451-458, 2007.

KELLEHER, S.D.; HULTIN, H.O.; WILHELM, K.A. Stability of mackerel surimi prepared under lipid-stabilizing processing conditions. **Journal of Food Science**, Chicago, v.59, n.2, p. 269-271, 1994.

KUBOW, S. Routes of formation and toxic consequences of lipid oxidation products in foods. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v.12, p.63-81, 1992.

LAGOURI, V.; BOSKOU, D. Nutrient antioxidants in oregano. **International Journal of Food Science and Nutrition**, Birmingham, v.47, p.493-497, 1996.

LAI, S. M.; GRAY, J. I.; SMITH, D. M.; BOOREN, A. M.; CRACKEL, R. L.; BUCKLEY, D. J. Effects of oleoresin rosemary, tertiary butylhydroquinone, and sodium tripolyphosphate on the development of oxidative rancidity in restructured chicken nuggets. **Journal of Food Science**, Chicago, v.56, p.616-620, 1991.

LAUGHTON, M. J.; EVANS, P. J.; MORONEY, M. A.; HOULT, J. R. S.; HALLIWELL, B. Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives. **Biochemical Pharmacology**, London, v.42, p.1673-1681, 1991.

LEWUS, C.B.; KAISER, A.; MONTVILLE, T.J. Inhibition of food-borne bacterial pathogens by bacteriocins from lactic acid bacteria isolated from meat. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.57, p.1683-1688, 1991.

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

MAILLARD, P. M. N.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Antioxidant activity of phenolic compounds in 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH)-induced oxidation: synergistic and antagonistic effects. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v.80, n.10, p.10, 2003.

MALONEY, J. F.; KAREL, M.; LABUZA, T. P. Autoxidation of methyl linoleate in freeze dried model systems. I. Effect of water on the autocatalyzed oxidation. **Journal of Food Science**, Chicago, v.31, p.878-884, 1966.

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

MULLER, H.G.; TOBIN, G. **Nutrición y ciencia de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1991. 321 p.

NAGEN, T.J.; ALBUQUERQUE, T.T.O.; MIRANDA, L.C.G. Ácidos fenólicos em cultivares de soja: ação antioxidante. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v.35, n.1, p.129-138, 1992.

NAKATANI, N. Natural antioxidants from spices. In: HO, C.T.; LEE, C.Y.; HUANG, M.T. **Phenolic compounds in food and their effects on health. II. Antioxidants and cancer prevention**. Washington, DC: American Chemical Society, 1992. p.72-86.

NAKATANI, N. Chemistry of antioxidants from Labiatae herbs. In: Huang, M. T.; Osawa, T.; Ho, C.T.; Rosen, R.T. **Food Phytochemicals for Cancer Prevention II. Teas, Spices and Herbs**. Washington DC: American Chemical Society, 1994. p. 144-153.

NEIVA, C.R.P. **Obtenção e caracterização do minced fish de sardinha e sua estabilidade durante a estocagem sob congelamento**. 2003. 78 p. Dissertação de (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

NIELSEN, H.J.S.; MOLINA, D.P. Antioxidative effect of hop extract in a meat model. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 45., 1999. **Proceedings...** Yokohama, 1999. p.456-457.

OKTAY, M.; GULCIN, I.; KUFREVIOGLU, O. I. Determination of in vitro antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, Berlin, v.36, p.263-271, 2003.

OLLANKETO, M.; PELTOKETO, A.; HARTONEN, K.; HILTUNEN, R.; RIEKKOLA, M. L. Extraction of sage (*Salvia officinalis* L.) by pressurized hot water and conventional methods: antioxidant activity of the extracts. **European Food Research and Technology**, Berlin, v.215, p.158-163, 2002.

OOMAH, B. D.; MAZZA, G. Flavonoids and antioxidative activities in buckwheat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.44, n.7, p.1746-1750, 1996

OOMAH, B.D.; KENASCHUK, E.O.; MAZZA, G. Phenolic acids in flaxseed. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.43 n.8, p.2016-2019, 1995.

PACHECO-AGUILAR, R.; LUGO-SÁNCHEZ, M.E.; ROBLES-BURGUEÑO, M.R. Postmortem biochemical and functional characteristic of Monterey sardine muscle stored at 0°C. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 65, n. 1, p.40-47, 2000.

PALIZCH, A.; SCHULTZE, H.; METZEL, F.; BAAS, H. Untersuchungen über die Wirkung von Naturgewürzen, Gewürzextrakten, ätherischen Ölen, Extraktionsrückständen und synthetischen Antioxidantien auf den Abbau von Schweinefett und Modell-Lipiden. **Die Fleischwirtschafft**, Frankfurt, v.10, p.1349-1354, 1969.

PASTORIZA, L.; SAMPEDRO, G.; HERRERA, J.J. Effects of mincing and frozen storage on functional properties of ray muscle (*Raja clavata*). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.66, p.35-44, 1994.

PELEG, H.; BODINE, K.K.; NOBLE, A.C. The influence of acid on astringency of allium and phenolic compounds. **Chemical Senses**, Oxford, v.23, n.3, p.371-378, 1998.

PEREIRA, A. A. F.; TENUTA, A. F. Evaluation of conditions of consumption of the sardine *Sardinella brasiliensis*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.4, p. 720-725, 2005.

PICHE, L.A.; COLE, P.D.; HADLEY, M.; VAN DEN BERGH, R.; DRAPER, H.H. Identification of N-ε-(2-propenal) lysine as the main form of malonaldehyde in food digesta. **Carcinogenesis**, Oxford, v. 9, n. 3, p. 473-477, 1988.

PIEADADE, K.R.; RACANICCI, A.M.C.; PINO, L.M.; PINO, A.P.M.; REGITANO-D'ARCE, M. A.B. Atividade antioxidante de orégano (*Origanum vulgare*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*) sobre a estabilidade oxidativa de sardinha. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL TENDÊNCIA E INOVAÇÕES EM TECNOLOGIA DE ÓLEOS E GORDURAS, 2., 2005, Florianópolis. **Proceedings...** Florianópolis/SC: Sociedade Brasileira de Óleos e Gorduras e UFSC, 2005. 1 CD-Rom.

