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

**Caracterização química de extratos de semente e casca de uva e seus efeitos antioxidante
sobre carne de frango processada e armazenada sob refrigeração**

Ligianne Din Shirahigue

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

Piracicaba
2008

Ligianne Din Shirahigue
Engenheira de Alimentos

**Caracterização química de extratos de semente e casca de uva e seus efeitos antioxidante
sobre carne de frango processada e armazenada sob refrigeração**

Orientadora:

Profa. Dra. **CARMEN JOSEFINA CONTRERAS CASTILLO**

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

Piracicaba

2008

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

Shirahigue, Ligianne Din

Caracterização química de extratos de sementes e casca de uva e seus efeitos antioxidante sobre carne de frango processada e armazenada sob refrigeração / Ligianne Din Shirahigue. - Piracicaba, 2008.
94 p.

Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2008.
Bibliografia.

1. Antioxidantes 2. Carnes e derivados 3. Congelamento 4. Frangos de corte ;
Processamento de alimento 6. Sementes – Extratos I. Título

CDD 664.93
S558c

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

Aos meus pais, José Kenji e Maria Helena, por todo apoio, confiança, amor, e por tudo que me ensinaram desde a minha existência.

DEDICO

A meu querido esposo Ricardo, por todo carinho e amor.

OFEREÇO

Agradecimentos

À Deus.

À Profa. Dra. Carmen Josefina Contreras Castillo pela orientação, pela confiança, por toda dedicação e amizade.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” pela excelência em minha formação na área da Pesquisa.

À minha família, meu pai José Kenji e minha mãe Maria Helena pelo exemplo de dedicação, força e honestidade e principalmente pelo amor e carinho. Às minhas queridas irmãs Annelise e Tatianne pelo amor, confiança, cumplicidade, carinho, ou simplesmente pelo fato de fazerem parte de minha vida. Aos meus cunhados Rodrigo e Arthur pela amizade.

Ao meu querido esposo Ricardo, por sempre estar ao meu lado, me incentivando e apoiando em todos os momentos e por ser tão dedicado e companheiro.

Aos Profs. Severino Matias de Alencar, Marisa Aparecida Bismara Regitano d’Arce, Manuel Plata Oviedo, Cláudio Rosa Gallo, Thais Maria Ferreira de Souza Vieira e Gerson Barreto Mourão pela atenção e direcionamento em todas as etapas do meu Mestrado.

Ao Laboratório de Qualidade de Carnes e à equipe *Las Carmencetes* especialmente Ana Paula, Laynkza, Pôtra, Brioxe, Dóry, Damasko, Babalú, Ortalisa, Raq, D-Cinema, Trakinas e Afogada por toda ajuda, amizade e companheirismo.

Às amigas da Pós-Graduação Ingridy, Cristiane e Paula pela amizade.

Ao Laboratório de Bioquímica de Alimentos, especialmente Adna Prado, Tatiane Oldoni e Ivani Moreno por toda ajuda.

Aos Laboratórios de Óleos e Gorduras, Microbiologia e Pescado, pela disponibilidade dos equipamentos e estrutura para o desenvolvimento de minha pesquisa.

Aos funcionários do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, em especial à Luciana K. Savay da Silva e Beatriz H. Giongo, por todo apoio e paciência.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro concedido para a realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo concedida.

E, por fim, a todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
1 Introdução	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1 Mercado da carne de frango	11
2.2 Composição do músculo	11
2.2.1 Estrutura do músculo e mudanças bioquímicas post mortem	11
2.3 Oxidação lipídica	12
2.3.1 Química da oxidação lipídica	13
2.4 Composição lipídica da carne e o processo de oxidação	14
2.4.1 Composição lipídica da carne	14
2.4.2 Oxidação lipídica na carne de frango	16
2.5 Fatores que influenciam a oxidação em carnes	17
2.5.1 Temperatura	17
2.5.2 Embalagem	18
2.5.3 Produtos cárneos reestruturados	19
2.6 Implicações da oxidação lipídica em carnes	19
2.6.1 Sabor	19
2.6.2 Cor	20
2.6.3 Malonaldeído	21
2.7 Métodos para avaliar a oxidação lipídica em alimentos	21
2.7.1 Análise sensorial	22
2.7.2 Análise dos produtos secundários da oxidação	23
2.8 Antioxidantes	24
2.8.1 Mecanismo de ação dos antioxidantes	25
2.8.2 Antioxidantes em alimentos	26
2.8.3 Uva	28
2.8.4 Extrato de semente de uva	28
2.8.4.1 Compostos fenólicos da uva	29
2.8.4.2 Flavonóides e a atividade antioxidante	30
2.9 Métodos para avaliar a capacidade antioxidante	31
3 Material e métodos	33
3.1 Obtenção dos extratos de uva	33
3.2 Análises dos extratos de uva (Ensaio 1)	34
3.2.1 Caracterização química dos extratos de uva	34
3.2.1.1 Conteúdo de compostos fenólicos totais	34
3.2.1.2 Cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (CLAE-FR)	35
3.2.2 Determinação da atividade antioxidante dos extratos de uva	35
3.2.2.1 Avaliação da atividade seqüestrante de radical DPPH	35
3.2.2.2 Avaliação da atividade antioxidante na inibição da peroxidação lipídica	36
3.3 Determinação da estabilidade oxidativa	37
3.3.1 Análise em Rancimat	37

3.4 Determinação da concentração dos extratos de uva (Ensaio 2).....	37
3.4.1 Preparo das amostras	37
3.4.2 Determinação da oxidação lipídica (TBARS).....	40
3.5 Avaliação da estabilidade oxidativa e qualidade das amostras de carne de frango processada (Ensaio 3).....	41
3.5.1 Preparo das amostras de carne de frango.....	41
3.5.2 Avaliação da estabilidade oxidativa e qualidade das amostras de carne de frango processada	42
3.5.2.1 Composição centesimal	42
3.5.2.2 Cor instrumental	42
3.5.2.3 Avaliação do pH	43
3.5.2.4 Determinação da oxidação lipídica (TBARS)	43
3.5.2.5 Avaliação microbiológica.....	43
3.5.2.6 Avaliação sensorial.....	44
3.6 Avaliação estatística dos resultados	44
4 Resultados e discussão	46
4.1 Análises dos extratos de semente e casca de uva (Ensaio 1).....	46
4.1.1 Caracterização química dos extratos de semente e casca de uva	46
4.1.1.1 Conteúdo de compostos fenólicos totais	46
4.1.1.2. Cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (CLAE-FR)	47
4.1.2 Atividade antioxidante dos extratos de semente e casca de uva.....	51
4.2 Determinação da estabilidade oxidativa	54
4.2.1 Análise em Rancimat.....	54
4.3. Determinação da concentração dos extratos (Ensaio 2).....	55
4.3.1 Determinação da oxidação lipídica (TBARS)	55
4.4 Avaliação da estabilidade oxidativa e qualidade das amostras carne de frango processada (Ensaio 3).....	61
4.4.1 Composição centesimal (CC)	61
4.4.2 Avaliação microbiológica.....	61
4.4.3 Cor instrumental	64
4.4.4 Avaliação do pH	67
4.4.5 Determinação da oxidação lipídica (TBARS)	69
4.4.6 Avaliação sensorial.....	74
5 CONCLUSÃO.....	79
REFERÊNCIAS	80
ANEXO	93

Caracterização química de extratos de semente e casca de uva e seu efeito antioxidante sobre carne de frango processada e armazenada sob refrigeração

RESUMO

A carne de frango apresenta vários problemas no processamento e conservação, sendo a oxidação lipídica um dos principais fatores limitantes da qualidade e aceitabilidade comercial deste produto. A indústria de alimentos busca desenvolver novas formulações que visem melhorar a qualidade e, principalmente, a segurança dos produtos alimentícios. Neste sentido, o uso de antioxidantes de fontes naturais, como os extratos de semente e casca de uva, mostra-se como uma alternativa segura e saudável para o processamento de carne de frango. O objetivo desse estudo foi caracterizar quimicamente extratos de semente e casca de uva das variedades Isabel e Niágara (*Vitis labrusca*) e determinar a atividade antioxidante e o efeito destes extratos sobre a estabilidade oxidativa e a qualidade da carne de frango processada e armazenada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$), em dois tipos de embalagem (aeróbica e a vácuo). Os compostos fenólicos dos extratos foram quantificados e a identificação feita pelo método da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A atividade antioxidante foi determinada pelo método do sequestro do radical DPPH e pelo método da inibição da peroxidação lipídica. Primeiramente, carnes de frango processadas, contendo diferentes concentrações dos extratos (10, 20, 40 e 60 mg compostos fenólicos totais (CFT)) foram avaliadas em relação à estabilidade oxidativa. Posteriormente, as concentrações 40 e 60 mg CFT foram testadas, em embalagem aeróbica e a vácuo, sob refrigeração, por um período de 14 dias, sendo avaliadas a estabilidade oxidativa e a qualidade da carne. Os extratos de semente e casca de uva da variedade Niágara apresentaram os maiores teores de compostos fenólicos em relação aos da variedade Isabel, sendo que pela técnica de CLAE foi possível identificar e quantificar os flavonóides catequina e epicatequina. Esses extratos apresentaram alta atividade antioxidante *in vitro*, sendo esta atividade atribuída à presença de compostos fenólicos. Os extratos de semente e casca de uva das variedades Isabel e Niágara (*Vitis labrusca*) demonstraram resultados satisfatórios quanto à estabilidade oxidativa, e quando aplicados nas concentrações de 40 a 60 mg CFT apresentaram resultados semelhantes ao antioxidante sintético BHT. A eficiência dos extratos de semente e casca de uva foi altamente dependente da concentração utilizada. A adição dos extratos de uva combinado com a embalagem a vácuo demonstrou ser uma boa técnica para aumentar a estabilidade lipídica na carne de frango cozida sob refrigeração, a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$, num prazo de armazenamento de 14 dias.

Palavras-chave: Carne de frango cozida; Oxidação lipídica; Antioxidantes; Extrato de semente e casca de uva; Compostos fenólicos

Chemical characterization of grape seed and peel extracts and their antioxidant activity on processed and cold stored poultry meat

ABSTRACT

Poultry meat has serious problems regarding processing and conservation. The lipid oxidation is one of the main factors limiting the quality and commercial acceptance of meat. The food industry has been trying to develop new formulations in order to improve the quality, and mainly, the safety of food products. Therefore, the use of natural antioxidants, such as grape seed and peel extracts, can be a safe and healthy alternative to poultry meat processing. The aim of this study was to chemically characterize grape seed and peel extracts from Isabel and Niagara varieties (*Vitis labrusca*) and to assess antioxidant activity and effect of these extracts on the quality and oxidative stability of processed and cold stored ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$) poultry meat, into two package types (aerobic and vacuum packaging). After quantified, the phenolic compounds found in the extracts were identified by the high-performance liquid chromatography (HPLC) method. The antioxidant activity was determined by the free radical scavenging activity on the DPPH method and by the linoleic acid peroxidation method. In a first essay, processed poultry meat, treated with different extracts concentrations (10, 20, 40 and 60 mg of total phenolic compounds (CFT)) were evaluated in relation to the oxidative stability. In sequence, the 40 and 60 mg CFT concentration extracts were tested over processed and cold stored poultry meat, packaged under aerobic and vacuum conditions, during 14 days; the poultry meat was then evaluated with regard to quality and oxidative stability. Due to the presence of catechins and epicatechin flavonoids, extracts from both grape varieties exhibited high in vitro activity. However, Niagara variety extract showed higher values of CFT when compared to Isabel variety. When applied to poultry meat, the grape seed and peel extracts from both varieties exhibited satisfactory results in relation to oxidative stability. Moreover, when applied with concentrations of 40 and 60 mg CFT, these extracts showed results similar to the ones found with BHT synthetic antioxidant. The grape extract efficiency showed high dependence of extract concentration. The addition of grape extracts combined with a vacuum package can be considered a good technique to raise lipid stability in cooked and cold stored ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$) poultry meat, until 14 days of storage.

Keywords: Cooked poultry meat; Lipid oxidation; Antioxidants; Grape seed and peel extracts; Phenolic compounds

1 Introdução

A avicultura no Brasil é uma das atividades que mais tem se desenvolvido nas últimas décadas, ocupando importante posição no cenário internacional. O comércio brasileiro de carne de frango se expande ano a ano de forma consistente, tanto no mercado interno, como no cenário mundial. Isto faz com que este setor procure por constante aprimoramento tecnológico e, principalmente, pela qualidade dos produtos finais.

A importância da avicultura brasileira pode ser mensurada pelos números de produção, exportação e disponibilidade interna, publicados pela Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, que em 2006, registrou produção acumulada de carne de frango na ordem de 9,353 milhões de toneladas. As exportações de carne de frango alcançaram valores próximos de 2,712 milhões de toneladas (AVISITE, 2008).

A carne de frango apresenta vários problemas de processamento e conservação. A oxidação lipídica é um dos principais fatores limitantes da qualidade e da aceitabilidade comercial deste produto (BOU et al., 2001; BELTRAN et al., 2003; BOTSOGLOU et al., 2002).

A carne de frango é susceptível a deterioração oxidativa devido ao seu conteúdo relativamente elevado de ácidos graxos insaturados. Esta oxidação pode ser acelerada por processos tecnológicos anteriores a estocagem como o cozimento, os quais rompem as membranas celulares do músculo, facilitando a interação dos ácidos graxos insaturados com substâncias pró-oxidantes (IGENE et al., 1980; TICHIVANGANA; MORISSEY, 1985). A oxidação lipídica pode ser considerada um processo auto-catalítico, onde os produtos das reações iniciais propagam-se em reações em cadeia, originando novos compostos que afetam a qualidade dos produtos alimentícios.

A indústria de alimentos busca continuamente adaptar e desenvolver novas formulações que visem melhorar a qualidade e, principalmente, a segurança dos produtos alimentícios. No entanto, o emprego de antioxidantes naturais na carne *in natura* ainda tem sido pouco explorado (BOTSOGLOU et al., 2002).

De acordo com *Food and Drug Administration* (FDA), os antioxidantes são definidos como substâncias utilizadas para preservar e estender a vida útil de alimentos que contém lipídeos oxidáveis, através do retardo das reações de oxidação. Estas substâncias podem provir de fontes sintéticas ou de compostos isolados naturalmente dos alimentos.

O extrato de semente de uva vem sendo estudado como antioxidante natural. Sua composição química e propriedades biológicas têm sido avaliadas, e encontrado a presença de altos teores de compostos fenólicos, os quais têm demonstrado atividades antimutagênica e antiviral (MACHEIX, SAPIS; FLEURIET, 1991). Porém, ainda faltam estudos sobre a utilização desse tipo de antioxidante sob o aspecto da qualidade da carne de frango, bem como as diversas formulações, benefícios e vantagens de se aplicar esses ingredientes em produtos processados.

Com isso, os objetivos deste estudo foram:

- Caracterizar quimicamente os extratos de semente e casca de uva de duas variedades de *Vitis labrusca* L.;
- Determinar a atividade antioxidante dos extratos de semente e casca de uva de duas variedades de *Vitis labrusca* L.;
- Avaliar química e fisicamente a carne de frango processada e cozida, submetida à adição desses extratos em diferentes concentrações, comparando os resultados com os do antioxidante BHT;
- Verificar a estabilidade oxidativa desses produtos durante armazenamento sob refrigeração ($4\pm1^{\circ}\text{C}$), num prazo de 14 dias, para produtos embalados em PVC e vácuo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Mercado da carne de frango

O setor avícola destaca-se nos cenários nacional e internacional pelo grande volume de carne comercializada e também por apresentar um crescimento na produção e consumo de carne de frango. Em 2005, a produção de carne de frango no Brasil foi de 9,348 milhões de toneladas, volume 10% superior ao obtido em 2004. Em 2005, as exportações brasileiras de carne de frango aumentaram 12,2% em relação a 2004, atingindo um patamar de 2,761 milhões de toneladas de carne de frango (NERY et al., 2007).

Em 2006, a produção de frango de corte no Brasil não aumentou na mesma magnitude dos últimos anos, pois o cenário internacional não favoreceu as exportações (AVICULTURA INDUSTRIAL, 2006). Desse modo, a produção de carne de frango estabilizou em torno de 9,3 milhões de toneladas.

2.2 Composição do músculo

2.2.1 Estrutura do músculo e mudanças bioquímicas *post mortem*

Dentro do corpo dos animais, há mais de 600 músculos que variam na forma, função e atividade. Contudo, nas células há semelhanças entre estes músculos em uma variedade de organismos. A estrutura típica de um músculo esquelético consiste de epimísio (tecido conectivo que rodeia o músculo inteiro), perimísio (tecido conectivo que separa os grupos de fibras em pacotes) e o endomísio (tecido conectivo que rodeia cada fibra de músculo) (AKOH; MIN, 2002).

Depois da morte do animal, toda a circulação cessa, ocorrendo importantes modificações no tecido muscular como redução do ATP, o que promove perda de fonte de energia necessária para redução de muitos compostos; aumento de hipoxantina, produzindo sabor desagradável pela degradação do ATP; início da oxidação quando o oxigênio molecular está presente no sistema; redução do ascorbato e glutatona, com perda de antioxidantes secundários e cofatores; aumento

de ferro de peso molecular baixo, iniciando a oxidação; e desintegração das membranas, podendo causar hidrólise dos fosfolípidos (AKOH; MIN, 2002).

As principais modificações são atribuídas à falta de oxigênio (condições anaeróbicas) e ao acúmulo de certos produtos como lactato e H^+ . Em um espaço curto de tempo, o sistema mitocondrial cessa a função em quase toda a célula, devido ao consumo rápido do oxigênio interno. A glicólise continua regenerando ATP e lactato, mas, conseqüentemente, a redução do pH é causada pela presença deste lactato, interrompendo a atividade glicolítica. Quando o ATP se esgota, a resposta mais imediata é a instalação do *rigor*, quando actina e miosina permanecem em um estado contraído (AKOH; MIN, 2002). Outra resposta importante quanto à oxidação lipídica é a incapacidade da membrana celular em manter a sua integridade, conseqüentemente, fosfolipases e lipases são lançadas, afetando a susceptibilidade dos lípidos à oxidação.

2.3 Oxidação lipídica

A oxidação lipídica, depois da deterioração microbiana, é o principal processo pelo qual ocorre perda de qualidade das carnes e seus derivados (GRAY; GOMAA; BUCKLEY, 1996) e um fator determinante na vida útil do produto, na medida em que gera produtos indesejáveis do ponto de vista sensorial e degrada vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais (OSAWA; FELÍCIO; GONÇALVES, 2005).

Este fenômeno está ligado principalmente aos lípidos insaturados, constituintes fundamentais da estrutura e responsáveis pela garantia da integridade funcional das membranas biológicas. Os fatores que influenciam na oxidação das matérias graxas são a quantidade e a disponibilidade de oxigênio presente, o grau de insaturação dos ácidos graxos, a presença de metais, enzimas ativadores como luz e o aporte energético em geral. No entanto, é difícil avaliar o efeito de um fator específico no processo de oxidação visto que estes fatores agem simultaneamente (ALLEN; HAMILTON, 1994).

A oxidação lipídica é um fator limitante na qualidade e aceitabilidade de carnes e seus produtos, pois afetam atributos como sabor, cor, textura e valor nutritivo. O processo de rancidez causa desenvolvimento de sabores indesejáveis, produção de substâncias potencialmente tóxicas como malonaldeídos e óxidos de colesterol e também perda do valor nutricional decorrente da destruição de vitaminas e ácido graxos essenciais (GRAY; GOMAA; BUCKLEY, 1996).

2.3.1 Química da oxidação lipídica

O processo de oxidação inicia-se na ligação carbono-hidrogênio, adjacente à dupla ligação da cadeia de carbono, podendo ser catalisado por um grande número de fatores ambientais (umidade, calor, luz e oxigênio) e pela presença de metais (cobre, ferro e manganês) e de enzimas (ADAMS, 1999).

O mecanismo de oxidação lipídica é geralmente descrito como uma reação em cadeia constituída por três etapas distintas: iniciação, propagação e terminação (COSGROVE et al., 1987).

Nas fases de iniciação e propagação, a presença de radicais livres, que são moléculas altamente reativas, desencadeará o processo de oxidação. 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*). Esses compostos dividem-se em radicais ($\text{O}_2^{\bullet-}$ e $\text{HO}^{\bullet}$) e não radicais (H_2O_2) (COMBS, 1998).