PINO, A. P. M.; PINO, L. M.; RACANICCI, A.M.C.; MENTEN, J. F. M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Estabilidade oxidativa de almôndegas de peito de frango pré-cozidas adicionadas de folhas de coentro e salsa sob refrigeração. In: CONG. BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 20. 2006, Curitiba. **Anais...** Alimentos e agroindústrias brasileiras no contexto internacional, 2006. 1 CD-ROM

PINO, L. M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; RACANICCI, A. M. C. Estabilidade oxidativa da carne de frangos alimentados com diferentes fontes lipídicas, sob congelamento. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 19., 2004, Recife. **Anais...** Recife, 2004. 1 CD-ROM.

RACANICCI, A.M.C.; DANIELSEN, B.; MENTEN, J.M.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B.; SKIBSTED, L.H. Antioxidant effect of dittany (*Origanum dictamnus*) in pre-cooked chicken meat balls during chill-storage in comparison to rosemary (*Rosmarinus officinalis*). **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 218, p. 521-524, 2004.

- RESCHKE, A. Capillary gas chromatographic determination on rosmarinic acid in leafy spices, **Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und Forschung**, Berlin, v.176, p.116-119, 1983.
- RICE-EVANS, C.; MILLER, N.; PAGANGA, G. Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.
- ROBLES-MARTINEZ, C.; CERVANTES, E.; KE, P.J. Recommended method for testing the objective rancidity development in fish based on TBARS formation. Can.Tech. Rpt. Fish. Aquatic Sci., n.1089, 1982. apud KURADE, S.A.; BARANOWSKI, J.D. Prediction of shelf life of frozen minced fish in terms of oxidative rancidity as measured by TBARS number. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 52, n. 2, p. 300-302, 1987.
- ROCKLAND, L. G. Saturated salt solutions for static control of relative humidity between 5 a 40 °C. **Analytical Chemistry**, v.32, n.10, p.1375-1376, 1960.
- ROCKLAND, L. G. Water activity and storage stability. **Food Technology**, Champaign, v.23, p.1241-1248, 1969.
- SAITO, Y.; KIMURA, Y.; SAKAMOTO, T. Antioxidant effect of some spices. **Journal of Japanese Society of Nutrition and Food Science**, Tokyo, v. 29, p.404-411, 1976.
- SANT'ANA, L.S.; MANCINI-FILHO, J. Ação antioxidante de extratos de alecrim (*Rosemary officinalis* L.) em filés de peixes da espécie pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 2, n. 1, p. 27-31, 1999.
- SANT'ANA, L.S.; MANCINI-FILHO, J. Influence of addition of antioxidants in vivo on the fatty acid composition of fish fillets. **Food Chemistry**, Barking, v.68, p.175-178, 2000.
- SAWA, T.; NAKAO, M.; AKAIKE, T.; ONO, K.; MAEDA, H. Alkylperoxyl radical-scavenging activity of various flavonoids and other phenolic compounds: Implications for the anti-tumor-promoter effect of vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.47, p.397-402, 1999.
- SERDAROGLU, M.; FELEKOGLU, E. Effects of using rosemary extract and onion juice on oxidative stability of sardine (*Sardina pilchardus*) mince. **Journal of Food Quality**, Westport, v.28, n.2, p.109-120, 2005.
- SETO, Y.; LIN, C.C.; ENDO, Y.; FUJIMOTO, K. Retardation of lipid oxidation in blue sprat by hot water tea extracts. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.85, n.7, p.1119-1124, 2005.

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

SIMEONIDOU, S.; GOVARIS, A.; VARELTZIS, K. Quality assessment of seven Mediterranean fish species during storage on ice. **Food Research International**, Toronto, v.30, n.7, p. 479-484, 1998.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTO´ S, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, Nova York, v.299, p.152-178, 1999.

SØRENSEN, G.A.; JØRGENSEN S.S. Combined sampling and delay unit for flow injection analysis. The automated determination of 2-thiobarbituric acid reactive substances in foods **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam,v. 322, n.1, p. 69-76, 1996.

SZANTO NEMETH, F. Inhibition of rancidity of fats by paprika and tomato seeds. **Acta Alimentaria**, Budapest, v.9, p.173-187, 1980.

TAKACSOVA, M.; PRIBELA, A.; FAKTOROVA, M. Study of the antioxidative effects of thyme, sage, juniper and oregano. **Nahrung**, Weinheim, v.39, n.3, p.241-243, 1995.

TRIANANTAPHYLLOU, K.; BLEKAS, G.; BOSKOU, D. Antioxidative properties of water extracts obtained from herbs of the species Lamiaceae. **International Journal of Food Science and Nutrition**, Birmingham, v.52, p.313-317, 2001.

TRINDADE, R. A.; SALUM, D. C.; ANDRADE-WARTHA, E. R. S.; SILVA, M.A.; AQUINO, S.; MANCINI-FILHO, J.; VILLAVICENCIO, A. L. C. H. Comparative analysis of antioxidant activity of aqueous extracts of oregano (*Origanum vulgare*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) by β -carotene/linoleic acid system. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.72, n.2, p.1-64, 2005.

TROUILLA, P.; CALLISTE, C.A.; ALLAIS, D.P.; SIMON, A.; MARFAK, A.; DELAGE, C. Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative properties of sixteen water plant extracts used in the limousine countryside as herbal teas. **Food Chemistry**, Barking, v.80, p.399-407, 2003.

URI, N. Metal ion catalysis and polarity of environment in the aerobic oxidation of unsaturated fatty acids. **Nature**, London, v.177, p. 1177, 1956.

VICHI, S.; ZITTERL-EGLESEER, K.; JUGL, M.; FRAZ, C. Determination of the presence of antioxidants deriving from sage and oregano extracts added to animal fat by means of assessment of the radical scavenging capacity by photochemiluminescence analysis, **Nahrung**, Weinheim, v.45, n.2, p.101-104, 2001.

YANAR, Y.; FENERCIOGLU, H. The utilization of carp (*Cyprinus carpio*) flesh as fish ball. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, Turquia, v.23, p.361–365, 1999.

YEN, G.C.; DUH, P. D. Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free-radical and active oxygen species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.42, p.629-632, 1994.

YOUNATHAN, T.M.; OON, J.K.; YUSOF, R.B.M. Control of heat induced oxidative rancidity in refrigerated shark and mackerel. **Journal of Food Science**, Chicago, v.48, n.1, p.176-178, 1983.

WANG, H.; CAO, G. H.; PRIOR, R. L. Total antioxidant capacity of fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.44, p.701-705, 1996.

WANG, M.; LI, J.; HO, G. S.; PENG, X.; HO, C. T. Isolation and identification of antioxidative flavonoid glycosides from thyme (*Thymus vulgaris* L.). **Journal of Food Lipids**, St John. V.5, p.313-321, 1998.

WANGENSTEEN, H.; SAMUELSEN, A. B.; MALTERUD, K. E. Antioxidant activity in extracts from coriander. **Food Chemistry**, Barking, v.88, p.293-297, 2004.

WOISKY R., SALATINO A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, London, v.37, n.2, p.99-105, 1998.

ZHENG, W.; WANG, S. Antioxidant activity and phenolic composition in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, n. 11, p. 5165-5170, 2001.

5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE ERVAS EM FILÉS DE SARDINHA PROCESSADOS: VALIDAÇÃO DE UM MODELO MATEMÁTICO

Resumo

O estudo do efeito da adição das ervas sobre a estabilidade oxidativa de filés de sardinha processados foi realizado através de técnicas de planejamento experimental e análise de superfícies de resposta. Os filés foram moídos, adicionados de sal e de ervas para a produção de bolas de carne, que foram cozidas e analisadas quanto ao acúmulo de compostos de ranço. Foi realizado um planejamento fatorial do tipo 2^3 com ponto central. As variáveis independentes estudadas foram as concentrações de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), orégano (*Origanum vulgare*) e salsa (*Petroselinum crispum*). A variável dependente (resposta) foi o valor de TBARS. A validação do modelo obtido foi realizada por meio de ensaios em condições estabelecidas a partir da análise das superfícies. Os resultados obtidos revelaram que, na faixa de estudo considerada, as três variáveis independentes apresentaram efeito significativo ($P \leq 0,05$). A adição das ervas e as suas combinações protegeram os filés da oxidação, já que o valor médio de TBARS foi significativamente inferior ao do tratamento sem adição de ervas. No entanto, a validação prática do modelo teórico não foi satisfatória, resultado da falta de ajuste detectada por meio da ANOVA. Os resultados obtidos demonstram a complexidade envolvida nas interações entre as ervas, indicando a necessidade da utilização de outros modelos matemáticos para o estudo do efeito das interações.

Palavras-chave: Estabilidade oxidativa; Ervas; TBARS; Antioxidantes naturais

Abstract

The study of the effect of the addition of the herbs on the oxidative stability of processed sardine filets was accomplished through techniques of experimental planning and analysis of surface response. The filets were minced, added of salt and herbs and fish balls were cooked. A factorial planning type 2^3 was adopted with central point. The independent variables studied were the rosemary (*Rosmarinus officinalis*), oregano (*Origanum vulgare*) and parsley (*Petroselinum crispum*) concentrations. The dependent variable (response) was the TBARS values. The model validation was accomplished through the established conditions starting from the analysis of the surfaces. The obtained results revealed that the three independent variables presented significant antioxidant effect ($P \leq 0,05$). The addition of the herbs and their combinations protected the filets from the oxidation. Since the medium values of TBARS were significantly lower in comparison with the treatment without herbs. However, the practical validation of the

theoretical model was not satisfactory, as a result of the lack of adjustment detected through the ANOVA. The obtained results demonstrate the complexity of the interactions among the herbs, indicating the need of other mathematical models for the study of this kind of interaction.

Keywords: Lipid stability; Herbs; TBARS; Natural antioxidants.

5.1 Introdução

A oxidação dos lípidios é a principal causa de deterioração e perda de qualidade de carnes e seus derivados e a busca por antioxidantes naturais eficientes e não nocivos à saúde humana como alternativas aos sintéticos, tem se intensificado recentemente (Yanishlieva et al., 2006). A capacidade quelante de certos compostos tem fundamentado diversos estudos aplicados à ação antioxidante em produtos cárneos (RACANICCI et al., 2004; PIEDADE et al., 2005; BARRETO, 1996; SOARES, 1998; LEAL, 2000). Racanicci et al. (2004) demonstraram que o orégano e o alecrim apresentaram ação antioxidantes em almôndegas de peito frango pré-cozidas e armazenadas sob refrigeração. Adicionado em 0,050% de folhas secas, o alecrim foi mais eficiente que o orégano. A atividade antioxidante de folhas secas de orégano e alecrim foi avaliada em almôndegas pré-cozidas de filés de sardinha armazenadas sob refrigeração durante 6 dias em embalagens de polietileno. O orégano foi mais eficiente na proteção das almôndegas contra oxidação lipídica do que o alecrim adicionado na mesma concentração (PIEADADE et al., 2005).

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da adição de ervas sobre a estabilidade oxidativa de filés de sardinha processados por meio da aplicação de técnicas de planejamento experimental e análise de superfície de resposta para obtenção de um modelo matemático, seguida da sua validação prática.

5.2 Procedimento Experimental

5.2.1 Preparo das ervas

As plantas foram adquiridas em vasos, as folhas foram desidratadas em estufa por 12 horas a 40°C ($\pm 3^\circ\text{C}$), moídas e armazenadas sob congelamento até sua utilização.