Os compostos ($\text{O}_2^{\bullet-}$ e H_2O_2), mesmo apresentando pouca reatividade química quando expostos a determinados íons metálicos (Fe^{2+} e Cu^{+2}), formam um radical livre altamente reativo, o radical hidroxila ($\text{HO}^{\bullet}$):

Os metais bivalentes podem também catalisar a reação de decomposição do H_2O_2 ou do hidroperóxido (ROOH) já produzido pela oxidação lipídica, formando os radicais $\text{HO}\bullet$ ou $\text{RO}\bullet$, respectivamente:

O radical hidroxila ($\text{HO}\bullet$) é provavelmente o radical livre mais importante para iniciação do processo de oxidação nos tecidos animais, uma vez que ele pode remover rapidamente um átomo de hidrogênio do ácido graxo insaturado (COMBS, 1998).

Devido a sua estrutura química, os ácidos graxos insaturados da membrana celular são suscetíveis ao ataque dos radicais livres ($\text{HO}\bullet$ ou $\text{HOO}\bullet$). Essa estrutura permite a retirada de átomos de hidrogênio de um dos grupos $-\text{CH}_2$ da cadeia carbônica e a conseqüente formação de um radical livre ($-\text{C}\bullet-$), iniciando assim o processo de peroxidação lipídica.

Esses radicais instáveis se reestruturam na forma de dienos conjugados reativos e dão origem ao radical peroxil ($\text{ROO}\bullet$). Segundo Combs (1998), este radical tem capacidade de retirar um átomo de hidrogênio de outro ácido graxo insaturado, propagando uma reação em cadeia até que todo ácido graxo insaturado da membrana seja completamente oxidado a hidroperóxidos (ROOH).

Os hidroperóxidos são degradados na presença de metais como Cu^{2+} e Fe^{2+} em estado livre (íons) ou ligados a proteínas (hemoglobinas), liberando radicais que dão seqüência à cadeia de reações de oxidação e outros produtos de clivagem (malonaldeídos e alcanos) (COMBS, 1998).

2.4 Composição lipídica da carne e o processo de oxidação

2.4.1 Composição lipídica da carne

Os lipídeos definem um conjunto de substâncias químicas que, ao contrário das outras classes de compostos orgânicos, não são caracterizadas por algum grupo funcional comum, mas pela sua solubilidade alta em solventes orgânicos e baixa em água. Essas biomoléculas formam,

juntamente com os carboidratos e as proteínas, o grupo de compostos mais importantes em alimentos, e um dos mais frequentemente encontrados na natureza (BOBBIO; BOBBIO, 1985).

A fração lipídica dos alimentos está relacionada a diversas propriedades organolépticas como aroma, coloração, textura, suculência e estabilidade das proteínas. Os lipídeos podem ser divididos em duas frações básicas: a fosfolipídica, que compõe membranas de células, e a triglicerídica, que constitui os lipídeos neutros, fontes de reserva energética, presentes em adipócitos ou no interior das células musculares (ALLEN; FOEGEDING, 1981).

A composição centesimal da carne pode variar em relação à proporção de umidade, proteína e gordura (SOUZA, 2004). Em geral, as carnes são constituídas de 60 a 80% de água e 15 a 25% de proteína. O restante é composto principalmente por gorduras, sais minerais, pigmentos e vitaminas (BRAGAGNOLO, 2001). Segundo Tabela brasileira de composição de alimentos (TACO) (2006), a carne de frango possui de 5 a 17 g de lipídeos por 100 g de carne, dependendo da forma como este produto é apresentado.

Os lipídeos encontrados na carne de frango são constituídos por ésteres de glicerol com ácidos graxos, predominantemente triglicerídeos, mas com pequenas quantidades de monoglicerídeos, diglicerídeos e ácidos graxos livres. Embora a maioria dos ácidos graxos esteja localizada nos tecidos conectivos, quantidades microscópicas acumulam-se também no interior de células musculares (COBOS et al., 1994).

Os ácidos graxos diferem quanto ao comprimento da cadeia hidrocarbonada e quanto ao número e ao tipo de ligações que unem os átomos de carbono, sendo de cadeia curta, média ou longa; saturados ou insaturados. A grande maioria dos ácidos graxos dos lipídeos animais tem número par de átomos de carbono. Os principais ácidos graxos saturados da carne são palmítico (C16:0), esteárico (C18:0) e mirístico (C14:0). O ácido oléico (C18:1) é o monoinsaturado mais abundante, seguido do palmitoléico (C16:1). Os ácidos linoléico (C18:2), linolênico (C18:3) e araquidônico (C20:2) são os principais ácidos graxos poliinsaturados. Os ácidos graxos saturados e monoinsaturados são os constituintes mais importantes dos triglicerídeos da fração lipídica da carne (RHEE et al., 1988). Porém, a carne de frango, em comparação com a de outros animais, é relativamente mais abundante em ácidos graxos poliinsaturados (JAHAN; PATERSON; SPICKETT, 2004; VALSTA; TAPANAINEN; MÄNNISTO, 2005).

2.4.2 Oxidação lipídica na carne de frango

A primeira fase da oxidação lipídica na ave ocorre na etapa *ante-mortem*, nas membranas celulares, as quais são ricas em ácidos graxos poliinsaturados (CHIZZOLINE et al., 1998). Embora possuam mecanismo de defesa, as células animais podem continuamente sofrer ação de agentes estressores, oriundos de fontes internas e externas. Muitos desses agentes podem atuar como aceleradores das reações de peroxidação com formação de radicais livres (HALLIWELL, 1996; BERGMAN et al., 2001; SOARES, 2002).

Os radicais livres são moléculas que possuem um ou mais elétrons não pareados, caracterizando-se por apresentarem grande instabilidade e capacidade de reagir com diversos compostos, podendo inclusive atacar as células (HALLIWELL, 1995).

A segunda fase da oxidação lipídica, ocorre imediatamente no momento pré-abate e, posteriormente, na etapa pós-abate, quando da instalação do *rigor-mortis* (MORRISSEY et al., 1998). As mudanças bioquímicas que acompanham a conversão do músculo em carne oferecem condições favoráveis à oxidação, em razão da perda do equilíbrio entre os fatores pró-oxidativo e o sistema antioxidante natural.

As transformações pós-abate que predis põem a carne de frango à oxidação são o cessamento da circulação sangüínea, logo após sangria; o metabolismo anaeróbico, que promove um acúmulo de ácido láctico, com declínio do pH (~5,5); a circulação de nutrientes rapidamente cessa; o sistema preventivo de enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, catalase glutiona peroxidase, glutiona redutase) tem suas funções comprometidas; as proteínas seqüestrantes de ferro são inativadas; o retículo sarcoplasmático perde a capacidade de acumular cálcio; o ferro catalisa reações em cadeia; e a oxidação lipídica das membranas é iniciada (MORRISSEY et al., 1998).

A terceira fase da oxidação lipídica ocorre durante as etapas de processamento dos produtos (DECKER et al., 1993). Nesses processos ocorre à perda da integridade das membranas musculares, promovendo alterações nos compartimentos celulares, que resultam na liberação de ferro. Esses e outros agentes pró-oxidantes passam a interagir com compostos de baixo peso molecular, como aminoácidos, nucleotídeos e fosfatos, com os quais formam quelatos responsáveis pela catálise da oxidação lipídica *in vivo* (MORRISSEY et al., 1998).

A susceptibilidade dos produtos cárneos às reações oxidativas é consequência de seu alto teor de catalisadores (ferro, mioglobina) e da natureza e composição dos seus lipídeos (ASGHAR

et al., 1988). As alterações na qualidade de produtos cárneos incluem deterioração do sabor, descoloração, destruição de nutrientes e formação de compostos tóxicos que, sem dúvida, reduzem a aceitabilidade pelo consumidor (KANNER, 1994). Sobre esses aspectos, Xiong e Decker (1995) discutem os mecanismos que explicam o aparecimento de *off-flavor* induzido por reações oxidativas. Após o cozimento, a oxidação lipídica é considerada sinônima do desenvolvimento do sabor de requeimado *warmed-over-flavor* (WOF) e, envolve grande disponibilidade de promotores da oxidação em relação ao ferro heme e não heme e fosfolípidos que formam a estrutura das células da membrana (YOUNATHAN, 1985).

2.5 Fatores que influenciam a oxidação em carnes

Além de componentes intrínsecos pró e antioxidantes do próprio músculo, um número de fatores extrínsecos influencia a oxidação lipídica da carne. Os fatores ambientais como temperatura, luz e nível de oxigênio afetam a susceptibilidade dos lipídios do músculo a oxidação (DECKER et al., 1999).

2.5.1 Temperatura

A reação entre o oxigênio molecular e os lipídios aumenta com o aumento da temperatura (NAWAR, 1985). Assim, com relação à temperatura ambiente de armazenamento, carnes refrigeradas ou congeladas apresentam retardamento da deterioração por oxidação.

A oxidação lipídica em carnes cruas armazenadas sob refrigeração é geralmente acelerada em produtos que foram reestruturados (O'GRADY et al., 1997). Além disto, a ausência de determinadas condições que promovam a oxidação lipídica em carnes cruas refrigeradas, a deterioração da qualidade pelo crescimento de microrganismos pode preceder a deterioração oxidativa (MONAHAN et al., 1992). Em carnes cruas armazenadas sob congelamento, tanto a deterioração microbiana quanto a deterioração oxidativa são retardadas, porém a oxidação lipídica que leva ao ranço pode ocorrer com o aumento do tempo de armazenamento (DECKER et al., 1999).

O processo de cozimento proporciona um aumento significativo na oxidação lipídica de carnes e no desenvolvimento do WOF de carnes cozidas refrigeradas (TIMS; WATTS, 1958; DECKER, et al., 1999). A aceleração da oxidação lipídica depois do cozimento é atribuída às modificações induzidas pelo calor em componentes do músculo, inclusive a perturbação do compartimento celular e a exposição dos lipídios das membranas a um ambiente pró-oxidativo, a ativação termal ou liberação do ferro livre catalítico da mioglobina (SCHRICKER; MILLER, 1983; KRISTENSEN; ANDERSEN, 1997; DECKER, et al., 1999) e a inativação térmica das enzimas antioxidantes (LEE; MEI; DECKER, 1996).

2.5.2 Embalagem

Em carnes cozidas, a eliminação de oxigênio das embalagens de armazenamento é um fator crítico para minimizar a oxidação (NOLAN et al., 1989; BREWER et al., 1992) e, tanto a embalagem a vácuo quanto sob atmosfera modificada são comumente usadas para diminuir a presença de oxigênio (WILLIAMS, 1997; AHN et al., 1992; KINGSTON et al., 1998).

A embalagem influencia na qualidade e durabilidade de carnes, pois altera o ambiente ao redor do produto, criando condições que retardam as reações de deterioração. A embalagem previne a evaporação da umidade do produto, evitando perdas de peso e alterações de aparência, textura e aroma. Contudo, a maior alteração no ambiente que circula o produto, provocada pela embalagem, é quanto à composição gasosa. Esta atmosfera irá determinar a cor do produto, o tipo e a extensão da deterioração microbiológica e a velocidade de oxidação dos seus componentes (SARANTÓPOULOS, 1991).

A melhor estratégia para prevenir a oxidação lipídica é o uso de sequestradores de radicais livres, como os antioxidantes que restringem o acesso do oxigênio durante a armazenagem (JANTAWAT; DAWSON, 1980; NOLAN; BOWERS; KROPF, 1989; MIELNIK; AABY; SKREDE, 2003).

Mielnik et al. (2006) ressaltaram a importância de se utilizar métodos combinados para melhorar a qualidade dos produtos. Segundo os autores há uma maior eficiência na aplicação de extratos de sementes de uva quando este é combinado com embalagem a vácuo, mostrando ser um método eficiente para aumentar a estabilidade oxidativa de carne de frango cozida.

2.5.3 Produtos cárneos reestruturados

O termo carne reestruturada começou a ser utilizado no início da década de 1970, para incluir uma série de produtos elaborados a partir de porções de carnes magras e gordas, cortadas em pedaços, ou até mesmo reduzidas a pastas finas, comercializadas como produtos crus (refrigerados ou congelados), pré-cozidos ou cozidos (ORDÓÑEZ, 2005). Segundo este mesmo autor, este termo é utilizado, atualmente, para produtos que tem aspecto semelhante à carne integral.

Muitos produtos cárneos sofrem algum grau de modificação física no seu processo. Nos tipos de emulsões, picados ou produtos cárneos reestruturados, os graus se diferenciam pelo efeito da destruição da estrutura do músculo e pela exposição dos lipídeos a um ambiente pró-oxidante (DECKER; FAUSTMAN; LOPEZ-BOTE, 1999).

O WOF em carnes cruas, muitas vezes não é observado, o que confirma a teoria de que as alterações na estrutura celular durante o processo ou cozimento são contribuintes para a oxidação lipídica (GRAY; PEARSON, 1987).

2.6 Implicações da oxidação lipídica em carnes

Segundo Decker et al. (1999), a oxidação lipídica afeta a qualidade de carnes cruas e cozidas e leva a deterioração do sabor, do odor, da qualidade da cor, dos valores nutricionais e da segurança dos alimentos.

2.6.1 Sabor

O mecanismo primário da degradação do sabor desejável das carnes é favorecido pela autooxidação dos lipídeos. O lipídio do músculo, em particular os seus componentes fosfolipídeos, sofrem a degradação para produzir um grande número de compostos voláteis.

Enquanto os hidroperóxidos, produtos primários da oxidação lipídica, são inodoros e insípidos, a sua degradação leva a formação de produtos secundários voláteis e não-voláteis. Destes, compostos aldeídos, hidrocarbonetos, álcoois, cetonas, ácidos, ésteres entre outros, são os principais responsáveis pela perda do sabor desejável em carnes de frango (GRAY; PERSON, 1987; CAMPO et al., 2006).

Os aldeídos são, em quantidade baixa (ppm ou ppb), responsáveis pelo desenvolvimento do WOF como relatados por Tim e Watts (1958) e a deterioração do sabor da carne (DRUMM; SPANIER, 1991).

O termo *warmed-over-flavor* (WOF) foi primeiro introduzido por Tim e Watts (1958) para descrever o ataque rápido de rancificação na carne cozida durante o armazenamento refrigerado, sendo uma característica sensorial indesejável no painel dos provadores (St. ANGELO et al., 1988). Os sabores oxidados são prontamente detectáveis depois de 48 horas, em contraste com o ranço que se desenvolve mais lentamente e fica evidente somente depois de prolongado armazenamento sobre congelamento (PEARSON; GRAY, 1983).

Esses sabores desagradáveis prejudicam a aceitação dos produtos pelos consumidores, que cada vez mais estão exigindo conveniência dos produtos (LYON; ANG, 1990). Contudo, há muito interesse em se analisar quimicamente e sensorialmente esses *off-flavors* em carnes cozidas (LYON, 1987; LOVE, 1988; BRUNTON et al., 1998) e, desta forma, tentar minimizar o desenvolvimento dos mesmos (AHN et al., 1992; ANGELO et al., 1996; KINGSTON, et al., 1998).

Segundo St. Ângelo et al. (1987) é importante considerar que este *off-flavor* se desenvolve em carnes pré-cozidas reaquecidas. O perfil de aroma de WOF característico e o perfil de aroma relacionado à oxidação lipídica na carne crua são diferentes, mas os compostos que implicam no sabor são qualitativamente os mesmos, porém ocorrem em concentrações diferentes.

2.6.2 Cor

A cor da carne é o mais importante atributo de qualidade que influencia na aceitabilidade de produtos cárneos pelo consumidor (MANCINI; HUNT, 2005). A oxidação lipídica promove a modificação da cor de carnes, pela transformação do pigmento oximioglobina, de coloração vermelho brilhante, em metamioglobina, tornando a carne marrom-acinzentada (KRANNER, 1994). A oxidação do pigmento pode catalisar a oxidação lipídica, assim como, os radicais livres produzidos durante esse processo podem oxidar o átomo de ferro ou desnaturar a molécula de mioglobina, alterando a cor do produto cárneo (LOVE, 1983; JACOBSEN; BERTELSEN, 2000; LYNCH; FAUSTMAN, 2000).

2.6.3 Malonaldeído

O malonaldeído é um dialdeído de três carbonos com grupos carbonil nas posições C-1 e C-3. Pode ser encontrado em diversos alimentos, sobretudo nos gordurosos. A sua concentração é dependente do grau de insaturação do ácido graxo, da presença de metais, do pH e do tempo de cocção (PIKUL; LESZCZYNSKI; KUMMEROW, 1989; ULU, 2004).

Este composto é formado a partir da decomposição de hidroperóxidos, da oxidação secundária de compostos carbonílicos e da degradação oxidativa de aminoácidos ferro-dependentes (ROSMINI et al., 1996; FERNANDEZ et al., 1997).

Segundo a literatura (ADDIS, 1986; PEARSON et al., 1983) o malonaldeído, produto secundário da oxidação, é considerado tóxico às células vivas. Este pode ser formado *in vivo* ou pré-formado em alimentos. Estudos sugerem que o malonaldeído seja cancerígeno (SHAMBERGER; ANDREONE; WILLIS, 1974) e mutagênico (MUKAI; GOLDSTEIN, 1976). Os produtos da oxidação lipídica, como o malonaldeído e os óxidos de colesterol têm chamado à atenção da comunidade científica (PEARSON et al., 1983).

2.7 Métodos para avaliar a oxidação lipídica em alimentos

Há vários métodos disponíveis para medição da oxidação lipídica em alimentos. As modificações químicas, físicas e organolépticas em gordura e óleos podem ser monitoradas durante todo o processo de oxidação lipídica (AKOH; MIN, 2002). Segundo estes mesmos autores, não há nenhum método uniforme para avaliar todas as modificações da oxidação em um sistema formado por alimentos. Os métodos disponíveis para monitorar a oxidação lipídica podem ser divididos em dois grupos: (a) os que medem as modificações da oxidação primária e; (b) os que determinam as modificações secundárias de cada sistema.

Estão descritos dezenas de métodos diferentes para avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras. Cada método fornece informações sobre um estado particular do processo oxidativo, variável em função das condições aplicadas e dos substratos lipídicos usados (FRANKEL et al., 1994; Berset; Cuvelier, 1996).

Há uma grande importância em se estabelecer a distinção entre os testes para determinação da estabilidade oxidativa nas condições normais de armazenamento ou de distribuição - testes de

estabilidade em tempo real, e a avaliação da resistência à oxidação efetuada por testes que promovem um envelhecimento acelerado – testes de estabilidade acelerados (Figura 1) (BERSET; CUVELIER, 1996).

Figura 1 – Fluxograma para avaliação dos testes de estabilidade oxidativa

2.7.1 Análise sensorial

Na avaliação sensorial, a coleta e a degustação de amostras ao longo do tempo permitem identificar o aparecimento progressivo dos produtos da degradação dos lipídeos, causadores dos *off-flavors* (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999). Trata-se de uma análise extremamente sensível, permitindo detectar quantidades na ordem dos $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (BERSET; CUVELIER, 1996).

No entanto, esta análise não pode constituir por si só um método de controle, pois há inúmeras dificuldades quer de determinação do momento exato em que um produto sofre oxidação, quer de comparação de resultados. Estes fatores justificam a existência de um conjunto de testes objetivos, baseados na determinação de propriedades físicas e químicas (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

A análise sensorial é um método difícil de ser colocado em prática e de custo elevado. Reconhecer e quantificar sabores e odores desagradáveis necessita um longo treinamento, pois a sensação percebida não é única e, modifica-se à medida que a oxidação progride. Por um lado, os diferentes constituintes de um produto influenciam a percepção e por outro a sensibilidade difere de um indivíduo para indivíduo (SIMS; FIORITI, 1980; BERSET; CUVELIER, 1996).

2.7.2 Análise dos produtos secundários da oxidação

Entre as metodologias analíticas disponíveis para acompanhar e compreender o processo de oxidação lipídica em alimentos destaca-se a determinação do valor de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS). O método permite quantificar o grau de oxidação lipídica do alimento, baseando-se na reação colorimétrica entre malonaldeído e o ácido 2-tiobarbitúrico (JO; AHN, 1998).

As substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico são preferencialmente formadas a partir da clivagem de ácidos graxos com duplas ligações. Os hidroperóxidos formados podem originar compostos contendo grupamentos carbonílicos, sendo o malonaldeído o principal alcadienal relacionado com o processo de oxidação lipídica (TARLADGIS; WATTS; YOUNATHAN, 1960).

O teste de TBA quantifica o malonaldeído (MDA), um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados, formado durante o processo oxidativo (ANGELO, 1996).

A reação envolve o ácido 2-tiobarbitúrico com o malonaldeído, produzindo um composto de cor vermelha, medido espectrofotometricamente a 532 nm (Figura 2). 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; OSAWA et al., 2005).