5.2.2 Processamento dos filés de sardinha

As sardinhas (*Sardinella brasiliensis*) foram adquiridas frescas. Os filés foram separados, pesados e moídos, acrescidos da concentração estabelecida de ervas e foram produzidas bolas com aproximadamente $30 \pm 0,5$ g, conforme descrito por Racanicci et al. (2004). O sal foi adicionado à carne triturada na concentração de 0,50%. As bolas foram embaladas a vácuo e cozidas em banho-maria durante 8 minutos a 100°C. Após o resfriamento em gelo, as amostras foram analisadas.triturados.

5.2.3 Análise da oxidação lipídica

A instalação da oxidação lipídica nas amostras foi avaliada pela quantificação dos compostos secundários através da determinação de TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances), conforme Madsen et al. (1998).

5.2.4 Delineamento experimental e análise estatística

Foi aplicado um planejamento experimental fatorial do tipo 2^3 , envolvendo 3 variáveis independentes (concentração de ervas). O delineamento experimental aplicado é apresentado na Tabela 8. O estudo do efeito da adição das ervas foi feito pelo método de superfície de resposta e análise de regressão múltipla, com o objetivo de definir as concentrações de maior poder antioxidante, através do ajuste de modelo

matemático de primeira ordem, incluindo termos lineares e as interações entre as variáveis independentes. O modelo obtido foi avaliado com base no coeficiente de determinação (R^2) e no teste F, realizado por meio da análise de variância com auxílio do aplicativo “Statística 7” e comparado ao valor da tabela de 95% de probabilidade para uma distribuição de referência. A validação prática do modelo estatístico obtido foi efetuada através da reprodução do experimento em condições estabelecidas e comparando-se os resultados obtidos experimentalmente com aqueles calculados a partir do modelo matemático proposto.

5.3 Resultados e Discussão

As bolas de peixe cozidas foram escolhidas como modelo para o estudo da oxidação lipídica tendo em vista os resultados positivos obtidos anteriormente (Racanicci et al., 2004; Piedade et al., 2005; Costa et al., 2007). A Tabela 8 apresenta o delineamento aplicado e os valores de TBARS das amostras.

Tabela 8 - TBARS de sardinha com adição das ervas (planejamento experimental fatorial - 2³)

Ensaio	variáveis independentes						variável dependente
	Salsa (%)		Orégano (%)		Alecrim (%)		TBARS
	valor codificado	valor real	Valor codificado	valor real	valor codificado	valor real	($\mu\text{mol.L}^{-1}$)*
1	-1	0	-1	0	-1	0	88,700
2	+1	0,3	-1	0	-1	0	53,008
3	-1	0	+1	0,3	-1	0	56,974
4	+1	0,3	+1	0,3	-1	0	58,130
5	-1	0	-1	0	+1	0,3	63,380
6	+1	0,3	-1	0	+1	0,3	43,533
7	-1	0	+1	0,3	+1	0,3	39,774
8	+1	0,3	+1	0,3	+1	0,3	46,440
9	0	0,15	0	0,15	0	0,15	65,724
10	0	0,15	0	0,15	0	0,15	65,712
11	0	0,15	0	0,15	0	0,15	64,014
12	0	0,15	0	0,15	0	0,15	65,525

*cada resultado é a média de análises em duplicata realizadas em 2 amostras

As três variáveis independentes apresentaram efeito linear significativo sobre o TBARS. A interação entre salsa e orégano foi significativa e promoveu aumento no valor de TBARS quando comparada com os efeitos das ervas utilizadas isoladamente. Apesar de significativa, a interação entre salsa e alecrim apresentou um efeito reduzido. A interação entre orégano e alecrim não foi estatisticamente significativa e esse foi ignorado e para a determinação do modelo matemático de primeira ordem representado na equação (modelo codificado):

$$\text{TBA } (\mu\text{mol L}^{-1}) = 59,243 - 5,964 \times (\% \text{ salsa}) - 5,913 \times (\% \text{ orégano}) - 7,961 \times (\% \text{ alecrim}) + 7,92014 \times (\% \text{ salsa} \times \% \text{ orégano}) + 2,669 \times (\% \text{ salsa} \times \% \text{ alecrim})$$

A análise de variância (ANOVA), apresentada na Tabela 9, demonstra que o modelo proposto é válido, pois a regressão é estatisticamente significativa ($F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabelado}}$). No entanto, a falta de ajuste também foi estatisticamente significativa, o que em parte pode ser explicado pelo erro puro, que foi muito baixo. Apesar da falta de ajuste ser significativa, o coeficiente de determinação (R^2) foi bom, indicando que 87% da variação é explicada pela regressão. Nas Figuras 16, 17 e 18 são apresentadas as superfícies ajustadas ao modelo.

Tabela 9 - Análise de variância (ANOVA) para o TBARS

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média Quadrática	F
Regressão	1630,116	6	271,686	5,76
Resíduo	235,829	5	47,166	
Falta de ajuste	233,788	2	116,894	171,90
Erro puro	2,041	3	0,680	
Total	1865,945	11		

$$R^2 = 0,87; F_{0,95;6;5} = 4,95; F_{0,95;2;3} = 9,55$$

A validação prática do modelo experimental obtido foi realizada através da realização de ensaios sob diferentes condições. Utilizando-se a combinação das três ervas a 0,1% obteve-se o valor de TBARS de $69,401 \mu\text{mol.kg}^{-1}$. Comparando-se os resultados obtidos com a utilização do modelo matemático ao resultado obtido experimentalmente, pode-se confirmar a conclusão teórica de que o modelo proposto é preditivo. No entanto, quando se adicionaram 0,1% de cada erva em misturas binárias, os valores experimentais observados foram $51,670 \mu\text{mol.kg}^{-1}$ (alecrim e orégano), $56,089 \mu\text{mol.kg}^{-1}$ (alecrim e salsa) e $63,279 \mu\text{mol.kg}^{-1}$ (salsa e orégano). Tais valores não correspondem aos indicados pela aplicação do modelo matemático, conforme pode ser observado pela análise das superfícies apresentadas nas Figuras 16, 17 e 18.