A quantificação do malonaldeído é feita a partir de curvas construídas com concentrações conhecidas. Os padrões mais freqüentemente usados são 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMP) e 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) que, nas condições ácidas do teste, sofrem hidrólise, resultando na liberação de malonaldeído. Os resultados são expressos em unidades de absorbância por unidade de massa de amostra ou em “valor de TBA” ou “número de TBA”, definidos como a massa, em mg, de malonaldeído por kg de amostra (ANGELO, 1996).

Figura 2 – Reação do ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) e o malonaldeído (MA), formando composto colorido, o qual pode ser medido espectrofotometricamente a 532 nm

Outra metodologia aplicada para se avaliar os produtos secundários da oxidação lipídica é o método Rancimat. A avaliação do teor de ácidos voláteis é usualmente feita por condutimetria. A análise baseia-se no registro das variações da condutividade da água destilada, na qual se faz a coleta dos ácidos de baixo peso molecular. Estes compostos são obtidos normalmente após a iniciação forçada da oxidação a uma temperatura de 110 -130°C e com controle de ar ou de oxigênio (DELAPRESAOWENS; LÓPEZ-SABATER; RIVERO-URGELL, 1995; BERSSET; CUVELIER, 1996; SCHWARZ et al., 1996; CHEN; HO, 1997).

O aparelho Rancimat tem como base avaliar os produtos secundários de oxidação (BERSSET; CUVELIER, 1996), porém apresenta alguns inconvenientes como obter somente resultados mensuráveis para níveis de oxidação elevados, muito além do ponto correspondente ao aparecimento de *off-flavors*; os produtos de decomposição que se formam, nas condições térmicas do ensaio (temperatura $\geq 100^\circ\text{C}$), não são da mesma natureza que os obtidos nas condições normais de armazenamento (BERSSET; CUVELIER, 1996).

2.8 Antioxidantes

O termo antioxidante pode ser definido como “qualquer substância que, quando presente em baixas concentrações comparado com outros em substratos oxidáveis, retarda ou previne significativamente a oxidação deste substrato” (HALLIWELL et al., 1995).

A adição dos antioxidantes é um método que pode aumentar a vida útil da carne, especialmente dos lipídios contidos nesse alimento (JAYAPRAKASHA; SINGH; SAKARIAH, 2001).

Uma substância antioxidante pode agir de várias formas: ligando-se competitivamente ao oxigênio, retardando a etapa de iniciação, e/ou interrompendo a etapa de propagação pela destruição ou ligação dos radicais livres ou pela inibição dos catalisadores e estabilização dos hidroperóxidos (ALLEN; HAMILTON, 1994). O antioxidante pode ter ação nas membranas das células e/ou alimentos por: (1) seqüestrar radicais livres, não iniciando o processo oxidação; (2) inativar íons metálicos; (3) remover espécies reativas ao oxigênio; (4) seqüestrar oxigênio *singlete*; (5) destruir peróxidos e prevenir formação de radicais; e (6) remover e/ou diminuir a concentração do oxigênio local (DZIEZAK, 1986; LABUZA, 1971).

2.8.1 Mecanismo de ação dos antioxidantes

Os antioxidantes podem atuar em passos diferentes na seqüência da oxidação, dependendo do seu modo de ação. Os antioxidantes primários reagem com radicais de lipídeos para produzir produtos mais estáveis, sendo conhecidos como interceptores de radicais livres. Os antioxidantes secundários ou preventivos reduzem a fase de iniciação da cadeia por vários mecanismos que incluem inativação de metais, decomposição de hidroperóxidos, seqüestro de oxigênio e sinergismo.

Os antioxidantes primários rapidamente doam um átomo de hidrogênio a um radical do lipídeo, ou converte-os a outros produtos estáveis. A inibição do radical livre acontece em dois passos importantes na seqüência da reação em cadeia da oxidação lipídica. Eles reagem com radicais peroxil ($\text{LOO}\cdot$) interrompendo a propagação em cadeias, e assim inibindo a formação de peróxidos e, com radicais alcóxil ($\text{LO}\cdot$) para reduzir a decomposição do hidroperóxido a produtos de degradação (FRANKEL, 1995).

Os inativadores de metais ou agentes quelantes atuam como antioxidantes preventivos por removerem ou desativarem inibirem o efeito dos íons metálicos, que atuam como pro - oxidantes bem como catalisam a decomposição dos hidroperóxidos (FRANKEL, 1995). Sinergismo pode ser esperado entre substâncias com diferentes modos de ação, para que os sistemas de antioxidantes compostos exponham atividade muito maior, além disso, esperam-se os efeitos adicionais de cada antioxidante individualmente (SCHULER, 1990). O sinergismo geralmente estende a vida de antioxidantes primários atuando como doadores de hidrogênio aos seus radicais, por meio disso, regeneram estes antioxidantes ou inativam íons metálicos (JADHAV et al., 1996).

2.8.2 Antioxidantes em alimentos

De acordo com o FDA (*Food and Drug Administration*), os antioxidantes são substâncias utilizadas para preservar alimentos retardando a deterioração por rancidez ou descoloração causada pela oxidação (DZIEZAK, 1986). Estes são compostos presentes em pequenas quantidades e capazes de prevenir ou retardar a oxidação de óleos e gorduras (POKORNY, 1991). Essas substâncias podem provir desde fontes comerciais até compostos isolados naturalmente de alimentos (ADEGOKE et al., 1998).

Um antioxidante aceitável para uso em alimentos requer essencialmente eficácia em baixas concentrações, compatibilidade com os substratos, aceitação sensorial, atóxico e ausência de efeito sobre as propriedades físicas dos produtos alimentícios (SCHULER, 1990).

Os antioxidantes sintéticos mais comumente usados são BHA (Butil-hidroxi-anisol), BHT (Butil-hidroxi-tolueno), TBHQ (Butil-hidroquinona terceária) e PG (propil galato) (Figura 3), os quais às vezes são também empregados em combinações. Várias regulamentações existem em diferentes países para o controle da quantidade ou aplicação destes antioxidantes em alimentos. Isto se deve as restrições para o uso dos mesmos, devido às suspeitas de serem carcinogênicos (MADHAVI et al., 1995).

Propil Galato (PG) **Butil-hidroquinona terceária (TBHQ)** **2-BHA****Butil-hidroxi-anisol (BHA)** **3-BHA** **Butil-hidroxi-tolueno (BHT)****Figura 3 – Estrutura dos antioxidantes sintéticos PG, TBHQ, BHA e BHT**

A aplicação destas substâncias tem sido vastamente usada para retardar a oxidação lipídica em alimentos (AHMAD, 1996). Entretanto, devido aos potenciais riscos para a saúde humana dos antioxidantes sintéticos, tem aumentado nos últimos anos o interesse nos extratos de plantas para reduzir ou retardar a oxidação em alimentos (AHN et al., 1998; JAYAPRAKASHA; JAGANMOHAN RAO, 2000).

Estudos recentes têm demonstrado a complexidade associada ao uso de ervas ou extratos de plantas que podem inibir as reações oxidativas. De acordo com Kähkönen et al. (1999); Wong, Hashimoto e Shibamoto (1995); Skerget et al. (2005) e Yen, Chen e Peng (1997) o efeito dos fenólicos das plantas na estabilidade oxidativa em alimentos pode inesperadamente causar efeito nas

condições da oxidação e características dos lipídeos, bem como nos sistemas pertencentes ao tocoferol e outras substâncias ativas com efeito antioxidante.

2.8.3 Uva

A uva é uma fruta obtida da Videira (*Vitis* spp.), uma trepadeira de caule espesso e resistente. O fruto tem formato arredondado ou elipsóide, podendo ser branco, verde, amarelo, rosado, vermelho ou azulado de acordo com a variedade. A polpa aquosa do fruto pode envolver até quatro sementes de coloração escura.

No Brasil, a produção de uvas em 2007 atingiu cerca de 1,35 milhões de toneladas (MELLO, 2008). Em 2007, 47,02% das uvas produzidas no Brasil foram destinadas à elaboração de vinhos, sucos, destilados e outros derivados, gerando resíduos que podem ser aproveitados como ingredientes para elaboração de novos produtos. Os subprodutos apresentam, cada vez mais, um interesse econômico acrescido ainda da importância ambiental (SILVA, 2002).

A uva Isabel (*Vitis labrusca* L.) é originária do sul dos Estados Unidos (GRIGIOTTI; SÔNEGO, 1993) tendo sido introduzida no sul do Brasil, no Estado do Rio Grande do Sul, entre os anos de 1839. Esta variedade usada na produção de vinhos, sucos e derivados como geléias, ou até mesmo para consumo *in natura*, representam aproximadamente 40% de todas as uvas produzidas no país (ROMBALDI et al., 2004). Assim como a uva Isabel, a uva Niágara (*Vitis labrusca* L.) também é original dos Estados Unidos, entretanto, seu consumo é essencialmente *in natura*.

Dentre as frutas e vegetais, as uvas são consideradas uma das maiores fontes de compostos fenólicos (MAXCHEIX et al., 1990). Porém a grande diversidade entre os cultivares resulta em uvas com diferentes características, tanto de sabor, coloração, quanto ao conteúdo e perfil dos polifenólicos (ABE et al., 2007).

2.8.4 Extrato de semente de uva

Os extratos de semente de uva são obtidos a partir de subprodutos do processo de fabricação do vinho ou suco de uva e, são ricos em proantocianidinas (MIELNIK, 2006). Estes extratos apresentam grandes quantidades de compostos fenólicos (WEBER et al., 2007).

O mecanismo múltiplo da atividade antioxidante desses compostos são expressos pela habilidade de sequestrar o radical metal quelado e pelo sinergismo com outros antioxidantes (LU; FOO, 1999).

Rababah et al. (2004) encontraram em extratos de sementes de uva valores mais altos quando comparados com vários outros extratos vegetais. Atividade antioxidante do extrato de semente de uva tem sido confirmada pelos efeitos da peroxidação dos ácidos linolênico e linoléico sobre o β -caroteno (JAYAPRAKASHA; SING; SAKARIAH, 2001). O extrato de semente de uva tem sido avaliado pelo seu efeito antioxidante em poucos tipos de carne, melhorando a estabilidade oxidativa em carne bovina cozida (AHN et al., 2002) e partes de peru (LAU; KING, 2003). Segundo estudos de Lau e King (2003), a adição de extratos de semente de uva de 10 a 20 g.kg⁻¹ de carne de peru diminuiu significativamente os valores de TBARS quando comparado ao controle. Estes mesmos autores sugeriram um nível ótimo de extrato de semente de uva para frango de 1 a 10 g.kg⁻¹ de carne.

2.8.4.1 Compostos fenólicos da uva

Os fenólicos são largamente distribuídos na natureza e são os metabólitos secundários mais abundantes em plantas (MACHEIX et al., 1990). Essas substâncias fenólicas incluem muitas classes de compostos, como ácidos fenólicos, antocianinas coloridas, flavonóides simples ou flavonóides complexos (SPANOS; WROLSTAD, 1992).

Os compostos fenólicos em uvas e produtos da uva podem ser divididos em dois grupos: (a) ácidos fenólicos e compostos relacionados e (b) flavonóides. Os ácidos fenólicos mais comuns em uvas incluem os ácidos cinâmicos (ácido coumárico, ácido caféico, ácido ferulico, ácido clorogênico e ácido neoclorogênico) e os ácidos benzóicos (ácido p-hidroxibenzóico, ácido vanílico e ácido gálico). Os flavonóides incluem flavono-3-ol (como catequina, epicatequina polímero e éster com ácido galáctico ou glicose), flavanonas coloridas e antocianinas vermelhas e azuis (SHI et al., 2003).

A quantidade de compostos fenólicos nos vinhos tintos (1000-4000 mg.L⁻¹) é maior que nos vinhos brancos (200-300 mg.L⁻¹), sendo que as uvas tintas contêm em sua composição as antocianinas, moléculas responsáveis pela pigmentação. A diferença na quantidade de compostos fenólicos não se deve apenas à presença de antocianinas, mas também aos processos de fabricação para obtenção dos vinhos, sendo que em alguns casos as uvas são esmagadas com engaço, casca e semente, gerando maior quantidade de compostos fenólicos (FRANKEL; WATERHOUSE;

TEISSEDER, 1995). Esses mesmos autores estudaram a composição dos compostos fenólicos majoritários e encontraram que a catequina e a epigallocatequina são os compostos de maior concentração nos vinhos brancos; e a catequina e o ácido gálico são os compostos de maior concentração no vinho tinto (Figura 4).

Figura 4 – Estruturas dos compostos fenólicos identificados em extratos de semente de uva

2.8.4.2 Flavonóides e a atividade antioxidante

Os flavonóides são compostos fenólicos, produtos do metabolismo secundário de plantas, encontrados em diversos gêneros alimentícios (HOLLMAN; KATAN, 1997; MIDDLETON; KANDASWAMI, 1994). As unidades monoméricas destes compostos consistem em dois anéis de benzeno substituídos (A e B) e, na maior parte dos casos, por um anel heterocíclico C (HOLLMAN; HERTOOG; KATAN, 1996). Segundo Middleton e Kandaswami (1993) existem mais de quatro mil compostos identificados. As diferentes substituições nos anéis A, B e C, bem como a diferença onde o

anel B está vinculado ao anel C, possibilitam a existência de vários tipos de flavonóides com diferenças em suas características biológicas.

Os flavonóides são divididos nas classes flavanas, flavanonas, flavonóis, flavonas, isoflavonas e antocianinas. Algumas classes dos flavonóides que ocorrem em gêneros alimentícios, como as antocianinas (uva, vinho, cerejas e casca de berinjela), flavonóis (cebola, brócolis, couve, casca de maçã, chá e uvas), flavonas (limões, azeitona, aipo, pimentão vermelho e salsa) e flavanonas (frutas cítricas e pele de tomate) possuem atividade antioxidante (HOLLMAN; KATAN, 1997; RICE-EVANS; MILLER, 1996).

Segundo Rice-Evans e Miller (1996) a maior atividade antioxidante é dada pela classe dos flavonóis, especialmente o grupo das procianidinas. As procianidinas consistem em compostos que contêm catequinas, epicatequinas e seus derivados esterificados, sendo o mais comum o O-galato.

Os flavonóides atuam como antioxidantes neutralizando os radicais livres, inclusive o superóxido e o radical hidroxil (BAGCHI et al., 1997). A propriedade redox dos flavonóides também permite que eles atuem como agentes redutores e em alguns casos como quelantes de metais de transição (RICE-EVANS; MILLER, 1996; VANACKER et al., 1996).

2.9 Métodos para avaliar a capacidade antioxidante

Os métodos para avaliação da ação antioxidante de um composto devem ser baseados na identificação dos mecanismos antioxidativos sob diversas condições, refletindo as propriedades dos antioxidantes relacionados a alimentos (FRANKEL; MEYER, 2000).

A atividade antioxidante varia de acordo com o tipo de composto e sua concentração (MAILLARD 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 expresso como um índice antioxidante ou fator de proteção (JADHAV et al., 1996).

Diversas técnicas têm sido utilizadas para determinar a atividade antioxidante *in vitro*, de forma a permitir uma rápida seleção de substâncias e/ou misturas potencialmente interessantes. Dentre estes métodos destacam-se o sistema de oxidação do β -caroteno/ácido linoléico e o método de seqüestro de radicais livres, tais como DPPH• - 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006).

O método de oxidação do β -caroteno/ácido linoléico avalia a atividade de inibição de radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoléico. O método está fundamentado em medidas espectrofotométricas da descoloração (oxidação) do β -caroteno, induzida pelos produtos de degradação oxidativa do ácido linoléico (MARCO, 1968).

O método de seqüestro de radicais livres esta baseado no descoramento de uma solução composta por radicais estáveis DPPH• de cor violeta quando da adição de substâncias que podem ceder um átomo de hidrogênio (HUANG; PRIOR, 2005; BRAND et al., 1995).

A adição de extratos com atividade antioxidante à solução de DPPH causa uma redução rápida na densidade ótica em 517 nm. O grau de descoloração indica a capacidade dos extratos em seqüestrar o radical. Os radicais livres causam a autooxidação em lipídeos insaturados em alimentos (KAUR; PERKINS, 1991). Os antioxidantes cessam a oxidação do radical livre doando um hidrogênio do grupo hidroxila dos fenólicos. Portanto, o produto final estável formado não permite uma nova oxidação lipídica (SHERWIN, 1978).

O método de oxidação do β -caroteno/ácido linoléico determina a capacidade de uma amostra ou composto de proteger um substrato lipídico da oxidação, enquanto que o método de inibição de radicais DPPH• baseia-se na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um oxidante (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006).

3 Material e métodos

O estudo foi dividido em três ensaios distintos. Na Figura 5 está esquematizado o fluxograma de obtenção dos extratos e os ensaios realizados em cada etapa do trabalho.

Figura 5 - Fluxograma dos ensaios realizados em cada etapa do experimento

3.1 Obtenção dos extratos de uva

Para a obtenção dos extratos foram usados resíduos constituídos de sementes e cascas das uvas das variedades Niágara e Isabel (*Vitis labrusca*). Os resíduos do processo de vinificação foram obtidos nas cantinas do município de Videira - SC. Os bagaços (15 quilos de cada) com aproximadamente 70% de umidade foram espalhados sobre formas de alumínio, em camadas de 0,5 a 0,8 cm de altura e

desidratados em estufa com circulação forçada de ar a 40°C por 24 horas. Em seguida, foram moídos em moinho de disco até uma granulometria inferior a 0,5 mm e estocados à temperatura ambiente em sacos de polietileno.

As amostras com 20 g de bagaço desidratado de uvas Niágara e Isabel, foram deixados separadamente em maceração com 100 mL de etanol 80% (v/v), a temperatura ambiente e ao abrigo da luz, por um período de 48 horas, sob constante agitação mecânica (agitador rotativo). Após esse período, os sobrenadantes foram recuperados por filtração a vácuo e concentrados em evaporador rotativo a vácuo, a temperatura de 65°C até evaporação total do solvente. Os resíduos resultantes foram dissolvidos em água até um volume final de 50 mL. Esses extratos foram denominados Extratos Etanólico de Uva Niágara (EUN) e Extrato Etanólico de Uva Isabel (EUI). Os extratos foram estocados sob refrigeração (4 a 8°C), até o momento das análises.

3.2 Análises dos extratos de uva (Ensaio 1)

3.2.1 Caracterização química dos extratos de uva

3.2.1.1 Conteúdo de compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais dos extratos foi determinado pelo método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (SINGLETON et al., 1999). Esse método envolve a oxidação de fenóis por um reagente amarelo heteropoliácido de fosfomolibdato e fosfotungstênio (reagente de Folin-Ciocalteu) e a medida colorimétrica de um complexo azul Mo-W que se forma na reação em meio alcalino (SINGLETON et al., 1999).

Para a determinação dos fenólicos totais, as soluções de extratos (0,1 mL) foi misturadas com 5 mL de água destilada e 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu. Após 3 minutos de reação foi adicionado 1,5 mL de Na₂CO₃ (20%) e 2,9 mL de água destilada. A absorbância foi medida a 765 nm após de duas horas de incubação no escuro e a temperatura ambiente. Os resultados foram expressos em equivalentes de ácido gálico (GAE, mg.100 g⁻¹). Os bagaços apresentavam 10% de umidade.

3.2.1.2 Cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (CLAE-FR)

As análises por CLAE em fase reversa dos EUN e EUI foram realizadas de acordo com o método descrito por Alencar (2005), com algumas modificações. Cinco microlitros de cada extrato, na concentração de 5%, foram injetados em um cromatógrafo líquido acoplado a um detector de arranjo fotodiodos a 210 nm e uma coluna de fase reversa C18 (250 x 4,6 mm) com tamanho de partícula de 5 μm . A fase móvel utilizada foi água/ácido ortofosfórico (0,1%) (solvente A) e metanol/ácido ortofosfórico (0,1%) (solvente B), com vazão constante de 1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, em modo isocrático e na proporção 20:80 (solvente A:solvente B). A coluna foi mantida a uma temperatura constante de 30°C e os cromatogramas foram processados utilizando “software” específico. Foram utilizados os seguintes padrões autênticos de flavonóides (Sigma): catequina, epicatequina *green tea*, epicatequina galato, epigallocatequina *green tea* e epigallocatequina galato.

3.2.2 Determinação da atividade antioxidante dos extratos de uva

3.2.2.1 Avaliação da atividade seqüestrante de radical DPPH

A medida da atividade seqüestrante do radical DPPH foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Mensor et al. (2001). O DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazil) é um radical livre estável que aceita um elétron ou um radical hidrogênio para tornar-se uma molécula diamagnética estável e dessa forma, ser reduzido na presença de um antioxidante.