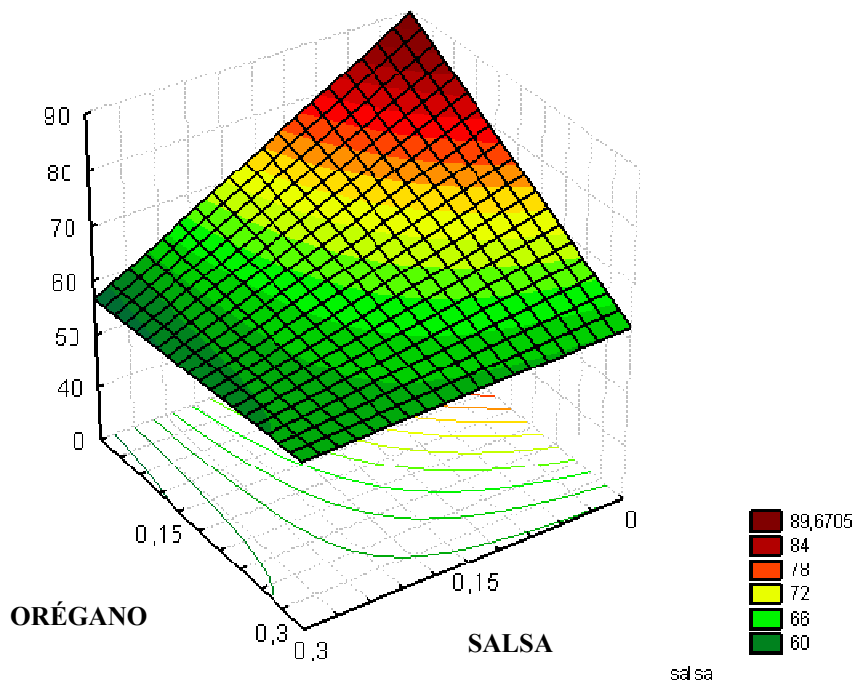


Figura 16 - Efeito da adição de ervas sobre o valor de TBARS de filés de sardinha cozidos: variável concentração de alecrim fixada em 0%

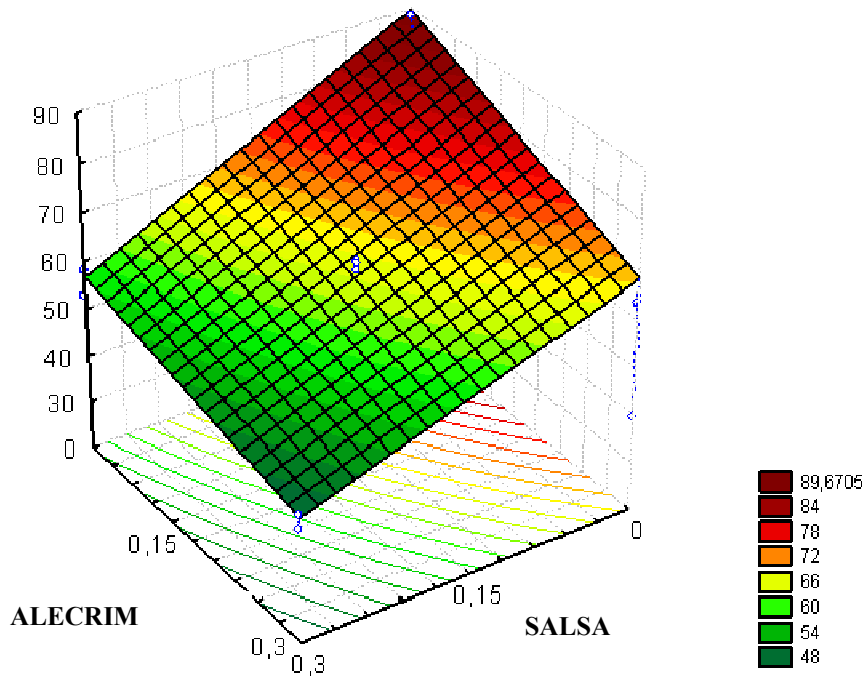


Figura 17 - Efeito da adição de ervas sobre o valor de TBARS de filés de sardinha cozidos: variável concentração de orégano fixada em 0%

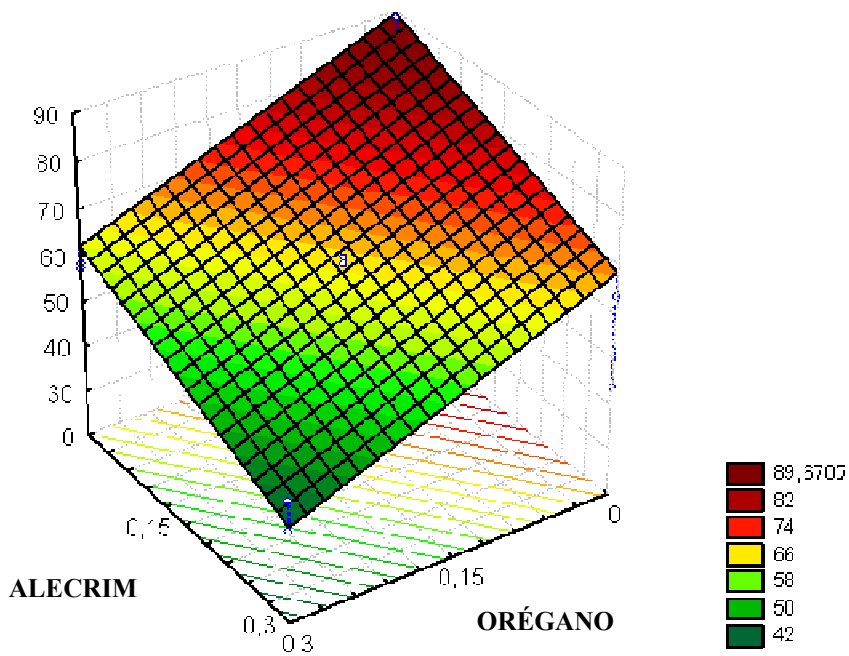


Figura 18 - Efeito da adição de ervas sobre o valor de TBARS de filés de sardinha cozidos: variável concentração de salsa fixada em 0%