Para avaliação da atividade antioxidante as amostras foram reagidas com o radical estável DPPH em uma solução de etanol. Na forma de radical, o DPPH possui uma absorção característica a 517 nm, a qual desaparece após a redução do hidrogênio arrancado de um composto antioxidante. A mistura de reação foi constituída da adição de 0,5 mL da amostra de extrato, 3 mL de etanol P.A. e 0,3 mL da solução do radical DPPH 0,5 mM em etanol. Para cada amostra, foi realizado em paralelo, para correção de uma possível contribuição da coloração dos extratos, um teste branco com adição de etanol em substituição a solução de DPPH 0,5 mM. Os extratos foram avaliados na concentração de 200 e 300 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ e as substâncias de referência (BHT e α -tocoferol) na concentração final de 90 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Também foram realizados testes dos extratos combinados entre si e com o antioxidante sintético BHT: Isabel + Niágara (150 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ Extrato uva Isabel + 150 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ Extrato uva Niágara);

Isabel + BHT ($150 \mu\text{g.mL}^{-1}$ Extrato uva Isabel + $150 \mu\text{g.mL}^{-1}$ BHT); e Niágara + BHT ($150 \mu\text{g.mL}^{-1}$ Extrato uva Niágara + $150 \mu\text{g.mL}^{-1}$ BHT).

A atividade anti-radical foi determinada na forma de atividade antioxidante (AA), calculada através da taxa de declínio da absorbância da solução de DPPH – extratos e padrões após 40 minutos de reação (fase estável) em relação à solução referência (DPPH em etanol), de acordo com a fórmula:

$$\% \text{ Atividade antioxidante} = 100 - ((A_{\text{amostra}} - A_{\text{branco}}) * 100) / A_{\text{controle}} \text{ onde:}$$

$$A_{\text{amostra}} = \text{absorbância da solução DPPH (amostras)}$$

$$A_{\text{branco}} = \text{absorbância da solução das amostras sem adição de DPPH}$$

$$A_{\text{controle}} = \text{absorbância da solução referência de DPPH (etanol).}$$

3.2.2.2 Avaliação da atividade antioxidante na inibição da peroxidação lipídica

O experimento foi realizado de acordo com o método de Emmons et al. (1999) com algumas modificações. Foram pesados 10 mg de β -caroteno, os quais foram dissolvidos em 100 mL de clorofórmio. Após isto, foi retirada uma alíquota de 3 mL da solução clorofórmio - beta-caroteno e adicionada 40 mg de ácido linoléico e 400 mg de Tween 40. Em seguida, o clorofórmio foi removido com a utilização de uma corrente de gás nitrogênio e o resíduo obtido dissolvido em 100 mL de água aerada por 30 minutos. Alíquotas de 3 mL da emulsão beta-caroteno/ácido linoléico foram misturadas com 50 μL do EUN e EUI. A leitura da absorbância foi feita em espectrofotômetro a 470 nm, no tempo inicial e em intervalos de 20 minutos durante 2 horas, com incubação das amostras em banho-maria a 50°C , para reação de oxidação. A amostra controle continha 50 μL de solvente. A atividade antioxidante (AA) foi expressa pela porcentagem de inibição relativa em relação ao controle, após 120 minutos de incubação, usando a seguinte equação:

$$AA = (R_{\text{controle}} - R_{\text{amostra}}) / R_{\text{controle}} \times 100$$

Onde R_{controle} e R_{amostra} representam as taxas de branqueamento do β -caroteno sem e com a adição de antioxidante respectivamente. As taxas de degradação (R_D) foram calculadas de acordo com a primeira ordem da cinética:

$$R_D = \ln(a/b) \times 1 / t$$

Onde $\ln$ é o logaritmo natural, a a absorbância inicial no tempo 0 e b a absorbância depois de 120 minutos. Os EUN e EUI foram avaliados na concentração final de 200 e 300 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, enquanto as substâncias de referência estavam nas soluções de 90 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

3.3 Determinação da estabilidade oxidativa

3.3.1 Análise em Rancimat

Amostras de 30 g de óleo de soja com extratos de uvas Niágara e Isabel na concentração de 400 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ foram submetidas a uma temperatura de $110 \pm 1^\circ\text{C}$, em uma corrente de ar seco de 20 L/h. Os tubos foram acoplados ao aparelho Rancimat (Metrohm AG, CH-9100 Herisau Switzerland) até que a curva de condutividade vezes o tempo de reação fosse completada para se calcular o período de indução (PI). Um controle preparado com óleo de soja sem antioxidante e amostras contendo antioxidante sintético BHT também foram submetidos a essa análise para efeito de comparação (400 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). Os resultados foram expressos em horas do período de indução em relação ao controle, tendo como referência o desempenho do antioxidante sintético.

3.4 Determinação da concentração dos extratos de uva (Ensaio 2)

3.4.1 Preparo das amostras

Amostras de coxa e sobrecoxa de frango foram obtidas de aves abatidas com aproximadamente 42 dias de idade, sob inspeção do SIF, de abatedouro próximo ao município de Piracicaba – SP. Essas foram depenadas, evisceradas, separadas em partes e resfriadas em câmara fria.

Posteriormente, as amostras foram transportadas em caixas de isopor com gelo, para processo e embalagem.

No Laboratório de Qualidade de Carnes do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da USP/ ESALQ – Piracicaba – SP, aproximadamente 1000 g de coxa e sobrecoxas de frango sem osso e sem pele foram triturados em um triturador (HOBART 4B22-2), na proporção 1:1. Posteriormente, foram adicionadas quatro diferentes concentrações de cada extrato (EUN e EUI). Também foram preparadas amostras com BHT, de acordo com a Portaria nº 1.004 da Secretaria de Vigilância Sanitária, sendo 0,01 g.100 g⁻¹ de carne dissolvido em óleo vegetal bruto até obtenção de um volume final de 5 mL. O tratamento denominado CNTL (controle) não teve adição de qualquer tipo de antioxidante (Tabela 1). O cloreto de sódio (1%) foi adicionado em todos os tratamentos.

Tabela 1 - Identificação de cada tratamento

Tratamento	Identificação	Concentração do extrato (ppm)
CNTL	Controle – sem antioxidante	
BHT	BHT 0,01 g.100 g ⁻¹ de carne	
EUI 10	Extrato uva Isabel 10 mg CFT	400
EUI 20	Extrato uva Isabel 20 mg CFT	800
EUI 40	Extrato uva Isabel 40 mg CFT	1600
EUI 60	Extrato uva Isabel 60 mg CFT	2400
EUN 10	Extrato uva Niágara 10 mg CFT	400
EUN 20	Extrato uva Niágara 20 mg CFT	800
EUN 40	Extrato uva Niágara 40 mg CFT	1600
EUN 60	Extrato uva Niágara 60 mg CFT	2400

Para cada tratamento, a carne triturada foi homogeneizada em um *cutter*. A partir dessa mistura foram pesadas 40 porções de 25 g de carne, moldadas na forma de bolinhos e armazenadas a 0°C por aproximadamente 1 hora, totalizando 40 amostras. Após o armazenamento as amostras foram cozidas em uma chapa elétrica tipo *grill*, onde as temperaturas das porções se mantiveram em torno de 72°C por 4 a 5 minutos (Figura 6).

Figura 6 – Processamento das amostras de carne de frango. A) Triturador de carne de frango; B) carne de frango triturada; C) *Cutter* para mistura das amostras; D) Homogeneização das amostras com diferentes tratamentos; E) preparo dos bolinhos das amostras; F) pesagem das amostras; G) amostra pronta para ser cozida; e H) cozimento das amostras

Depois de cozidas as amostras foram mantidas a temperatura de aproximadamente 28°C em um ambiente limpo e higiênico e, posteriormente foram acondicionadas em bandejas de poliestireno recobertas com filme PVC, caracterizando a embalagem aeróbica. As amostras foram armazenadas sob refrigeração ($4\pm 1^\circ\text{C}$), por até 14 dias. Este procedimento foi realizado em triplicata.

3.4.2 Determinação da oxidação lipídica (TBARS)

A determinação do valor das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi realizada 0, 3, 7 e 14 dias de armazenamento sob refrigeração ($4\pm 1^\circ\text{C}$).

As análises foram feitas em duplicata, em todos os pontos de análises, segundo metodologia descrita por Sorensen e Jorgensen (1996).

Foi utilizado o padrão 1,1',3,3" tetraetoxipropano (TEP), cuja hidrólise ácida gera malonaldeído na proporção de 1mol:1mol, para obtenção de uma curva padrão composta por sete pontos de diferentes concentrações (0; 0,6; 0,9; 1,2; 1,4; 2,0 e 3,0 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ de TEP).

Os aldeídos foram extraídos fazendo-se um extrato ácido-aquoso homogeneizado em Ultra-Turrax com 5 g de amostra e 15 mL de ácido tricloroacético (TCA) diluído em Propil Galato (PG) e um agente quelante, sal sódico EDTA sódico, com a finalidade de evitar a formação errônea de malonaldeído ou outras substâncias reativas ao TBA durante a mistura e filtração da amostra. Esse extrato filtrado reagiu com a solução de TBA sob aquecimento (40 minutos a 95°C em banho-maria) para a formação do complexo colorido, o qual foi medido em espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV-Vis mini 1240, no comprimento de onda de 532 nm.

Para os cálculos da curva padrão, a concentração e a absorbância foram plotados no eixo x e y, respectivamente, determinando assim a equação da reta de uma regressão linear, a partir da qual se obteve a concentração da amostra. Os resultados foram expressos em “valor de TBARS”, definido como mg malonaldeído por kg de amostra.

3.5 Avaliação da estabilidade oxidativa e qualidade das amostras de carne de frango processada (Ensaio 3)

3.5.1 Preparo das amostras de carne de frango

Aproximadamente 10000 g de carne de coxa e sobrecoxa de frango foram processados conforme item 3.4.1. A partir disso, foram obtidos 336 bolinhos (25g cada) os quais foram submetidos a diferentes tratamentos visando à avaliação da estabilidade oxidativa e da qualidade da carne de frango (Tabela 2).

Tabela 2 - Identificação de cada tratamento

Tratamento	Identificação	Concentração do extrato (ppm)
CNTL	Controle – sem antioxidante	
BHT	BHT 0,01 g.100 g ⁻¹ de carne	
EUI 60	Extrato uva Isabel 60 mg CFT	2400
EUN 60	Extrato uva Niágara 60 mg CFT	2400
EUI 40	Extrato uva Isabel 40 mg CFT	1600
EUN 40	Extrato uva Niágara 40 mg CFT	1600

Após cozidas as amostras foram acondicionadas em dois tipos de embalagens: em bandejas de poliestireno recobertas com filme PVC, caracterizando a embalagem aeróbica; e em saco plástico co-extrusado de alta barreira (PE/PA/EVOH/PA/PE), com taxa de permeabilidade ao oxigênio < 2mL/m²/24h a 23°C (Unipac Embalagens Ltda.), caracterizando a embalagem a vácuo. As amostras foram armazenadas sob refrigeração (4±1°C) por até 14 dias. Este procedimento foi realizado em duplicata.

3.5.2 Avaliação da estabilidade oxidativa e qualidade das amostras de carne de frango processada

As análises da estabilidade oxidativa e da qualidade das amostras de carnes de frango foram realizadas no Laboratório de Qualidade de Carnes do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da USP/ ESALQ – Piracicaba – SP, onde a caracterização do produto foi feita por meio da determinação da composição centesimal e avaliação microbiológica. Para acompanhar a qualidade e a estabilidade oxidativa da carne de frango cozida durante o período de armazenamento foram realizadas análises de cor instrumental, avaliação do pH, avaliação microbiológica, avaliação sensorial e determinação da oxidação lipídica (TBARS) nos tempos 0, 7 e 14 dias para as amostras de ambas as embalagens testadas.

3.5.2.1 Composição centesimal

A análise de composição centesimal foi realizada 24 horas após o processamento em todos os tratamentos, nas amostras cruas. Os ensaios foram feitos em triplicata para cada determinação (umidade, proteína, lipídeos e cinzas). Os teores de umidade, proteína e cinzas foram determinados segundo Association of Official Analytical Chemistry – AOAC (1995). A umidade foi determinada por gravimetria em estufa a 105°C, até o peso constante. O teor de proteína foi quantificado mediante a determinação do nitrogênio total, pelo método de micro-Kjeldahl, utilizando-se o fator 6,25 para conversão do valor de nitrogênio em proteína. As cinzas foram determinadas por incineração da matéria orgânica em mufla a 550°C e o teor de lipídeos totais foi determinado pelo método de Soxhlet, utilizando hexano como solvente. Os resultados foram calculados em base úmida e expressos em g.100 g⁻¹.

3.5.2.2 Cor instrumental

Para a determinação da medida física da cor foi feita com um colorímetro portátil da marca Minolta Chroma Meter, Modelo CR-400, onde se realizou a leitura dos parâmetros L* (luminosidade), a* (intensidade de vermelho/verde), b* (intensidade de amarelo/azul) do sistema CIELab, com fonte

iluminante D65, calibrado em porcelana branca padrão com $Y=93,7$, $x=0,3160$ e $y=0,3323$ (INTERNATIONAL COMMISSION ON ILLUMINATION – CIE, 1978).

As leituras foram realizadas na superfície das amostras inteiras, sobre uma superfície opaca.

3.5.2.3 Avaliação do pH

A determinação do pH foi feita com eletrodo de penetração de corpo de vidro, em dois diferentes pontos das amostras. O aparelho utilizado foi um potenciômetro da marca Oakton, pH 300, série 35618, com compensação automática de temperatura.

3.5.2.4 Determinação da oxidação lipídica (TBARS)

As amostras de carne de frango processadas foram submetidas à análise da estabilidade oxidativa conforme item 3.4.2, do teste para determinação da concentração dos extratos a serem aplicados.

3.5.2.5 Avaliação microbiológica

As amostras de carne de frango destinadas à avaliação microbiológica foram submetidas as seguintes análises: *Clostridium* Sulfito Redutor, número mais provável (NMP) de coliformes totais e fecais, contagem total de aeróbios mesófilos, contagem total de psicrotróficos aeróbios e anaeróbios, contagem de *Staphylococcus aureus* e presença/ausência de *Salmonella*. Essas análises foram realizadas de acordo com as metodologias descritas por Downes e Ito (2001) e Silva (1997). Para detecção de *Salmonella*, foi empregado um Kit rápido “1-2 test”, fabricado pela Biocontrol/USA, conforme descrito por Silva et al. (2001). Posteriormente, foram realizadas análises de psicrotróficos aeróbios e anaeróbios nos pontos 7 e 14 dias.

3.5.2.6 Avaliação sensorial

A análise sensorial foi realizada por meio do teste de avaliação dos atributos cor, sabor característico de frango e odor de ranço. Para avaliação do sabor característico de frango foi utilizada uma escala linear não estruturada de 10 cm, onde os extremos representam pouco (0) e muito (10) (Figura 7). A avaliação de cor e odor de ranço foi realizada através de uma escala de intensidade, onde os extremos representam (0) ausência e (10) intenso. Os testes foram realizados por uma equipe de 10 provadores treinados, em cabines individuais, sob luz branca normal. As amostras foram mantidas à temperatura de 35 à 40°C, sendo servidas em copos descartáveis codificados com números de três dígitos.

AValiação Sensorial	
Nome: _____ Data: ____ Amostra: carne de frango processada.	
Por favor, prove as amostras e indique a intensidade de cada atributo citado abaixo:	
Alteração na Cor	<div style="display: flex; align-items: center; justify-content: space-between;"> <div style="flex-grow: 1; border-bottom: 1px solid black; position: relative;"> <div style="position: absolute; left: 0; top: -5px; width: 10px; height: 10px; border: 1px solid black;"></div> <div style="position: absolute; right: 0; top: -5px; width: 10px; height: 10px; border: 1px solid black;"></div> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 5px;"> Ausente Intensa </div>
Sabor característico de frango	<div style="display: flex; align-items: center; justify-content: space-between;"> <div style="flex-grow: 1; border-bottom: 1px solid black; position: relative;"> <div style="position: absolute; left: 0; top: -5px; width: 10px; height: 10px; border: 1px solid black;"></div> <div style="position: absolute; right: 0; top: -5px; width: 10px; height: 10px; border: 1px solid black;"></div> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 5px;"> Pouco Muito </div>
Odor de ranço	<div style="display: flex; align-items: center; justify-content: space-between;"> <div style="flex-grow: 1; border-bottom: 1px solid black; position: relative;"> <div style="position: absolute; left: 0; top: -5px; width: 10px; height: 10px; border: 1px solid black;"></div> <div style="position: absolute; right: 0; top: -5px; width: 10px; height: 10px; border: 1px solid black;"></div> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 5px;"> Ausente Intenso </div>
Comentários: _____	

Figura 7 – Ficha para avaliação sensorial

3.6 Avaliação estatística dos resultados

As análises estatísticas foram realizadas por meio do software SAS utilizando procedimento MIXED, com análise de variância utilizando a metodologia dos quadrados mínimos.

Para o ensaio 1, onde foram realizados testes *in vitro* nos extratos de uva para caracterizar quimicamente, determinar a atividade antioxidante e observar a estabilidade oxidativa através do método de Rancimat, foi realizada análise de variância (ANOVA) e aplicado teste de *Tukey* para observar as diferenças significativas entre os valores médios ($p < 0,05$).

Para o ensaio 2, onde foi realizado teste para determinar a concentração dos extratos a serem aplicados nas amostras de carne de frango processada, e posterior avaliação da estabilidade oxidativa, foi realizado um delineamento em blocos casualizados com três repetições para cada tratamento. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) ($p < 0,05$), considerando um modelo com os efeitos fixos de bloco, tratamento, tempo e interação entre tratamento e tempo de armazenamento. Devido à estrutura de medidas repetidas, utilizou-se uma análise de correlação do tipo Huynh-Feldt entre estas medidas ao longo do tempo de armazenamento. Adicionalmente, utilizaram-se as análises de regressões simples e/ou múltipla, para os efeitos quantitativos, quando estes foram significativos ($p < 0,05$) na ANOVA.

O ensaio 3 teve foi realizado um delineamento com blocos casualizados em fatorial 6x2 com 2 repetições para cada tratamento. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) ($p < 0,05$), utilizando diferentes análises de correlações entre estas medidas ao longo do tempo de armazenamento. Adicionalmente, utilizaram-se as análises de regressões simples e/ou múltipla, para os efeitos quantitativos, quando estes foram significativos ($p < 0,05$) na ANOVA.

4 Resultados e discussão

4.1 Análises dos extratos de semente e casca de uva (Ensaio 1)

4.1.1 Caracterização química dos extratos de semente e casca de uva

4.1.1.1 Conteúdo de compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais é freqüentemente usado para explicar a atividade antioxidante. Para medir esta capacidade antioxidante é necessária a extração de compostos fenólicos de efetiva atividade, onde soluções de etanol contendo um pouco de água são mais eficientes na extração de compostos fenólicos (RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1997).

A Tabela 3 apresenta os resultados dos teores de fenólicos totais nos extratos de semente e casca de uva das variedades Isabel (EUI) e Niágara (EUN) extraídos com etanol 80% (v.v⁻¹), como também os teores de CFT presentes nesses materiais vegetais em base seca. Estes valores variam de 1,55 e 1,88 mg.mL⁻¹ para o EUI e o EUN, respectivamente. Nos resultados obtidos para o teor de compostos fenólicos totais dos extratos analisados não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$) entre as duas variedades analisadas. Considerando o volume dos extratos e quantidade de material vegetal extraído verificou-se que os resíduos de semente e casca das uvas Isabel e Niágara apresentaram, respectivamente, teores de CFT de 430,55 e 522,22 mg.100 g⁻¹. Nos estudos de Abe et al. (2007) o valor de compostos fenólicos totais de uva da variedade Niágara (*Vitis labrusca*), extraídos com metanol:água:ácido acético (70:30:5v.v⁻¹) foi de 208±12 mg.100 g⁻¹ (GAE – equivalente de ácido gálico), corroborando com os estudos deste ensaio, demonstrando assim que esta variedade apresenta níveis significantes de compostos fenólicos. Cataneo et al. (2008) encontraram quantidades de compostos fenólicos em extratos de bagaço de uvas (*Vitis vinifera*), extraídos com solvente acetona 80%, variáveis entre 109,64 a 420,61 mg GAE.100 g⁻¹. Em Soares et al. (2008), o conteúdo de fenólicos totais obtidos nas cascas das cultivares Isabel e Niágara (*Vitis labrusca*) variaram de 219,56 a 1242,78 mg.100 g⁻¹ peso seco. Estas diferenças de valores podem estar associadas ao tipo de solvente utilizado na extração dos compostos fenólicos. Estudos realizados por

Alonso et al. (1991), avaliando o efeito de várias misturas de etano/água para extração de compostos fenólicos em sementes uva, observaram que a extração mais eficiente é quando o conteúdo de etanol é maior. Em outro estudo, Kallithraka et al. (1995) verificaram que o metanol é o melhor solvente para extração dos compostos fenólicos, porém este não é aconselhável para extratos que serão aplicados em alimentos. A eficiência da extração e a determinação da atividade antioxidante dos extratos dependem do tipo de solvente, devido às diferenças existentes nos potenciais antioxidantes e à polaridade dos compostos (YANISHLIEVA, 1997). O etanol e a água são os solventes mais empregados para a extração de antioxidantes por razões de não toxicidade e de abundância, respectivamente.

Tabela 3 – Média dos teores de compostos fenólicos totais nos extratos aquosos de uva Isabel (EUI) e uva Niágara (EUN) expressos em equivalente de ácido gálico (GAE).

Amostras	Extrato CFT (mg.mL⁻¹)	Semente e casca (Base seca) CFT (mg.100 g⁻¹)
EUI	1,55±0,49	430,55
EUN	1,88±0,26	522,22
Pr>F	0,4865	

CFT = Compostos fenólicos totais em GAE.

4.1.1.2. Cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (CLAE-FR)

A quantidade de fenólicos totais dos extratos de uva tem sido determinada em diversos trabalhos, e de acordo com a literatura a capacidade antioxidante destes extratos tem sido atribuída principalmente à presença de flavonóides (catequina e epicatequinas) (ABE et al., 2007). Nos estudos destes autores, as catequinas e epicatequinas representam, para a variedade Niágara, cerca de 80 a 90% do total de flavonóides. Catequinas e epicatequinas têm demonstrado alta capacidade antioxidante (MITJANS et al., 2004). Estes compostos provavelmente são constituintes de semente e casca, segundo comparação realizada por MEYER et al. (1997).

Os cromatogramas dos EUN e EUI estão demonstrados na Figura 8. Nos cromatogramas de CLAE dos extratos de semente e casca de uvas avaliados a 210 nm, pode-se observar para uva Niágara a catequina (1), pico a 11,2 minutos, e a epicatequina (2), pico a 26,7 minutos. Já para uva Isabel, no cromatograma, pode-se observar a presença da catequina, pico a 12,5 minutos, e a epicatequina (2), pico a 29,3 minutos. Estes picos também foram observados nos estudos de Liang et

al. (2004), que também utilizaram a técnica de CLAE para avaliar amostras de extrato de semente de uva extraídos com etanol 40%, analisados a 272 nm. Os autores observaram no cromatograma a presença de picos em 35,42 minutos, catequina, e em 42,07 minutos para epicatequina, corroborando com os resultados encontrados neste experimento. Segundo Bakkalbasi, Yemis e Aslanova (2005), cromatogramas típico de extrato aquoso de semente de uva por CLAE apresenta normalmente três compostos majoritários, ácido gálico, (+) catequina e (–) epicatequina.

(a)

(b)

Figura 8 – Cromatogramas de amostras de extratos de semente e casca de uva injetadas na concentração de 5% (a) amostra de uva Niágara; 1, Catequina; 2, Epicatequina green tea (b) amostra de uva Isabel; 1, Catequina; 2, Epicatequina green tea

As concentrações de catequina e epicatequina nos extratos de semente e casca de uva estão apresentadas na Tabela 4. Os extratos de semente e casca de uva Niágara apresentaram maiores teores de catequina e epicatequina ($p < 0,05$) em relação aos extratos da variedade Isabel. Não foi encontrado na literatura, trabalhos de quantificação de compostos fenólicos de uvas Niágara e Isabel extraídos pelo procedimento deste experimento para efeito de comparação. Estudos realizados por Dani et al. (2007) avaliaram a concentração de catequina e epicatequina em suco de uva da variedade Niágara e encontraram valores de 0,739 e 0,595 mg.100 g⁻¹, respectivamente. Estes valores foram menores dos encontrados neste experimento, mostrando que os procedimentos de extração e quantificação usados foram adequados para a quantificação dos compostos majoritários (catequina e epicatequina).

Tabela 4 – Teores de catequina e epicatequina em extratos de semente e casca de uva

Amostra	Concentração (mg.100 g ⁻¹)	
	Catequina	Epicatequina
Extrato uva Isabel	4,25±0,01 ^b	4,43±0,03 ^b
Extrato de uva Niágara	12,57±0,31 ^a	20,63±0,64 ^a
Pr>F	0,0007	0,024

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente ($p < 0,05$) pelo teste de *Tukey*

Estudos de Kahkonen et al. (1999) e Shahidi et al. (2003), demonstraram que diferenças na atividade antioxidante de extratos de plantas provem das diferentes estruturas dos ácidos fenólicos e flavonóides presentes. A atividade antioxidante destes ácidos fenólicos e seus derivados ésteres dependem do número de grupos hidroxila das moléculas. As altas atividades antioxidantes em extratos de semente de uva podem ser devido à alta quantidade de epicatequina e catequina em extratos de semente de uva (RABABAH; HETTIARACHCHY; HORAX, 2004). Isto explica a atividade antioxidante encontrada pelos extratos analisados neste experimento, pois os extratos de semente e casca de uva das variedades Isabel e Niágara apresentam quantidades consideráveis destes compostos catequina e epicatequina (Tabela 4). Estes resultados estão de acordo com os estudos de Peng et al. (2001), que relataram que o conteúdo do tipo polimérico e manoméricas (catequina e epicatequina) em sementes de uva podem ser responsáveis por uma maior atividade antioxidante.

4.1.2 Atividade antioxidante dos extratos de semente e casca de uva

Os resultados obtidos para o seqüestro do radical DPPH para as substâncias referências de elevada atividade antioxidante como α -tocoferol e BHT (90 mg.mL^{-1}) e para os EUI e EUN analisados nas concentrações de 100, 200 e 300 mg.mL^{-1} estão demonstrados na Tabela 5. As concentrações testadas foram baseadas em resultados de trabalhos da literatura.

Conforme demonstrado na Tabela 5, o EUN apresentou maior atividade de seqüestro do radical DPPH ($92,72 \pm 1,75\%$), seguido pelo EUI ($89,09 \pm 0,92\%$), ambos analisados na concentração de 300 mg.mL^{-1} . Estes valores não foram significativamente diferentes ($p > 0,05$) do padrão α -tocoferol ($95,40 \pm 1,39$). Para a menor concentração testada (100 mg.mL^{-1}) foram também observados baixos valores de atividade antioxidante, sendo que o EUN apresentou uma atividade antioxidante de $44,47 \pm 9,19\%$, seguido pelo EUI com $47,29 \pm 5,79\%$. Não foram encontrados trabalhos sobre a atividade antioxidante dos extratos de uva das variedades Niágara e Isabel (*Vitis labrusca*), extraídos pelo mesmo método, para efeito de comparação. Porém, Baydar, Özkan e Yasar (2007) avaliaram a atividade seqüestrante do radical DPPH dos extratos de uva *Vitis vinifera* em diferentes concentrações, extraídos com misturas de solventes acetona:água:ácido acético (90:9,5:0,5) e observaram valores mais altos para as concentrações menores, como 90,2%, 91,1% e 92,6%, para as concentrações de 25, 50 e 100 mg.mL^{-1} , respectivamente. Esta diferença da atividade antioxidante pode estar associada ao solvente utilizado para extração dos compostos fenólicos nas amostras, onde pode ter ocorrido uma melhor extração com os solventes utilizados por estes autores, ou até mesmo pelo fato das espécies serem diferentes, podendo ter assim uma composição fenólica diferente.

Tabela 5 – Média da atividade antioxidante (AA) pelo método do seqüestro do radical DPPH dos extratos EUI e EUN e as substâncias de referências α -tocoferol e BHT (n=24)

Tratamentos (mg.mL ⁻¹)	AA (%)
EUI 100	47,29±5,79 ^c
EUI 200	75,65±2,48 ^b
EUI 300	89,09±0,92 ^{ab}
EUN 100	44,47±9,19 ^c
EUN 200	83,36±4,98 ^{ab}
EUN 300	92,72±1,75 ^a
α -tocoferol 90	95,40±1,39 ^a
BHT 90	14,16±9,29 ^d
Pr>F	0,0001

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente (p<0,05) pelo teste de Tukey.

Os resultados obtidos para o seqüestro do radical DPPH para as substâncias referências de elevada atividade antioxidante, como α -tocoferol e BHT (90 mg.mL⁻¹), e para as combinações dos extratos de uva Isabel (EUI) + uva Niágara (EUN) e os extratos combinados com antioxidante sintético BHT, estão demonstrados na Tabela 6.

Tabela 6 – Médias da atividade antioxidante (AA) pelo método do seqüestro do radical DPPH das combinações dos extratos EUI e EUN, combinações dos extratos com BHT e as substâncias de referências α -tocoferol e BHT

Tratamentos	AA (%)
EUI + EUN (150µg.mL ⁻¹ EUI + 150µg.mL ⁻¹ EUN)	63,08±16,21 ^{bc}
EUI + BHT (150µg.mL ⁻¹ EUI + 150µg.mL ⁻¹ BHT)	39,99±3,71 ^{cd}
EUN + BHT (150µg.mL ⁻¹ EUN + 150µg.mL ⁻¹ BHT)	86,93±11,75 ^{ab}
α -tocoferol 90 mg.mL ⁻¹	94,53±0,00 ^a
BHT 90 mg.mL ⁻¹	32,48±0,00 ^d
Pr>F	0,0001

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente (p<0,05) pelo teste de Tukey.

Em relação aos resultados da atividade antioxidante pelo método do sequestro do radical DPPH, os tratamentos combinados apresentaram efeitos significativos ($p < 0,05$), sendo que o padrão α -tocoferol e a combinação EUN + BHT apresentaram as maiores atividades antioxidantes (86,93%), enquanto que os menores valores foram observados pela combinação EUI + BHT. Também não foram encontrados estudos relacionados à atividade antioxidante da combinação dos extratos de semente e casca de uva das variedades Isabel e Niágara e a combinação dos extratos com o antioxidante sintético BHT, para efeito de comparação.

A Tabela 7 demonstra que o EUN, nas concentrações de 200 e 300 mg.mL⁻¹, apresentaram os maiores valores de atividade antioxidante de 68,43 e 56,13%, respectivamente. Porém não foram encontrados trabalhos sobre a atividade antioxidante dos extratos de uva das variedades Niágara e Isabel (*Vitis labrusca*) por este método, para fins de discussão. O EUN foi significativamente superior ($p < 0,05$) ao EUI, em ambas as concentrações analisadas, demonstrando assim uma maior capacidade de inibição da peroxidação lipídica pela variedade Niágara. Isto pode ser explicado, em parte, pela maior quantidade de compostos fenólicos (catequina e epicatequina).

Comparando a atividade antioxidante destas variedades, nas diferentes concentrações com os padrões BHT e α -tocoferol (substâncias de referência), pode-se observar que apenas a variedade Niágara na concentração de 300 mg.mL⁻¹ é que mostrou não possuir diferença significativa ($p < 0,05$).

Tabela 7 – Atividade antioxidante (AA) na inibição da peroxidação lipídica dos EUI e EUN e as substâncias de referência α -tocoferol e BHT

Tratamentos (mg.mL ⁻¹)		AA (%)
EUI	200	35,94±16,79 ^{cd}
	300	32,49±8,99 ^d
EUN	200	56,13±0,35 ^{bc}
	300	68,53±3,97 ^{ab}
α -tocoferol	90	89,63±5,18 ^a
BHT	90	93,81±5,05 ^a
Pr>F	-	0,0001

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Nos estudos feitos por de Negro, Tommasi e Miceli (2003), foi pesquisada a atividade antioxidante pelo sistema β -caroteno/ácido linoléico de diferentes concentrações de extratos de uvas (*Vitis vinifera*), extraídos com etanol 80% e acidificado com 0,5% 0,1M HCl. Estes extratos foram obtidos de resíduos de uva (semente e casca). Todos os extratos apresentaram atividade antioxidante, a qual aumentou com o aumento da concentração de substâncias fenólicas até atingir a concentração mais alta de 160 mg.mL⁻¹. Testando os extratos na concentração de 160 mg.mL⁻¹, foi obtido valores altos de atividade antioxidante, nos limites de 86,33±0,64% para os extratos de casca e 89,97±1,57 % para os extratos de semente de uva. Estes resultados foram melhores que os obtidos pelo presente estudo, pois foram encontradas altas atividades antioxidantes em concentrações menores, o que pode estar associado ao tipo de uva testado e a forma pela quais os compostos fenólicos foram extraídos, com, por exemplo, o uso de solventes diferentes.

O mecanismo da descoloração do β -caroteno é um fenômeno de um radical livre que resulta em um hidroperóxido formado a partir do ácido linoléico. No sistema modelo, o β -caroteno sofre a descoloração rápida na ausência de um antioxidante. Como as moléculas do β -caroteno perdem as duplas ligações pela oxidação, o composto perde suas características como a cor laranja, o que pode ser observado espectrofotometricamente. A presença de diferentes extratos antioxidantes pode impedir a descoloração do β -caroteno, neutralizando o radical livre do ácido linoléico e outros radicais livres formados no sistema (JAYAPRAKASHA; SINGH; SAKARIAH, 2001). Este mecanismo foi observado nos ensaios realizados neste experimento. A adição dos extratos antioxidantes de semente e casca de uva impediram a descoloração do β -caroteno, com a conseqüente neutralização do radical livre do ácido linoléico e de outros compostos no sistema.

4.2 Determinação da estabilidade oxidativa

4.2.1 Análise em Rancimat

Os EUI, EUN e o antioxidante sintético BHT diferiram significativamente do controle ($p<0,05$), aumentando o tempo de indução do óleo de soja bruto de 2,35 para 4,21, 3,73 e 3,94 horas, respectivamente (Tabela 8). Deste modo, os extratos das uvas exerceram uma boa proteção contra a oxidação e o seu efeito protetor relativamente forte em sistemas oleosos pode ser atribuído às propriedades dos compostos fenólicos. A capacidade doadora de hidrogênio e a inibição da oxidação

aumentam com o aumento no número de grupos hidroxilas no fenol. Assim, a alta atividade antioxidante do extrato de uva também pode ser atribuída aos seus componentes principais, como as catequinas. A (+)galocatequina com o anel β -catecol e 3 grupos hidroxilas livres com alta capacidade de seqüestrarem e absorverem radicais livres (BELTRAN et al., 2000). Resultados semelhantes foram encontrados por Lafka et al. 2007, que analisando extratos de semente e casca de uva *Vitis vinifera*, observaram um aumento no período de indução em óleo de girassol de 7,45 para 15,27 horas. Nas amostras de extrato de semente e casca de uva (Tabela 8), a variedade Isabel apresentou melhor fator de proteção para o óleo bruto, indicando que este extrato teve uma boa atividade antioxidante.

Tabela 8 – Período de indução e fator de proteção

Amostra	Período de indução (h)	Fator de Proteção
Controle	2,35±0,67 ^b	1,00
EUI 400 mg.mL ⁻¹	4,21±0,26 ^a	1,79
EUN 400 mg.mL ⁻¹	3,73±0,13 ^a	1,59
BHT 400 mg.mL ⁻¹	3,94±0,01 ^a	1,68
Pr>F	0,0240	-

Médias seguidas de letras diferentes diferem estatisticamente ($p<0,05$) pelo teste de Tukey.

Não foram encontrados trabalhos que avaliaram as uvas da espécie *Vitis labrusca* (variedades Isabel e Niágara) para efeito de comparação, porém foi possível observar que estas uvas apresentam atividade antioxidante em óleo de soja bruto, semelhante do apresentado por variedades da espécie *Vitis vinifera*.

4.3. Determinação da concentração dos extratos (Ensaio 2)

4.3.1 Determinação da oxidação lipídica (TBARS)

Os valores de TBARS para carne de frango cozida, embalada em embalagem aeróbica (PVC) e armazenada a $4\pm1^{\circ}\text{C}$ por até 14 dias, foi significativamente diferente ($p<0,05$) para os fatores tratamento e tempo de armazenamento e para a interação entre estes (Tabela 9).

As médias dos valores de TBARS para todos os tratamentos mostraram-se significativamente diferentes ($p < 0,05$). As concentrações mais altas de extratos adicionados (EUI60 e EUN60) apresentaram valores de TBARS mais baixos, sendo estes 3,88 e 3,90 mg de malonaldeído.kg⁻¹ de carne para EUN60 e EUI60, respectivamente. Estes resultados demonstram o efeito antioxidante dos extratos de casca e semente de uva diminuindo o valor de TBARS. Estes resultados são de acordo com os encontrados por outros autores (LAI et al., 1991; MIELNIK et al., 2003; MIELNIK et al., 2006), que verificaram uma relação linear entre a quantidade de um antioxidante (extrato de alecrim e extrato de semente de uva) e os valores de TBARS, indicando que o efeito depende da concentração dos antioxidantes, como foi observado no presente estudo.

Tabela 9 – Resultados das análises de variância para valores de TBARS medidos em carne de frango cozida, submetida à aplicação de diferentes tratamentos antioxidantes e armazenada a $4\pm 1^\circ\text{C}$ até os 14 dias em embalagem aeróbica (continua)

Fonte de variação	Fator	TBARS (mg.kg^{-1}) valores médios	Nível de significância
Tratamentos (A)	CNTL	6,41	0,0001*
	BHT	4,68	
	EUI10	7,14	
	EUI20	6,18	
	EUI40	4,61	
	EUI60	3,90	
	EUN10	6,20	
	EUN 20	6,12	
	EUN40	4,79	
	EUN60	3,88	
Tempo de armazenamento – dias (B)	0	1,95	0,0001*
	3	4,16	
	7	5,98	
	14	9,49	
Tratamento x tempo de armazenamento em dias (A x B)	CNTL x 0	2,53	0,0116*
	CNTL x 3	5,68	
	CNTL x 7	7,23	
	CNTL x 14	10,21	
	BHT x 0	1,65	
	BHT x 3	3,59	
	BHT x 7	5,46	
	BHT x 14	8,03	
	EUI10 x 0	2,41	
	EUI10 x 3	5,63	
	EUI10 x 7	8,13	
	EUI10 x 14	12,39	
	EUI 20 x 0	2,09	
	EUI20 x 3	5,05	
	EUI20 x 7	7,19	
	EUI20 x 14	10,40	
	EUI40 x 0	1,70	
	EUI40 x 3	2,73	
	EUI40 x 7	5,25	
	EUI40 x 14	8,74	
	EUI60 x 0	1,53	
	EUI60 x 3	2,57	
	EUI60 x 7	4,11	
	EUI60 x 14	7,24	
	EUN10 x 0	2,12	
	EUN10 x 3	5,16	
	EUN10 x 7	6,87	
	EUN10 x 14	10,64	
	EUN20 x 0	2,08	
	EUN20 x 3	4,74	
	EUN20 x 7	6,73	
	EUN20 X 14	10,96	
	EUN40 x 0	1,71	
	EUN40 x 3	3,74	
	EUN40 x 7	4,80	
	EUN40 x 14	8,93	

Tabela 9 – Resultados das análises de variância para valores de TBARS medidos em carne de frango cozida, submetida à aplicação de diferentes tratamentos antioxidantes e armazenada a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ até os 14 dias em embalagem aeróbica (conclusão)

Fonte de variação	Fator	TBARS (mg.kg^{-1}) valores médios	Nível de significância
Tratamento x tempo de armazenamento em dias (A x B)	EUN60 x 0	1,66	0,0116*
	EUN60 x 3	2,66	
	EUN60 x 7	4,08	
	EUN60 x 14	7,13	

* significância a $p < 0,05$.

CNTL: controle; BHT: Butil-hidroxi-tolueno; EUI: Extrato de uva Isabel; EUN: Extrato de uva Niágara.

As Figuras 9 e 10 mostram as curvas regressões dos tratamentos analisados em função do tempo de armazenamento. Observa-se que ao longo do tempo de armazenamento, houve um aumento nos valores de TBARS, porém, estes valores foram superiores nos tratamentos CNTL, EUI10, EUI20, EUN10 e EUN20, e as baixas concentrações apresentassem valores de TBARS semelhantes ao controle (sem adição de extrato). Isto também foi observado nos estudos de Mielnik et al. (2006), que a utilização de concentrações baixas do extrato de semente de uva preveniu o desenvolvimento da oxidação lipídica na carne de peru, porém de forma lenta. Já para os demais tratamentos, BHT, EUI40, EUI60, EUN40 e EUN60, os valores de TBARS foram menores ($p < 0,05$), indicando uma maior eficiência dos extratos quando em concentrações maiores de 40 mg CFT.