5.4 Conclusões

A adição das ervas testadas e das suas combinações sobre filés de sardinha cozidos foi bastante eficiente para evitar a oxidação lipídica, já que o valor médio de TBARS foi significativamente inferior ao do tratamento sem adição de ervas. No entanto, a validação prática do modelo teórico em questão não foi satisfatório, resultado da falta de ajuste e da complexidade envolvida nas interações entre as ervas, indicando a necessidade da utilização de outros tipos de modelos matemáticos para um estudo prospectivo de combinações e possíveis efeitos sinérgicos de ervas aromáticas em diferentes concentrações.

Referências

BARRETO, A.C.S. **Efeito da adição de antioxidantes naturais na oxidação lipídica e cor de carne de frango e derivado**. 1996. 74p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 1996.

COSTA, L.B.; RACANICCI, A.M.C.; MIYADA, V.S.; PIEDADE, K.R.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B. Antioxidant activity of natural extracts in pre-cooked pork meat balls. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 53., 2007. **Proceedings...** Pequim. 1 CD-ROM.

LEAL, E.S. **Extração, obtenção e caracterização parcial de ácido fítico do germe grosso de milho e aplicação como antioxidante**. 2000. 86p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2000.

MADSEN, H.L.; SØRENSEN, B.; SKIBSTED, L.H.; BERTELSEN, G. The antioxidant activity of summer savory (*Satureja hortensis* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in dressing stored exposed to light or in darkness. *Food Chem*, 63:173-180 (1998).

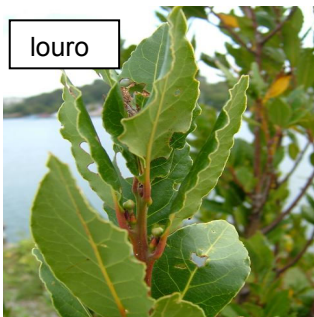
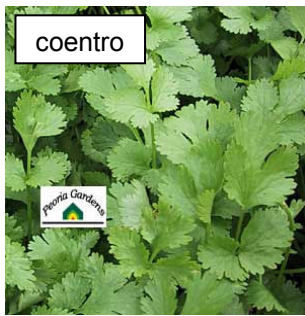
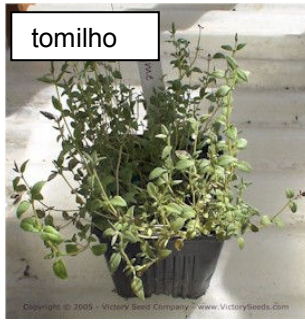
PIEADADE, K.R.; RACANICCI, A.M.C.; PINO, L.M.; PINO, A.P.M.; REGITANO-D'ARCE, M. A.B. Atividade antioxidante de orégano (*Origanum vulgare*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*) sobre a estabilidade oxidativa de sardinha. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL TENDÊNCIA E INOVAÇÕES EM TECNOLOGIA DE ÓLEOS E GORDURAS, 2., 2005, Florianópolis. **Proceedings...** Florianópolis/SC: Sociedade Brasileira de Óleos e Gorduras e UFSC, 2005. 1 CD-Rom.

RACANICCI, A.M.C.; DANIELSEN, B. ; MENTEN, J.M. ; REGITANO-D´ARCE, M.A.B.; SKIBSTED,L.H. Antioxidant effect of dittany (*Origanum dictamnus*) in pre-cooked chicken meat balls during chill-storage in comparison to rosemary (*Rosmarinus officinalis*). **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 218, p. 521-524, 2004.

YANISHLIEVA N.V.; MARINOVA E.; POKORNÝ J. Natural antioxidants from herbs and spices. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v.108, n.1, p.776-793, 2006.

APENDICES

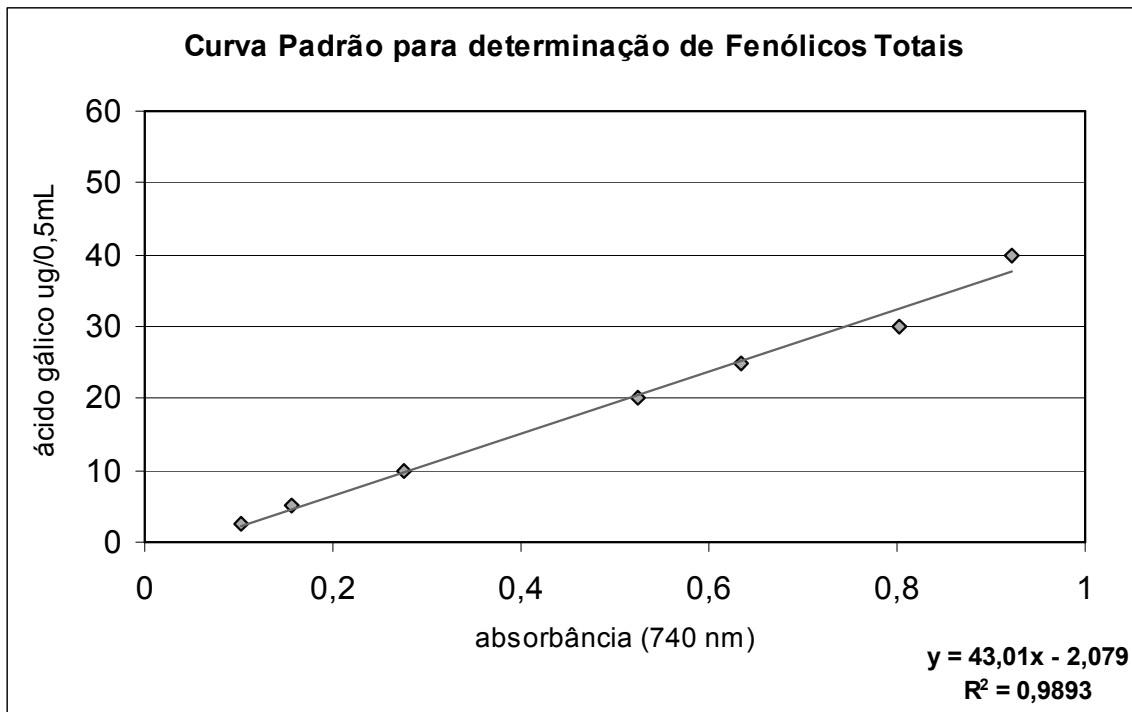
Apêndice 1 - Ervas utilizadas no trabalho



Apendice 2 - Curva padrão para a determinação dos compostos fenólicos totais

A solução padrão consistiu de ácido gálico 99% ($C_7H_6O_5 \cdot H_2O$; $PM=188,14$). Para o preparo do reagente Folin foram usados 90% de água e 10% de Folin. A solução de carbonato de cálcio usada foi de 4% (4g de carbonato de sódio em 100ml de água).

Foi preparada uma solução de ácido gálico em oito diferentes concentrações ($100\mu\text{.ml}^{-1}$; $80\mu\text{.ml}^{-1}$; $60\mu\text{.ml}^{-1}$; $50\mu\text{.ml}^{-1}$; $40\mu\text{.ml}^{-1}$; $20\mu\text{.ml}^{-1}$; $10\mu\text{.ml}^{-1}$; $5\mu\text{.ml}^{-1}$). A leitura desses pontos é feita a 740 nm. Para os cálculos da curva padrão foi determinado a equação da reta de uma regressão linear (segue abaixo), plotando as concentrações e a absorbância das mesmas nos eixos x e y respectivamente, a partir da qual se obtém a concentração da amostra expressas em micrograma de ácido gálico por 0,5 de solução ($\mu\text{.}0,5\text{ml}^{-1}$).



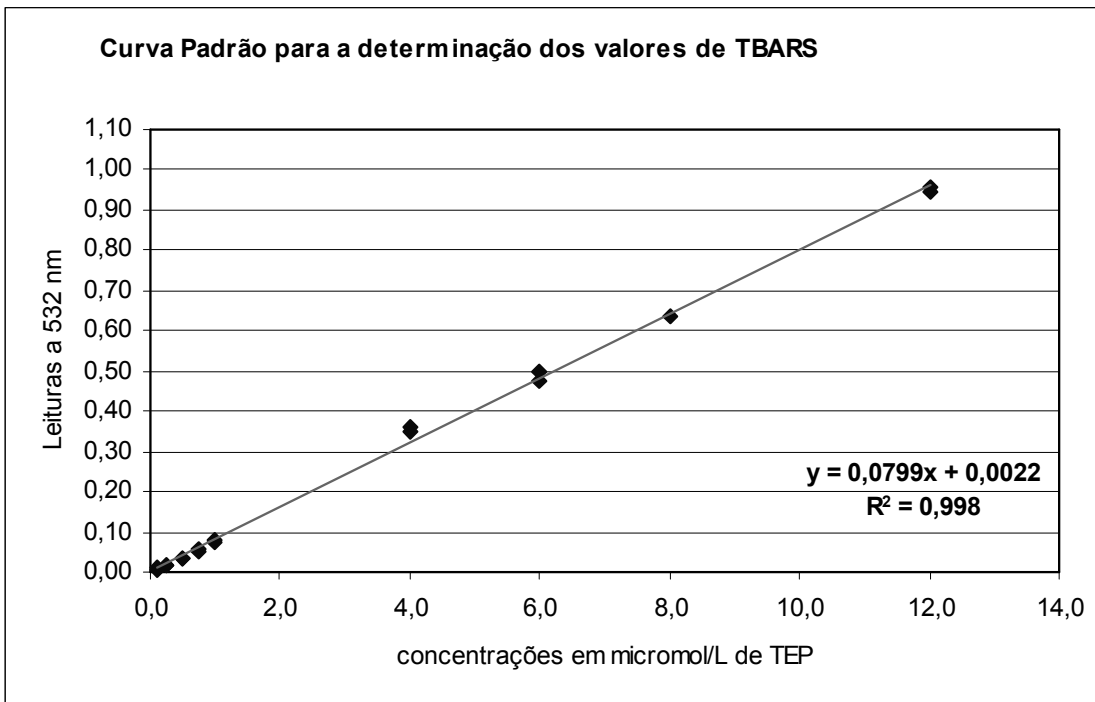
Apendice 3 - Curva padrão para determinação dos valores de TBARS

Para os cálculos da curva padrão foi determinado a equação da reta de uma regressão linear (segue abaixo), plotando a concentração e a absorbância nos eixos x e y respectivamente, a partir da qual se obtém a concentração da amostra expressas em “valor de TBARS” definidos em μmoles de malonaldeído por kg, nos casos, filés de sardinha processados. Foi utilizado o padrão 1,1,3,3 tetraetoxipropano (TEP), cuja hidrólise ácida gera malonaldeído na proporção de 1mol: 1mol, para construção de uma curva padrão, composta por 10 pontos de diferentes concentrações (0; 0,1; 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 4,0; 6,0; 8,0; 12,0 mmol.L^{-1} de TEP).