O tempo de armazenamento teve influência significativa ($p < 0,05$) no desenvolvimento da oxidação lipídica na carne de frango processada, o que resultou em um aumento nos valores de TBARS durante o armazenamento (Tabela 9). Estes resultados também foram observados por Mielnik et al. (2006), que ao longo do período de armazenamento observou aumento intensivo nos valores de TBARS, em amostras de carne de peru.

Figura 9 – Interação entre tratamentos e tempo de armazenamento das amostras de carne de frango cozidas armazenadas sob condições aeróbicas a 4±°C. Tratamentos: CNTL: controle; BHT: 0,01g BHT.100g⁻¹ de carne; EUI10: extrato de uva Isabel com 10mgCFT, EUI20: extrato de uva Isabel com 20mgCFT.e EUI40: extrato de uva Isabel com 40mgCFT)

A interação entre a concentração de extrato de uva e o tempo de armazenamento acentuou a importância da quantidade de antioxidante acrescentado à carne antes do cozimento. Os valores mais altos de TBARS, medidos diretamente após o cozimento, foram obtidos nas amostras de carne de frango sem antioxidante (CNTL) (2,53 mg malonaldeído.kg⁻¹). Os extratos de uva mostraram um efeito protetor significativo em relação à oxidação lipídica que ocorre tanto durante o processo de cozimento como no armazenamento refrigerado.

Figura 10 – Interação entre tratamentos e tempo de armazenamento das amostras de carne de frango cozidas armazenadas sob condições aeróbicas a $4\pm^{\circ}\text{C}$. Tratamentos: EUI60: extrato de uva Isabel com 60mgCFT; EUN10: extrato de uva Niágara com 10mgCFT, EUN20: extrato de uva Niágara com 20mgCFT; EUN40: extrato de uva Niágara com 40mgCFT e EUN60: extrato de uva Niágara com 60mgCFT)

As altas concentrações de extratos de uva (EUI60 e EUN60) retardaram o processo de oxidação mais eficientemente, mantendo os valores de TBARS durante o armazenamento de 7 dias abaixo de $4,12 \text{ mg malonaldeído.kg}^{-1} \text{ carne}$ (Tabela 9).

A rancidez oxidativa medida por TBARS para todas as amostras aumentaram durante o armazenamento, porém em proporções diferentes entre os diversos tratamentos.

Diversos estudos sobre a atividade antioxidante dos extratos de semente de uva em carnes estão descritos (AHN; GRÜN; FERNANDO, 2002; ROJAS; BREWER, 2007; BRANNAN; MAH, 2007; BRANNAN, 2008). Estes autores afirmam que mesmo em diferentes concentrações, os extratos de semente de uva apresentam eficiente atividade na inibição da oxidação lipídica em vários tipos de carnes e é um potencial antioxidante natural em carnes cruas e cozidas. Os resultados desse estudo, principalmente para as concentrações de 40 e 60mg de compostos fenólicos totais corroboram com as observações acima e comprovam o efeito positivo dos extratos de uva na estabilidade oxidativa dos produtos cárneos cozidos.

4.4 Avaliação da estabilidade oxidativa e qualidade das amostras carne de frango processada (Ensaio 3)

4.4.1 Composição centesimal (CC)

Na avaliação da porcentagem de umidade, observou-se que houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos avaliados. O mesmo foi constatado em relação à porcentagem de proteína. A porcentagem de cinzas, não diferiu estatisticamente ($p > 0,05$) entre os tratamentos. Já quanto à porcentagem de lipídeos, o tratamento BHT apresentou valor significativamente ($p < 0,05$) maior ($5,45 \pm 0,07$) que os demais tratamentos (Tabela 10).

Tabela 10 – Médias da composição centesimal (umidade, proteína, lipídeos e cinzas) da carne de frango crua dos seis tratamentos antioxidantes realizados

Tratamento	Umidade (%)	Proteína (%)	Lipídeos (%)	Cinzas (%)
CNTL	$74,39 \pm 0,35^{ab}$	$16,10 \pm 0,21^{bc}$	$4,75 \pm 0,09^b$	$1,75 \pm 0,04^a$
BHT	$73,56 \pm 0,21^b$	$18,56 \pm 0,24^{ab}$	$5,45 \pm 0,07^a$	$1,74 \pm 0,07^a$
EUI60	$74,91 \pm 0,61^a$	$16,16 \pm 0,33^{bc}$	$4,67 \pm 0,13^b$	$1,68 \pm 0,08^a$
EUN60	$73,99 \pm 0,83^{ab}$	$14,72 \pm 1,15^c$	$4,91 \pm 0,19^b$	$1,64 \pm 0,01^a$
EUI40	$74,17 \pm 0,11^{ab}$	$17,81 \pm 0,45^{ab}$	$4,85 \pm 0,05^b$	$1,71 \pm 0,02^a$
EUN40	$71,19 \pm 0,07^{ab}$	$19,79 \pm 2,22^a$	$4,64 \pm 0,10^b$	$1,75 \pm 0,02^a$

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Segundo Taco (2006) os valores da composição da coxa e sobrecoxa de frango crua, sem pele são: 72,3% de umidade, 17,1% de proteína, 9,8% de lipídeos, 0,5% de carboidratos e 0,8% de cinzas.

4.4.2 Avaliação microbiológica

A análise microbiológica das amostras de cada um dos tratamentos no primeiro dia de análise, estão demonstrados na Tabela 11. Todos os resultados estão de acordo com a legislação (Resolução nº12 de 12 de janeiro de 2001), que estabelece o limite de máximo de 10^4 ($\log = 4$) coliformes fecais g^{-1} .

Posteriormente, foram realizadas análises de Psicrotróficos aeróbios e anaeróbios nos pontos 7 e 14 dias para as amostras acondicionadas em embalagem aeróbica (PVC), e 7, 14 e 21 dias para amostras acondicionadas em embalagem a vácuo. Os resultados destas análises estão demonstrados nas Figuras 11 e 12 e anexo 1. Não foi observado diferenças significativas entre os pontos de análise e nem entre as embalagens estudadas (aeróbica e vácuo) para os microrganismos Psicrotróficos aeróbios e anaeróbios nos pontos ($p>0,05$).

Tabela 11 – Caracterização microbiológica das amostras de carne de frango nos diferentes tratamentos no primeiro dia de análise

Microrganismos	Tratamentos					
	CNTL	BHT	EUI60	EUN60	EUI40	EUN40
<i>Clostridium Sul. redutor</i> (log UFC.g ⁻¹)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Coliformes totais (NMP. g ⁻¹)	<2	<2	<2	<2	<2	<2
Mesófilos aeróbios (log UFC.g ⁻¹)	2,15	2,23	2,26	2,08	2,26	2,08
Psicrotróficos aeróbios (log UFC.g ⁻¹)	2,58	2,60	2,50	2,50	2,50	2,50
Psicrotróficos anaeróbios (log UFC.g ⁻¹)	2,50	1,85	2,45	1,81	2,45	1,81
<i>Staphylococcus aureus</i> (log UFC.g ⁻¹)	2,00	2,30	2,08	<2	2,08	<2
<i>Salmonella</i>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

NMP – Número mais provável

UFC – Unidades formadoras de colônias.

CNTL: controle; BHT: 0,01g BHT.100 g⁻¹ de carne; EUI60: extrato de uva Isabel com 60 mgCFT; EUN60: extrato de uva Niágara com 60 mgCFT; EUI40: extrato de uva Isabel com 40 mgCFT e EUN40: extrato de uva Niágara com 40 mgCFT

Até o 14º dia de estocagem em embalagem aeróbica (PCV), as amostras de todos os tratamentos apresentaram contagens entre 2,49 a 6,40 UFC.g⁻¹ para Psicrotróficos aeróbios e 1,72 a 5,01 UFC.g⁻¹ Psicrotróficos anaeróbios. Já para a embalagem sob vácuo, as amostras de todos os tratamentos apresentaram contagens entre 2,49 a 4,91 UFC.g⁻¹ para Psicrotróficos aeróbios e 1,75 a 5,48 UFC.g⁻¹ Psicrotróficos anaeróbios.

Os resultados da análise microbiológica para as amostras no 14º dia de armazenamento apresentaram, para ambas as embalagens, contagens de Psicrotróficos aeróbios e Psicrotróficos anaeróbios, e por isso não foram submetidas ao teste sensorial para avaliar o atributo sabor de frango característico.

(a)

(b)

Figura 11 – Contagem de Psicrotróficos (a) aeróbios e (b) anaeróbios até 14 dias de armazenamento para as amostras acondicionadas em embalagem aeróbica (PVC) ($4\pm 1^\circ\text{C}$)

(a)

(b)

Figura 12 - Contagem de Psicrotróficos (a) aeróbios e (b) anaeróbios até 21 dias de armazenamento para as amostras acondicionadas em embalagem vácuo ($4\pm 1^\circ\text{C}$)

4.4.3 Cor instrumental

As médias de L^* (luminosidade) mostraram-se significativamente diferentes entre os tratamentos ($p < 0,05$). É possível observar que os valores de L^* para as amostras dos tratamentos CNTL e BHT apresentaram valores maiores que os demais tratamentos, mostrando que houve uma diferença significativa entre esses tratamentos e os demais ($p < 0,05$) (Tabela 12). Essa diferença pode ter sido ocasionada pela adição dos extratos nos demais tratamentos, e/ou por estes apresentarem uma coloração escura, que pode ter alterado a cor das amostras.

Tabela 12 – Análises de variância dos parâmetros de L*, a* e b* medidos nos diferentes tratamentos, nas amostras de carne de frango cozida, armazenadas por 14 dias a 4±1°C em embalagem aeróbica (PVC) e vácuo (continua)

Fonte de variação	Fator	Cor instrumental		
		L*	a*	b*
Tratamentos (A)	CNTL	70,18	3,14	16,97
	BHT	70,17	4,95	17,15
	EUI60	68,53	3,93	14,86
	EUN60	68,92	4,36	15,35
	EUI40	69,46	4,49	15,46
	EUN40	69,76	4,47	14,17
		0,0003*	0,3427	0,0018*
Embalagem (B)	Aeróbica	69,79	3,59	15,70
	Vácuo	69,21	4,86	16,96
		0,0115*	0,0194*	0,3828
Tempo de armazenamento (dias) (C)	0	69,35	4,87	16,59
	7	69,48	3,93	15,50
	14	69,68	3,88	15,40
		0,4231	0,0280*	0,0521
Tratamento x Embalagem (A x B)	CNTL x Aeróbica	70,53	2,53	16,94
	CNTL x Vácuo	69,83	3,76	16,99
	BHT x Aeróbica	70,60	4,78	16,88
	BHT x Vácuo	69,75	5,12	17,42
	EUI60 x Aeróbica	68,78	3,25	14,83
	EUI60 x Vácuo	68,28	4,61	14,89
	EUN60 x Aeróbica	69,24	3,55	15,15
	EUN60 x Vácuo	68,59	5,17	15,56
	EUI40 x Aeróbica	69,68	3,62	15,40
	EUI40 x Vácuo	69,25	5,36	15,51
	EUN40 x Aeróbica	69,96	3,82	14,98
	EUN40 x Vácuo	69,56	5,12	15,36
		0,9898	0,9512	0,9928
Tratamento x Tempo de armazenamento em dias (A x C)	CNTL x 0	69,40	4,50	17,42
	CNTL x 7	70,05	2,32	17,13
	CNTL x 14	71,09	2,60	16,35
	BHT x 0	70,31	5,02	17,60
	BHT x 7	69,91	4,99	17,08
	BHT x 14	70,29	4,83	16,77
	EUI60 x 0	68,64	4,41	15,40
	EUI60 x 7	68,21	3,99	14,62
	EUI60 x 14	68,73	3,40	14,57
	EUN60 x 0	68,33	5,13	16,52
	EUN60 x 7	68,13	4,00	14,72
	EUN60 x 14	69,29	3,94	14,81
	EUI40 x 0	69,19	5,28	16,86
	EUI40 x 7	69,85	4,06	14,60
	EUI40 x 14	69,36	4,12	14,92
	EUN40 x 0	70,23	4,85	15,71
	EUN40 x 7	69,73	4,19	14,83

Tabela 12 – Análises de variância dos parâmetros de L*, a* e b* medidos nos diferentes tratamentos, nas amostras de carne de frango cozida, armazenadas por 14 dias a 4±1°C em embalagem aeróbica (PVC) e vácuo (conclusão)

Fonte de variação	Fator	Cor instrumental		
		a*	b*	a*
Tratamento x Tempo de armazenamento em dias (A x C)	EUN40 x 14	69,31	4,37	14,97
		0,3114	0,6251	0,8370
Embalagem x Tempo de armazenamento em dias (B x C)	Aeróbica x 0	69,35	4,87	16,59
	Aeróbica x 7	70,03	3,01	15,33
	Aeróbica x 14	70,00	2,89	15,17
	Vácuo x 0	69,35	4,87	16,59
	Vácuo x 7	68,93	4,84	15,66
	Vácuo x 14	69,35	4,87	15,63
		0,2286	0,0308*	0,8474

* significância a p<0,05.

CNTL: controle; BHT: Butil-hidroxi-tolueno; EUI: Extrato de uva Isabel; EUN: Extrato de uva Niágara.

Os valores de L* medidos para as diferentes embalagens também apresentaram diferença significativas (p<0,05), sendo 69,79 e 69,21 para amostras cozidas contidas na embalagem aeróbica (PVC) e vácuo, respectivamente. Apesar da diferença significativa não existe uma diferença na aparência de ambas as amostras nesse tipo de embalagens. Não foram encontrados na literatura, trabalhos que mostrassem essa diferença entre produtos armazenados em diferentes embalagens com aplicação de extratos de uva para efeito de comparação. Já entre os pontos de análise, não houve diferença significativa entre os valores de L* medidos ao longo do tempo de armazenamento (p>0,05).

Nos estudos de Rababah et al. (2005) foram avaliados amostras de carne de frango marinados com extratos de semente de uva comercial, submetidas ao cozimento em forno elétrico convencional e microondas. Os pesquisadores observaram valores de luminosidade (L*), para carne de frango cozida usando forno elétrico convencional e microondas, na faixa de 50,3 a 56,2 e 42,6 a 50,5, respectivamente. Para 0 a 12 dias de armazenamento, os extratos de semente de uva produziram valores de L* na faixa de 51,2 a 53,7 e 42,6 a 47,3, utilizando forno elétrico convencional e microondas, respectivamente. Estes autores observaram que, em geral, o cozimento das amostras em microondas fez diminuir os valores de L* (p<0,05) comparado com o forno elétrico convencional, e a adição de antioxidantes não produziu nenhuma diferença entre as amostras. Nos resultados analisados do presente estudo, observa-se que os valores de L* das amostras de todos os tratamentos foram maiores que nos estudos dos autores citados, isto indica que a cor das amostras mostrou-se mais clara.

Os valores médios de a^* (intensidade de vermelho/verde), para todos os tratamentos, não mostraram diferença significativa ($p>0,05$). Esses valores apresentaram-se na faixa de 3,14 a 4,95.

Rababah et al. (2005) apontam para valores de a^* de carne de frango cozida usando forno elétrico convencional e microondas na faixa de 1,1 a 1,7 e 1,7 a 2,5, respectivamente. Para 0 a 12 dias de armazenamento refrigerado, amostras de carne de frango cozidas contendo extratos de semente de uva produziram valores de a^* na faixa de 1,3 a 1,7 e 1,6 a 2,0 usando forno elétrico convencional e microondas, respectivamente. Os autores observaram ainda que o cozimento em forno de microondas aumentou os valores de a^* em todas as amostras. No geral, a mioglobina é o principal pigmento responsável pela cor das amostras de carne de frango.

Entre as diferentes embalagens utilizadas, foram encontradas diferenças significativas nos valores médios de a^* ($p<0,05$), e entre os pontos de análise ao longo do tempo de armazenamento. No caso das embalagens, essa diferença pode ser explicada pelo fato da embalagem aeróbica (PVC) propiciar um contato das amostras com o oxigênio, atuar na mioglobina da carne, promovendo uma coloração mais avermelhada das amostras.

Os valores médios de b^* (intensidade de amarelo/azul) mostraram diferenças significativas ($p>0,05$) entre os tratamentos. Os valores de b^* para os tratamentos apresentaram-se na faixa de 14,17 a 17,15. Os valores de b^* encontrados nesse estudo são superiores aos encontrados por Rababah et al. (2005) em carne de frango cozida usando forno convencional e microondas. Estes valores de b^* estavam na faixa de 3,3 a 5,2 e 3,4 a 5,4, respectivamente, não havendo diferença significativa entre as amostras. Nesse mesmo estudo, para 0 a 12 dias de armazenamento, extrato de semente de uva produziram valores de b^* numa faixa de 3,8 a 5,2 e 3,9 a 5,4 usando forno convencional elétrico e microondas, respectivamente.

4.4.4 Avaliação do pH

Os resultados de pH encontrados para os diferentes tratamentos foram na faixa de 6,46 a 6,79, não havendo diferença significativa entre os diferentes tratamentos ($p>0,05$) (Tabela 13). Pode-se observar uma diferença significativa nos valores de pH entre os pontos de análise ($p<0,05$), e que ao longo do tempo de armazenamento, os valores de pH diminuíram.

Tabela 13 – Resultados das análises de variância para valores de pH medidos nos diferentes tratamentos, em carne de frango cozida e armazenada por 14 dias ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$) utilizando embalagem aeróbica e vácuo

Fonte de variação	Fator	pH	Nível de significância
Tratamentos (A)	CNTL	6,62	0,8712
	BHT	6,59	
	EUI60	6,61	
	EUN60	6,61	
	EUI40	6,60	
	EUN40	6,59	
Embalagem (B)	Aeróbica	6,60	0,9424
	Vácuo	6,60	
Tempo de armazenamento – dias (C)	0	6,77	0,0001*
	7	6,56	
	14	6,49	
Tratamento x Embalagem (A x B)	CNTL x Aeróbica	6,62	0,9896
	CNTL x Vácuo	6,63	
	BHT x Aeróbica	6,59	
	BHT x Vácuo	6,60	
	EUI60 x Aeróbica	6,61	
	EUI60 x Vácuo	6,62	
	EUN60 x Aeróbica	6,60	
	EUN60 x Vácuo	6,61	
	EUI40 x Aeróbica	6,61	
	EUI40 x Vácuo	6,59	
	EUN40 x Aeróbica	6,59	
	EUN40 x Vácuo	6,59	
Tratamento x Tempo de armazenamento em dias (A x C)	CNTL x 0	6,78	0,9944
	CNTL x 7	6,57	
	CNTL x 14	6,52	
	BHT x 0	6,76	
	BHT x 7	6,53	
	BHT x 14	6,48	
	EUI60 x 0	6,77	
	EUI60 x 7	6,56	
	EUI60 x 14	6,49	
	EUN60 x 0	6,74	
	EUN60 x 7	6,57	
	EUN60 x 14	6,50	
	EUI40 x 0	6,78	
	EUI40 x 7	6,55	
	EUI40 x 14	6,48	
	EUN40 x 0	6,75	
	EUN40 x 7	6,55	
	EUN40 x 14	6,47	
Embalagem x tempo de armazenamento em dias (A x B)	Aeróbica x 0	6,77	0,4863
	Aeróbica x 7	6,56	
	Aeróbica x 14	6,48	
	Vácuo x 0	6,77	
	Vácuo x 7	6,55	
	Vácuo x 14	6,50	

* significância a $p < 0,05$.

CNTL: controle; BHT: Butil-hidroxi-tolueno; EUI: Extrato de uva Isabel; EUN: Extrato de uva Niágara.

Estudos realizados por Rababah et al. (2005), em amostras de carne de frango marinadas com extratos de semente de uva comercial, submetidas ao cozimento em forno elétrico convencional e microondas os valores de pH foram próximos de 6,0 em todas as amostras. Entretanto, também não houve diferença significativa entre os tratamentos ($p>0,05$) analisados por estes autores, corroborando com os resultados encontrados neste experimento.

Com relação às interações tratamento x embalagem, tratamento x tempo de armazenamento e embalagem x tempo de armazenamento não houve diferença significativa ($p>0,05$) nos valores de pH.