Regressão Linear:

$$y = 0,799x + 0,0022$$

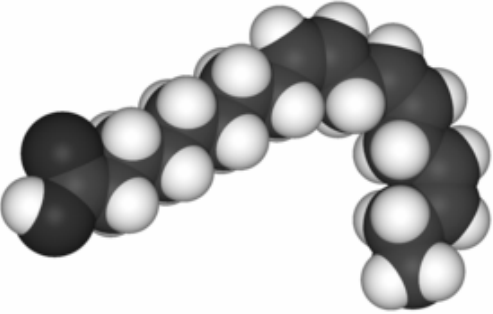
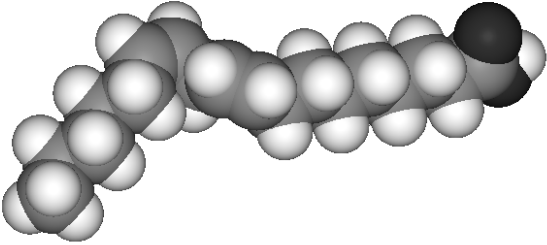
$$R^2 = 0,998$$



Apendice 4 - Características de reagentes usados no estudo

Reagentes	
ácido tricloacético	TRICHOROACETIC ACID Merck, Schuchardt , Alemanha Kg a A CCl_3COOH $m = 163,39 \text{ g/mol}$ acidimetric $\geq 99,5\%$
Galato de propila	PROPYLGALLATO $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_5$ $m = 212,20 \text{ g/mol}$ acidimetric $> 98\%$ propyl-3,4,5-trihydroxybenzoate propil 3,4,5-trihidroxibenzoato Merck, Schuchardt , Alemanha
ácido tiobarbitúrico	TBA $\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ $m = 114,15 = \text{Fw}$ 2-thiobarbituric acid Minimum 98%
EDTA	Titriplex [®] Merck; Alemanha $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8\text{2H}_2\text{O}$ $m = 372,24 \text{ g/mol}$ Ethylenedinitrilotetraacetic acid, disodium salt dihydrate ACS, ISSO
Malonaldeído	DIETIL 1,1,3,3 Tetraethoxy propane Malonaldehyde bis [diethyl acetal] Aprox = 97% 1 ml = 0,92g 100 ml = 19,85g $\text{C}_{11}\text{H}_{24}\text{O}_4$ $m = 220,3$

Apendice 5 - Representação gráfica do ácido α -linolênico e linoléico

<p>ácido α-linolênico $C_{18}H_{30}O_2$ (18:3) ω3</p>	
<p>ácido linoléico $C_{18}H_{32}O_2$ (18:2) ω6</p>	

Apêndice 6 - Aprovação da sociedade brasileira de óleos e gorduras para o artigo do capítulo 3 dessa dissertação

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ÓLEOS E GORDURAS
SBOG / CAL / UFSC
Fone/Fax: 55 - 48- 3028 5935
<http://www.oleosegorduras.org.br>
E-mail: sbog@cca.ufsc.br

Florianópolis, 23 de agosto de 2005.

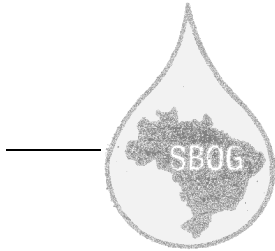
Prezado Sr.

É com prazer que comunicamos-lhe que seu trabalho “ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE ORÉGANO (*Origanum vulgare*) E ALECRIM (*Rosmarinus officinalis*) SOBRE A ESTABILIDADE OXIDATIVA DE SARDINHA”, submetido para o II Simpósio Internacional Tendências e Inovações em Tecnologia de Óleos e Gorduras, foi analisado pela Comissão Científica e considerado aceito para apresentação sob a forma de painel nos dias 22 e 23 de setembro de 2005, no Centro de Convenções de Florianópolis (Centro Sul), SC.

Atenciosamente,

Comissão Científica
sbog@esalq.usp.br

Apêndice 7 - Aprovação da sociedade brasileira de óleos e gorduras para o artigo do capítulo 5 dessa dissertação



SOCIEDADE BRASILEIRA DE ÓLEOS E GORDURAS
SBOG / CAL / UFSC
Fone/Fax: 55 - 48- 3028 5935
<http://www.oleosegorduras.org.br>
E-mail: sbog@cca.ufsc.br

Florianópolis, 20 de junho de 2007.

Prezado Sr. Karen Rother Piedade

É com prazer que comunicamos-lhe que seu trabalho "ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE ERVAS EM FILÉS DE SARDINHA PROCESSADOS: VALIDAÇÃO DE UM MODELO MATEMÁTICO", submetido para o III Simpósio Internacional Tendências e Inovações em Tecnologia de Óleos e Gorduras, foi analisado pela Comissão Científica e considerado aceito para apresentação.

Esperamos encontrá-lo em breve.

Atenciosamente,

Comissão Científica
sbog@esalq.usp.br

Apendice 7 – Comprovante do artigo “ Uso de ervas na estabilidade oxidativa de filés de sardinha processados e cozidos”, capítulo 4 dessa dissertação



Submissão concluída com êxito! Imprima esta página para referência.

Foi enviado para seu e-mail uma mensagem com o número e título do trabalho.
Na tabela de Submissões Completas na página inicial você pode acompanhar e ter acesso as revisões deste trabalho.

Código do Trabalho: 2681-07
Responsável: Srta. Karen Piedade
Tipo de Trabalho: Contribuição original (Artigo)
Área do trabalho: Alimentos funcionais

**USO DE ERVAS NA ESTABILIDADE OXIDATIVA DE
FILÉS DE SARDINHA (Sardinella brasiliensis)
PROCESSADOS E COZIDOS.**

Palavras-chave: Atividade Antioxidante, Ervas, Oxidação Lipídica, Compostos Fenólicos, TBARS, Salsa, Orégano e Alecrim.

Key-words: Antioxidant Activity, Natural Antioxidants, Herbs, Lipid Oxidation, Phenolic Compondes, TBARS, Parsley, Oregano and Rosemary.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)