4.4.5 Determinação da oxidação lipídica (TBARS)

A análise de variância dos valores de TBARS para carne de frango cozida, nos diferentes tratamentos embalados em condições aeróbica e vácuo, armazenado a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 14 dias demonstraram efeitos significativos ($p<0,05$) em três fatores analisados, e interação significativa entre tratamentos x embalagens e embalagem x tempo de armazenamento (Tabela 14).

As médias dos valores de TBARS para todos os tratamentos mostraram-se significativamente diferentes ($p<0,05$). O tratamento BHT mostrou ser mais eficiente do que os demais tratamentos, apresentando um valor médio de TBARS menor, sendo este de $3,82 \text{ mg malonaldeído.kg}^{-1}$ amostra. Os demais tratamentos (EUI60, EUN60, EUI40 e EUN40) não apresentaram diferença significativa entre eles ($p>0,05$), mostrando que as diferentes dosagens de extrato de semente e casca de uvas aplicadas proporcionaram o mesmo processo de oxidação das amostras. Já estas dosagens comparadas ao controle, foram mais eficientes ($p<0,05$) na estabilidade oxidativa do produto.

Tabela 14 – Resultados das análises de variância para valores de TBARS medidos em carne de frango cozida em diferentes tratamentos e embalagens, armazenadas por 14 dias a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$

Fonte de variação	Fator	TBARS (mg/kg) valores médios	Nível de significância
Tratamentos (A)	CNTL	10,23	0,0001*
	BHT	3,82	
	EUI60	5,72	
	EUN60	6,24	
	EUI40	5,70	
	EUN40	5,67	
Embalagem (B)	Aeróbica	7,96	0,0001*
	Vácuo	4,50	
Tempo de armazenamento – dias (C)	0	3,86	0,0001*
	7	6,53	
	14	8,31	
Tratamento x Embalagem (A x B)	CNTL x Aeróbica	11,08	0,0084*
	CNTL x Vácuo	9,38	
	BHT x Aeróbica	5,11	
	BHT x Vácuo	2,53	
	EUI60 x Aeróbica	7,22	
	EUI60 x Vácuo	4,23	
	EUN60 x Aeróbica	8,60	
	EUN60 x Vácuo	3,87	
	EUI40 x Aeróbica	8,02	
	EUI40 x Vácuo	3,39	
	EUN40 x Aeróbica	7,71	
	EUN40 x Vácuo	3,62	
Tratamento x Tempo de armazenamento em dias (A x C)	CNTL x 0	7,33	0,2272
	CNTL x 7	10,56	
	CNTL x 14	12,80	
	BHT x 0	2,34	
	BHT x 7	3,84	
	BHT x 14	5,28	
	EUI60 x 0	3,25	
	EUI60 x 7	5,61	
	EUI60 x 14	8,31	
	EUN60 x 0	4,03	
	EUN60 x 7	6,61	
	EUN60 x 14	8,06	
	EUI40 x 0	3,09	
	EUI40 x 7	6,40	
	EUI40 x 14	7,61	
	EUN40 x 0	3,08	
	EUN40 x 7	6,14	
	EUN40 x 14	7,79	
Embalagem x tempo de armazenamento em dias (A x B)	Aeróbica x 0	3,78	0,0001*
	Aeróbica x 7	8,76	
	Aeróbica x 14	11,33	
	Vácuo x 0	3,93	
	Vácuo x 7	4,30	
	Vácuo x 14	5,29	

* significância a $p < 0,05$.

CNTL: controle; BHT: Butil-hidroxi-tolueno; EUI: Extrato de uva Isabel; EUN: Extrato de uva Niágara.

Não foram encontrados na literatura, trabalhos que avaliassem a aplicação de extratos de semente e casca de uva das variedades Isabel e Niágara (*Vitis labrusca*) em carne de frango processada para comprovar o efeito destes sob a estabilidade oxidativa. Rababah et al. (2006) estudaram o efeito do armazenamento (5°C) por até 12 dias de amostras de carne de frango cozida contendo diferentes antioxidantes (extrato de semente de uva comercial (*Vitis vinifera*) (2500 µg.mL⁻¹), extrato de chá verde (2500 µg.mL⁻¹) e TBHQ (200 µg.mL⁻¹)). Estes autores encontraram ao longo do tempo de armazenamento valores de TBARS na faixa de 25 a 78 mg malonaldeído.kg⁻¹ de carne de frango. E ao compararem os tratamentos com o controle, observaram que o uso dos extratos de semente de uva comercial apresentou valores de TBARS menores. Os resultados de TBARS foram muito acima dos encontrados por este estudo, mostrando que os extratos aplicados neste experimento apresentam alta eficiência na estabilidade oxidativa dos produtos cárneos. O TBHQ tem se mostrado um antioxidante eficiente para retardar a oxidação lipídica. Para estes autores, os resultados demonstram que TBHQ são eficientes na redução da oxidação lipídica em carnes de frango cozidas. Estes estudos corroboram com o experimento realizado, mostrando que os antioxidantes sintéticos são mais eficientes (p<0,05), mas que os antioxidantes naturais como os extratos de semente de uva, podem ser aplicados para retardar esta degradação lipídica, pois se mostraram significativamente superiores ao tratamento sem antioxidante (controle) (p<0,05).

As embalagens utilizadas tiveram influência sobre o desenvolvimento da oxidação lipídica (Tabela 14). Os valores de TBARS medidos na carne de frango cozida armazenada sob vácuo foram significativamente mais baixos (p<0,05) que as amostras armazenadas em embalagem aeróbica (PVC). Os valores médios de TBARS na embalagem aeróbica foram 77% maiores do que os valores encontrados para a embalagem a vácuo. O acesso restrito ao ar (oxigênio) limita a oxidação em carnes de frango (JANTAWAT; DAWSON, 1980; BARBUT; KAKUDA; CHAN, 1990; AHN et al., 1993). Nos estudos de Mielnik et al. (2006), pode-se observar esta diferença entre as embalagens utilizadas. Estes autores testaram dois tipos de embalagem (aeróbica e vácuo) e obtiveram resultados similares aos encontrados neste experimento, mostrando que os valores de TBARS são menores para as amostras armazenadas com restrição de oxigênio.

O tempo de armazenamento (Tabela 14) teve influência significativa (p<0,05) no desenvolvimento da oxidação lipídica na carne de frango processada, resultando em um aumento nos valores de TBARS de 69% até o 7º dia de armazenamento e de 115% durante os 14 dias de armazenamento. Estes resultados também foram observados por Mielnik et al. (2006), que ao longo

do período de armazenamento (13 dias) constatou um aumento intensivo nos valores de TBARS em amostras de carne de peru cozidas com adição de extratos de semente de uva (*Vitis vinifera*).

A interação entre os tratamentos (controle, BHT e concentrações dos extratos de uva) e as embalagens utilizadas (aeróbica e vácuo) mostrou diferenças significativas ($p < 0,05$). Os valores médios de TBARS para as amostras contendo extratos de semente de uva em diferentes concentrações e embaladas a vácuo apresentaram-se na faixa de 3,39 a 4,23 mg de malonaldeído.kg⁻¹ de amostra. Conforme observado na Tabela 14, os valores de TBARS foram menores quando se utilizou o antioxidante sintético BHT e a embalagem a vácuo. Todos os demais tratamentos com extrato de uva também mostraram valores menores de TBARS quando associados à embalagem a vácuo (Tabela 14), confirmando que a aplicação do extrato de semente de uva com a embalagem a vácuo aumentou em 77% a estabilidade oxidativa nas amostras de carne de frango cozidas. Nos estudos realizados por Mielnik et al. (2006), os mesmos observaram que a associação de diferentes concentrações de extratos de uva (*Vitis vinifera*) com embalagens que restringiam o acesso ao oxigênio, mostrou valores menores de TBARS nas amostras de carne de peru cozida.

A interação entre os diferentes tratamentos (controle, BHT e concentrações dos extratos de uva) e o tempo de armazenamento não apresentou significância estatística ($p > 0,05$), contradizendo o observado nos estudos de Mielnik et al. (2006), que verificaram que a interação entre os tratamentos e período de estocagem é de grande importância para retardar a oxidação lipídica. Nos estudos destes autores, foram observados que ao longo do tempo de armazenamento, os maiores valores de TBARS medidos foram para as amostras que não continham antioxidantes. Já as amostras tratadas com extratos de semente de uva demonstraram um efeito protetor significativo retardando a oxidação lipídica ao longo do tempo de armazenamento.

Foi observada interação significativa ($p < 0,05$) entre o tipo de embalagem e o tempo de armazenamento.

A regressão para as amostras de carne de frango processada e cozida em embalagem aeróbica (PVC) teve um comportamento exponencial, e de acordo com a equação, apresenta maiores valores de TBARS, com deterioração do produto mais rápida do que as amostras embaladas a vácuo (Figura 13 e 14). A rancidez oxidativa por TBARS aumentou para todas as amostras durante o armazenamento, porém com aumentos mais altos de TBARS observados depois de 7 dias nas amostras controle sem antioxidantes e embalados em condição aeróbica (PVC). A retirada do oxigênio melhorou a estabilidade oxidativa das carnes, especialmente as amostras sem ou com concentrações baixas de

extrato de semente e casca de uva. Estes resultados estão de acordo com o relatado por Lee e Ahn (2003), que afirmam que os valores de TBARS de carne de peito de peru são afetados pelo antioxidante externo, pela embalagem, pela atmosfera e pelo período de armazenamento. Estes autores relataram ainda que os antioxidantes reduzem efetivamente a oxidação lipídica, tanto em embalagem aeróbica quanto sob vácuo, e que as carnes sob o tratamento controle, embaladas aerobicamente, apresentam valores de TBARS consideravelmente mais altos do que as carnes controles embaladas a vácuo, corroborando com o presente estudo.

Figura 13 – Análise de regressão para valores médios de TBARS para amostras de carne de frango cozidas armazenadas em embalagem PVC

Figura 14 – Análise de regressão para valores médios de TBARS para amostras de carne de frango cozidas armazenadas em embalagem a vácuo

Mielnik et al. (2006) estudando a aplicação de extrato de semente de uva (*Vitis vinifera*) em carne de peru cozida e embalada aerobicamente, aumentou os valores de TBARS para todas as amostras ao longo do tempo de armazenamento, porém estes valores foram maiores para as amostras controle (sem antioxidante). Também observaram que a remoção do oxigênio da embalagem aumentou a estabilidade das amostras de carne. Estes estudos também corroboram com os resultados apresentados neste estudo, mostrando que a concentração dos extratos de semente e casca de uva (40 e 60 mg de compostos fenólicos totais por 25 gramas de carne) e a embalagem aplicada no armazenamento influenciam a estabilidade oxidativa dos produtos cárneos.

4.4.6 Avaliação sensorial

Os resultados da avaliação sensorial demonstraram efeitos significativos ($p < 0,05$) em três fatores analisados e interação significativa entre tratamentos x tempo de armazenamento e embalagem x tempo de armazenamento (Tabela 15). Pode-se observar que houve diferença significativa para o atributo odor de ranço ($p < 0,05$) entre os tratamentos analisados, com maior valor a este atributo, e

conseqüentemente maior intensidade de odor de ranço, para o tratamento controle (CNTL). Para os demais tratamentos não houve diferença significativa ($p>0,05$), mostrando que o tratamento BHT não diferenciou dos tratamentos com aplicação de extratos de uvas (EUI40, EUN40, EUI60 e EUN60) e que os extratos de uva apresentam ação sobre a oxidação lipídica, não promovendo alteração de odor das amostras analisadas.

Tabela 15 – Resultados das análises de variância para os atributos sensoriais medidos em diferentes tratamentos e embalagens para carne de frango cozida, armazenada por 14 dias a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$

(continua)

Fonte de variação	Fator	Sensorial		
		Cor	Sabor	Odor
Tratamentos (A)	CNTL	3,10	6,75	2,82
	BHT	2,92	7,69	1,88
	EUI60	3,22	7,73	1,52
	EUN60	2,75	7,08	2,25
	EUI40	2,87	7,17	2,01
	EUN40	2,83	7,30	1,92
		0,4195	0,2313	0,0009*
Embalagem (B)	Aeróbica	3,12	7,23	2,12
	Vácuo	2,78	7,34	2,01
		0,0348*	0,6664	0,4521
Tempo de armazenamento (dias) (C)	0	2,25	7,53	1,38
	7	3,27	7,05	1,97
	14	3,33	-	2,85
		0,0001*	0,0601	0,0001*
Tratamento x Embalagem (A x B)	CNTL x Aeróbica	3,01	6,47	2,61
	CNTL x Vácuo	3,20	7,05	3,03
	BHT x Aeróbica	3,12	7,63	2,18
	BHT x Vácuo	2,72	7,48	1,58
	EUI60 x Aeróbica	3,59	7,54	1,72
	EUI60 x Vácuo	2,86	7,92	1,32
	EUN60 x Aeróbica	3,03	7,19	2,16
	EUN60 x Vácuo	2,46	6,96	2,33
	EUI40 x Aeróbica	2,82	7,17	2,05
	EUI40 x Vácuo	2,93	7,16	1,98
	EUN40 x Aeróbica	3,13	7,40	2,01
	EUN40 x Vácuo	2,53	7,21	1,82
		0,3343	0,9014	0,3889
Tratamento x Tempo de armazenamento em dias (A x C)	CNTL x 0	2,83	7,00	2,12
	CNTL x 7	3,41	6,17	2,86
	CNTL x 14	3,08	-	3,48
	BHT x 0	1,67	7,44	1,34
	BHT x 7	3,39	7,94	1,47
	BHT x 14	3,70	-	2,82
	EUI60 x 0	2,22	7,49	0,60
	EUI60 x 7	3,42	7,95	1,26
	EUI60 x 14	4,02	-	2,70
	EUN60 x 0	1,67	7,39	2,12
	EUN60 x 7	2,74	6,76	2,05
	EUN60 x 14	3,83	-	2,57
	EUI40 x 0	2,53	8,00	1,35
	EUI40 x 7	3,27	6,33	1,98
	EUI40 x 14	2,81	-	2,93
	EUN40 x 0	2,58	7,85	0,96
	EUN40 x 7	3,40	6,75	2,20

Tabela 15 – Resultados das análises de variância para os atributos sensoriais medidos em diferentes tratamentos e embalagens para carne de frango cozida, armazenada por 14 dias a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$

(conclusão)

Fonte de variação	Fator	Sensorial		
		Cor	Sabor	Odor
Tratamento x Tempo de armazenamento em dias (A x C)	EUN40 x 14	2,52 0,0001*	- 0,1152	2,59 0,1683
Embalagem x Tempo de armazenamento em dias (B x C)	Aeróbica x 0	2,24	7,53	1,38
	Aeróbica x 7	3,21	6,94	2,07
	Aeróbica x 14	3,89	-	2,92
	Vácuo x 0	2,26	7,53	1,38
	Vácuo x 7	3,33	7,15	1,87
	Vácuo x 14	2,76 0,0001*	- 0,6637	2,78 0,7945

* significância a $p<0,05$.

CNTL: controle; BHT: Butil-hidroxi-tolueno; EUI: Extrato de uva Isabel; EUN: Extrato de uva Niágara.

Com relação ao uso de diferentes embalagens (aeróbica e vácuo) no acondicionamento das amostras, observou-se que não houve efeito significativo entre as duas embalagens para os três atributos avaliados ($p>0,05$). Já para o período de armazenamento, o atributo alteração de cor e odor de ranço mostrou ser significativamente diferente nos pontos de análise ao longo de 14 dias de armazenamentos ($p<0,05$), indicando que possa ter ocorrido uma leve deterioração dos produtos perceptível aos provadores.

Para as interações tratamento x tempo de armazenamento e embalagem x tempo de armazenamento foi observada diferença significativa ($p<0,05$) no atributo alteração de cor, todos os provadores observaram uma ligeira alteração deste atributo, principalmente para todos os tratamentos no 14º dia de análise. Com relação à interação embalagem ao longo do tempo de armazenamento, observou-se, para embalagem PVC, um maior valor (intensidade) na alteração de cor, com características de deterioração do produto no 14º dia de armazenamento.

Rojas e Brewer (2007) adicionaram extrato de semente de uva em cortes de carne de porco cozida para avaliar o efeito deste antioxidante natural nos parâmetros sensoriais como odor e cor, e observaram diferenças significativas para a intensidade de odores desagradáveis para os tratamentos aplicados nas carnes cozidas e armazenadas por oito dias em embalagem aeróbica (PVC). Entretanto, estes autores observaram que quando as amostras continham baixas concentrações de extrato de semente de uva, os valores atribuídos na escala foram menores para este atributo. Isto indica que o

extrato de semente de uva tem potencial para controlar algumas características sensoriais negativas associadas a odores desagradáveis.

Os estudos realizados por Ahn, Grün e Fernando (2002) avaliaram o desenvolvimento de odor em amostras cozidas de carne bovina contendo extrato de uva comercial e os resultados obtidos demonstram diferença significativa com relação ao desenvolvimento de odores desagradáveis. A amostra contendo o extrato comercial de semente de uva apresentou valores menores do que as amostras controles ($p < 0,05$). Estes resultados corroboram com o estudo realizando, onde se observou que as notas dadas para o atributo sensorial odor de ranço pelos provadores foram maiores para o controle, do que para os demais tratamentos ($p < 0,05$) (Tabela 15).

5 CONCLUSÃO

A caracterização química dos extratos de semente e casca de uva mostrou que tanto as variedades Isabel quanto a Niágara apresentam valores consideráveis de compostos fenólicos totais. No entanto, o extrato de semente e casca de uva da variedade Niágara apresentou maior quantidade de compostos fenólicos (catequina e epicatequina). Os extratos de ambas as variedades apresentaram alta atividade antioxidante avaliados pelo método de DPPH e β -caroteno/ácido linoléico, sendo esta atividade atribuída à presença destes flavonóides.

O efeito da adição de extratos de semente e casca de uva em carne de frango processada e cozida mostrou resultados consideráveis quanto à estabilidade oxidativa com as concentrações de extratos na faixa de 40 a 60 mg apresentando resultados compatíveis com os resultados do antioxidante sintético BHT.

A eficiência dos extratos de semente e casca de uva aumentou com o aumento de suas concentrações. A adição dos extratos de uva combinado com a embalagem a vácuo deve ser considerado um bom método para aumentar a estabilidade lipídica em carne de frango cozida, armazenada sob refrigeração a $4 \pm 1^\circ\text{C}$, num prazo de 14 dias para produtos embalados em condição aeróbica (PVC) e vácuo.

REFERÊNCIAS

ABE, L. T.; DA MOTA, R.V.; LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n. 2, p. 394-400, 2007.

ADAMS, C.A. Oxidation and antioxidants. In:_____. **Nutrines**: food components in health and nutrition. Nottingham: Nottingham University Press, 1999. Chap. 2, p. 11-32.

ADDIS, P.B. Occurrence of lipid oxidation products in foods. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v.24, n.10-11, p.1021-1030, 1986.

ADEGOKE, G.O.; KUMAR, M.V.; KRISHNA, A.G.G. Antioxidants and lipid oxidation in foods – A critical appraisal. **Journal of Food Science and Technology Mysore**, Mysore, v.35, n.4, p.283-298, 1998.

AHMAD, J. I. Free radicals and health: Is vitamin E the answer? **Food Science and Technology**, Oxford, v.10, p.147-152, 1996.

AHN, D.U.; WOLFE, F.H.; SIM, J.S. Prevention of lipid oxidation in cooked turkey meat patties with hot packaging and antioxidant combinations. **Journal of Food Science**, Chicago, v.58, n.2, p.283-287, 1993.

AHN, D.U.; WOLFE, F.H.; SIM, J.S.; KIM, D.H. Packaging cooked turkey meat patties while hot reduces lipid oxidation. **Journal of Food Science**, Chicago, v.57, n.5, p.1075-1077, 1992.

AHN, D. U.; OLSON, D.G.; LEE, J.I.; JO, C.; WU, C.; CHEN, X. Packaging and irradiation effects on lipid oxidation and volatiles in pork patties. **Journal of Food Science**, Chicago, v.63, n.1, p.15-19, 1998.

AHN, J.; GRÜN, I.U.; FERNANDO, L.N. Antioxidant properties of natural plant extracts containing polyphenolic compounds in cooked ground beef. **Journal of Food Science**, Chicago, v.67, n.4, p.1364-1369, 2002.

AKOH, C.C.; MIN, D.B. **Food lipids**: chemistry, nutrition and biotechnology. 2nd ed. New York: Hitchin: Marcel Dekker: American Technical, 2002. 1040p.

ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C. L.; PAREDES-GUZMÁN, J.; PARK, Y.K. Chemical composition of *Baccharis dracunculifolia*, the botanical source of propolis from the states of São Paulo and Minas Gerais, BrazilParedes-Guzmán, J.; Park, Y. K.; **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.4, p.909-915, 2005.

ALLEN, C.E.; FOEGEDING, E.A. Some lipid characteristics and interaction in muscle foods – a review. **Food Technology**, Chicago, v.35, n.5, p.253-257, 1981.

ALLEN, J.C.; HAMILTON, R.J. **Rancidity in foods**. 3rd ed. London: Blackie Academic, 1994. 290p.

ALONSO, E.; BOURZEIX, M.; REVILLA, E. Suitability of water ethanol mixtures for the extraction of catechins and proanthocyanidins from *Vitis vinifera* seeds contained in a winery by product. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.19, n.3, p.545-552, 1991.

ASGHAR, A.; GRAY, J.I.; BUCKLEY, D.J.; PEARSON, A.M.; BOOREN, A.M. Perspectives on warmed-over flavor. **Food Technology**, Chicago, v.42, n.6, p.102-108, 1988.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15th ed. Washington, 1995. 2v.

AVICULTURA INDUSTRIAL (2006). **Produção brasileira de carne de frango**. Disponível em: <http://www.aviculturaindustrial.com.br>. Acesso em: 02 maio 2008.

AVISITE – Portal da Avicultura na Internet. Disponível em: <http://www.avisite.com.br/economia/estatistica.asp?acao=carnefrango>>. Acesso em: 07 jan. 2008.

BAGCHI, D.; GARG, A.; KROHN, R.L.; BAGCHI, M.; TRAN, M.X.; STOHS, S.J. Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins C and E, and A grape seed proanthocyanidin extract in vitro. **Research Communications in Molecular Pathology and Pharmacology**, Westbury, v.95, n.2, p.179-189, 1997.

BAKKALBASI, E.; YEMIS, O.; ASLANOVA, D. Major flavan-3-ol composition and antioxidant activity of seeds from different grape cultivars grown in Turkey. **European Food Research Technology**, New York, n.221, p.792-797, 2005.

BARBUT, S.; KAKUDA, Y.; CHAN, D. Effects of carbon-dioxide, freezing and vacuum packaging on the oxidative stability of mechanically deboned poultry meat – research note. **Poultry Science**, Champaign, v.69, n.10, p.1813-1815, 1990.

BAUMANN, J.; BRUCHHAUSEN, F.V.; WURM, G. Structure activity study on the influence of phenolic compounds and bioflavonoids on rat renal prostaglandin synthetase. **Naunyn-schmiedebergs Archives of Pharmacology**, New York, v.307, n.1, p.73-78, 1979.

BAYDAR, N.G.; ÖZKAN, G.; SAGDIÇ, O. Total phenolic contents and antibacterial actives of grape (*Vitis vinifera* L.) extracts. **Food Control**, Kidlington, v.15, n.5, p.335-339, 2004.

BAYDAR, N.G.; ÖZKAN, G.; YASAR, S. Evaluation of the antiradical and antioxidant potential of grape extracts. **Food Control**, Kidlington, v.18, n.9, p.1131-1136, 2007.

BECKER, E.M.; NISSEN, L.R.; SKIBSTED, L.H. Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. **European Food Research and Technology**, New York, v.219, n.6, p.561-571, 2004.

BELTRAN, E.; PLA, R.; YUSTE, J.; MOR-MUR, M. Lipid oxidation of pressurized and cooked chicken: role of sodium chloride and mechanical processing on TBARS and hexanal values. **Meat Science**, Kidlington, v.64, n.1, p.19-25, 2003.

BELTRAN, F.J.; GARCIA-ARAYA, J.F.; RIVAS, F.J.; ALVAREZ, P.; RODRIGUEZ, E. Kinetics of competitive ozonation of some phenolic compounds present in wastewater from food processing industries. **Ozone-Science & Engineering**, Boca Raton, v.22, n.2, p.167-183, 2000.

BERGMAN, M.; VARSHAVSKY, L.; GOTTLIEB, H.E.; GOSSMAN, S. The antioxidant activity of aqueous spinach extract: chemical identification of active fractions. **Phytochemistry**, Kidlington, v.58, n.1, p.143-152, 2001.

BERSET, C.; CUVELIER, M.E. Methods of estimating the degree of lipid oxidation and of measuring antioxidizing power. **Sciences des Aliments**, Paris, v.16, n.3, p.219-245, 1996.

BOBBIO, F.; BOBBIO, P.A. **Introdução à química de alimentos**. Campinas: Fundação Cargill, 1985.

BOTSOGLOU, N.A.; CHRISTAKI, E.; FLETOURIS, D.J.; FLOROU-PANERI, P.; SPAIS, A.B. The effect of dietary oregano essential oil on lipid oxidation in raw and cooked chicken during refrigerated storage. **Meat Science**, Kidlington, v.62, n.2, p.259-265, 2002.

BOU, R.; GUARDIOLA, F.; GRAU, A.; GRIMPA, S.; MANICH, A.; BARROETA, A.; CODONY, R. Influence of dietary fat source, α -tocopherol, and ascorbic acid supplementation on sensory quality of dark chicken meat. **Poultry Science**, North Dunlap, v.80, n.6, p.800-807, 2001.

BRAGAGNOLO, N. Aspectos comparativos entre carnes segundo a composição de ácidos graxos e teor de colesterol. CONFERÊNCIA INTERNACIONAL VIRTUAL SOBRE QUALIDADE DE CARNE SUÍNA, 2., 2001. 11p. Disponível em: http://www.conferencia.uncnet.br/pork/seg/pal/anais01p2_neura_pt.pdf. Acesso em: 12 maio 2006.

BRAND, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – Foods Science and Technology**, London, v.28, n.1, p.25-30, 1995.

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

BRANNAN, R.G.; MAH,E. Grape seed extract inhibits lipid oxidation in muscle from different species during refrigerated and frozen storage and oxidation catalyzed by peroxynitrite and iron/ascorbate in a pyrogallol red model system. **Meat Science**, Kidlington, v.77, n.4, p.540-546, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brazilian National Health Surveillance Agency. **Resolução RDC n.12**. Brasília: Ministério da Saúde. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em 10 abr. 2008.

BREWER, M.S.; IKINS, W.G.; HARBERS, C.A.Z. TBA values, sensory characteristics, and volatiles in ground pork during long-term frozen storage: Effects of packaging. **Journal of Food Science**, Chicago, v.57, n.3, p.558-563, 1992.

BRUNTON, N.P.; CRONIN, D.A.; MONAHAN, F.J.; DURCAN, R. Determination of hexanal in cooked turkey using solid phase microextraction (SPME)/GC. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 44., 1998. Barcelona. **Proceedings...** Barcelona, 1998. p.586-587.

CAMPO, M.M.; NUTE, G.R.; HUGHES, S.I.; ENSER, M.; WOOD, J.D.; RICHARDSON, R.I. Flavour perception of oxidation in beef. **Meat Science**, Kidlington, v.72, n.2, p.303-311, 2006.

CATANEO, C.B.; CALIARI, V.; GONZAGA, L.; KUSKOSKI, E.M.; FETT, R. Atividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de vinho. **Semina Ciência Agrária**, Londrina, v.29, n.1, p.93-102, 2008.

CHEN, J.H.; HO, C.T. Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, Washington, v.45, n.7, p.374, 1997.

CHIZZOLINE, R. Oxidation in traditional Mediterranean meat products. **Meat Science**, Kidlington, v.49, n.1, p.87-99, 1998.

COBOS, A.; DE LA HOZ, L.; CAMBERO, M.I.; ORDÓÑEZ, J. A. Influence of the animal diet on the fatty-acids of meta lipids – review. **Revista Espanhola de Ciencia y Tecnologia de Alimentos**, Valencia, v.34, n.1, p.35-51, 1994.

COMBS, G.F. Vitamin E. In:_____. **The vitamins**. London: Academic Press, 1998. Chap.7, p.189-222.

COSGROVE, J.P.; CHURCH, D.F.; PRYOR, W.A. The Kinetics of autoxidation of polyunsaturated fatty acids. **Lipids**, Champaign, v.2, n.5, p.299-304, 1987.

DANI, C.; OLIBONI, L.S.; VANDERLINDE, R.; BONATTO, D.; SALVADOR, M.; HENRIQUES, J.A.P. Phenolic content and antioxidant activities of white and purple juices manufactured with organically or conventionally produced grapes. **Food and Chemistry Toxicology**, Kidlington, v.45, n.12, p.2574-2580, 2007.

DECKER, E. A.; CRUM, A.D.; SHATHAN, N.C.; MORRISSEY, P.A. Catalysis of lipid oxidation by iron originating from an insoluble fraction of beef diaphragm muscle. **Journal Food Science**, Chicago, v.58, n.2, p.233-236, 1993.

DECKER, E.A.; FAUSTMAN, C.; LOPEZ-BOTE, C.J. **Antioxidants in muscle foods: nutritional strategies to improve quality**. New York: Wiley, 2000, 499p.

DELAPRESAOWENS, S.; LÓPEZSABATER, M.C.; RIVEROURGELL, M. Shelf-life prediction of an infant formula using an accelerated stability test (Rancimat). **Journal of Agriculture Food Chemistry**, Washington, v.43, n.11, p.2879-2882, 1995.

DOWNES, F.P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2001. 676p.

DRUMM, T.D.; SPANIER, A.M. Changes in the content of lipid autoxidation and sulfur-containing-compounds in cooked beef during storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.39, n.2, p.336-343, 1991.

DUARTE-ALMEIDA, J.M.; SANTOS, R.J.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n.2, p.446-452, 2006.

DZIEZAK, J.D. Antioxidants - the ultimate answer to oxidation. **Food Technology**, Chicago, v.40, n.9, p.94, 1986.

EMMONS, C.L.; PETERSON, D.M.; PAUL, G.L. Antioxidant capacity of oat (*Avena sativa* L.) extracts. 2. In vitro antioxidant activity and content of phenolic and tocol antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.47, n.12, p.4894-4898, 1999.

FAO. **Production year book**. Rome, 1977. 151p. (FAO Statistics n. 51)

FERNANDEZ, J.; PEREZ-ALVAREZ, J.A.; FERNANDEZ-LOPEZ, J.A. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. **Food Chemistry**, Kidlington, v.59, n.3, p.345-353, 1997.

FRANKEL, E.N.; MEYER, A.S. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Baffins Lane Chichester, v.80, n.13, p.1925-1941, 2000.

FRANKEL, E.N.; WATERHOUSE, A.L.; TEISSEDRE, P.L. Principal phenolic phytochemical in selected California Wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.43, n.4, p.890-894, 1995.

FRANKEL, E.N.; HUANG, S.W.; KANNER, J.; GERMAN, J.B. Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants – bulk oils vs emulsions. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, Washington, v.42, n.5, p.1054-1059, 1994.

GRAY, J.L.; PEARSON, A.M.; DUTSON, T.R. Rancidity and warmed-over flavor. **Advances in meat research**. Amsterdam: Elsevier, 1983. v.3, p.221-270.

GRAY, J. I.; GOMAA, E. A.; BUCKLEY, D.J. Oxidative quality and shelf life of meats. **Meat Science**, Great Britain, v.34, p.S111-S123, 1995.

GRIGIOTTI, A.; SÔNEGO, O.R. Principais doenças fúngicas da videira no Brasil. **Boletim Técnico Embrapa – CNPUV**, Bento Gonçalves, p.36, 1993.

HALLIWELL, B. The characterization of antioxidants. **Food and Chemistry Toxicology**, Kidlington, v.33, n.7, p.601-617, 1995.

_____. Antioxidants in human health and disease. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v.16, p.33-50, 1996.

HOLLMAN, P.C.H.; KATANM.B. Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, Paris, v.51, n.8, p.305-310, 1997.

HOLLMAN, P.C.H.; HERTOOG, M.G.L.; KATAN, M.B. Analysis and health effects of flavonoids. **Food Chemistry**, Kidlington, v.57, n.1, p.43-46, 1996.

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

IGENE, J.O.; PEARSON, A.M.; DUGAN, L.R.; PRICE, J.F. Role of triglycerides and phospholipids on development of rancidity in model meat systems during frozen storage. **Food Chemistry**, Kidlington, v.5, n.4, p.263-276, 1980.

JACOBSEN, M.; BERTELSEN, G. Color stability and lipid oxidation of fresh beef. Development of a response surface model for predicting the effects of temperature, storage time, and modified atmosphere composition. **Meat Science**, Kidlington, v.54, n.1, p.49-57, 2000.

JADHAV, S.J.; NIMBALKAR, S.S.; KULKARNI, A.D.; MADHAVI, D.L. RAJALAKSHMI, D.; NARASIMHAN, S. **Food antioxidants: technological, toxicological, and health perspectives**. New York: Marcel Dekker, 1996. 450p.

JAHAN, K.; PATERSON, A.; SPICKETT, C.M. Fatty acid composition, antioxidants and lipid oxidation in chicken breasts from different production regimes. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.39, p.443-453, 2004.

JANTAWAT, P.; DAWSON, L.E. Effect of air at various tension concentrations on storage stability of mechanically deboned poultry meats. **Poultry Science**, North Dunlap v.59, p.1788-1794, 1980.

JAYAPRAKASHA, G.K.; JAGANMOHAN RAO, L. Phenolic constituents from lichen *Parmotrema stippeum* (Nyl.) Hale and their antioxidant activity. **Zeitschrift für Naturforschung**, Tübingen, v.55, n.11-12, p.1018-1022, 2000.

JAYAPRAKASHA, G.K.; SINGH, R.P.; SAKARIAH, K.K. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts peroxidation models in vitro. **Food Chemistry**, Kidlington, v.73, p.285-290, 2001.

JO, C.; AHN, D.U. Fluorometric analysis of 2-thiobarbituric acid reactive substances in turkey. **Poultry Science**, North Dunlap, v.77, p.475-480, 1998.

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

KALLITHRAKA, S.; GARCIAVIGUERA, C. BAKKER, J. Extraction techniques and HPLC analysis of phenolic compounds from grape seeds. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON POLYPHENOLS, 17, 1995. Barcelona. **Abstract**...Barcelona, 1995. p. 227-228.

KINGSTON, E.R.; MONAHAN, F.J.; BUCKLEY, D.J.; LYNCH, P.B. Lipid oxidation in cooked pork as affected by vitamin E, cooking and storage conditions. **Journal of Food Science**, Chicago, v.63, n.3, p.386-389, 1998.

KRANNER, J. Oxidative processes in meat and meat products: quality implications. **Meat Science**, Kidlington, v.36, p.169-189, 1994.

KRISTENSEN, L.; ANDERSEN, H.J. Effect of heat denaturation on the pro-oxidative activity of Metmyoglobin in linoléico acid emulsions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.45, p.7-13, 1997.

LABUZA, T.P.; HEIDELBA, N.D.; SILVER, M.; KAREL, M. Oxidation at intermediate moisture contents. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Washington, v.48, n.2, p.86-89, 1971.

LAFKA, T.I.; SINANOGLU, V.; LAZOS, E.S. On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. **Food Chemistry**, Kidlington, v.104, n.3, p.1206-1214, 2007.

LAI, S.M.; GRAY, J.I.; SMITH, D.M.; BOORE, A.M; CRACKEL, R.L.; BYCLEY, 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, n.3, p.616-620, 1991.

LAU, D.W.; KING, A.J. Pre-and post-mortem use of grape seed extract in dark poultry meat to inhibit development of thiobarbituric acid reactive substances. **Journal Agriculture Food and Chemisty**, Washington, v.51, n.6, p.1602-1607, 2003.

LEE, E.J.; AHN, D.U. Effect of antioxidants on the production of off-odor volatiles and lipid oxidation in irradiated turkey breast meat and meat homogenate. **Journal of Food Science**, Chicago, v.48, n.5, p.1631-1638, 2003.

LEE, S.K.; MEI, L.; DECKER, E.A. Lipid oxidation in cooked turkey as affected by added antioxidant enzymes. **Journal of Food Science**, Chicago, v.61, n.4, p.726-728, 795, 1996.

LIANG, C.P.; WANG, M.; SIMON, J.E.; HO, C.T. Antioxidant activity of plant extracts on the inhibition of citral off-odor formation. **Molecular Nutrition Food Research**, Weinheim, v.48, n.4, p.308-317, 2004.

LOVE J. Sensory analysis of warmed-over flavor in meat. **Food Technology**, Chicago, v.42, n.6, p.140-143, 1988.

LOVE, J.D. The role of heme iron in the oxidation of lipids in red meats. **Food Technology**, Chicago, v.37, n.7, p.117-120, 1983.

LU, Y.; FOO, L.Y. The polyphenol constituents of grape pomace. **Food Chemistry**, Kidlington, v.65, n.1, p.1-8, 1999.

LYNCH, M.P.; FAUSTMAN, C. Effect of aldehyde lipid oxidation products on myoglobin. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v.48, n.3, p.600-604, 2000.

LYON, B.G. Development of chicken flavor descriptive attribute terms aided by multivariate statistical procedures. **Journal Sensory Studies**, Washington, v.2, p.55-67, 1987.

LYON, B.G.; ANG, C.Y.W. Effects of reheating method on off-flavor development in precooked, stored chicken patties. **Poultry Science**, Champaign, v.69, n.2, p.320-328, 1990.

MACHEIX, J.J.; SAPIS, J.C.; FLEURIET, A. Phenolic compounds and polyphenoloxidase in relation to browning in grapes and wines. **Critical Review Food Science Nutrition**, Boca Raton, v.30, n.4, p.441-486, 1991.

MADHAVI, D.L. **Food antioxidant**: sources and methods of evaluation. New York: Marcel Decker, 1995. 450p.

MAILLARD, M.N.; SOUM, M.H.; BOIVIN, P.; BERSET, C. Antioxidant activity of barley and malt: Relationship with phenolic content. **Food Science and Technology**, London, v.29, n.3, p. 238-244, 1996.

MANCINI, R.A.; HUNT, M.C. Current research in meat color. **Meat Science**, Kidlington, v.71, n.1, p.100-121, 2005.

MARCO, G.J. A rapid method for evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Champaign, v.45, n.9, p.594-597, 1968.

MAXCHEIX, J.J.; FLEURIET, A.; BILLOT, J. The main phenolics of fruits. In: _____ **Fruit phenolics**. Boca Raton: CRC Press, 1990. 98p.

MELLO, L.M.R. **Vinicultura brasileira**: panorama 2007. Disponível em: www.agrosoft.org.br. Acesso em: 24 mar.2008.

MENSOR, L.L.; MENEZES, F.S.; LEITÃO, G.G.; REIS, A.S.; dos SANTOS, T.C.; COUBE, C.S.; LEITÃO, S.G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of

DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, Biffins Lave Chichester, v.15, n.2, p.127-130, 2001.

MEYER, A.S. et al. Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation in relation to composition of phenolic antioxidants in grapes (*Vitis vinifera*). **Journal of Agriculture Food Chemistry**, Washington, v.45, p.1638-1643, 1997.

MIDDLETON, E.; KANDASWAMI, C. Potential health-promoting properties of citrus flavonoids. **Food Technology**, Chicago, v.48, n.11, p.115-119, 1994.

MIELNIK, M.B.; AABY, K.; SKREDE, G. Commercial antioxidants control lipid oxidation in mechanically deboned turkey meat. **Meat Science**, Kidlington, v.65, n.3, p.1147-1155, 2003.

MIELNIK, M.B.; OLSEN, E.; VOGT, G.; ADELIN, D.; SKREDE, G. Grape seed extract as antioxidant in cooked, cold stored turkey meat. **Food Science and Technology**, Amsterdam, v.39, n.3, p.191-198, 2006.

MITJANS, M.; DEL CAMPO, J.; ABAJO, C.; MARTINEZ, V.; SELAGA, A.; LOZANA, C.; TORRES, J.L.; VINARDELL, M.P. Immunomodulatory activity of a new family of antioxidants obtained from grape polyphenols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.52, n.24, p.7297-7299, 2004.

MONAHAN, F.J.; GRAY, J.I.; BOOREN, A.M.; MILLER, E.R.; BUCKLEY, D.J.; MORRISSEY, P.A.; GOMAA, E.A. Influence of dietary treatment on lipid and cholesterol oxidation in pork. **Journal Agriculture Food and Chemistry**, Washington, v.40, n.8, p.1310-1315, 1992.

MORRISSEY, P.A.; SHEEHY, P.J.; GALVIN, K.; KERRY, J.P.; BUCKLEY, D. J. Lipid stability in meat and meat products. **Meat Science**, Kidlington, v.49, n.1, p.S73-S86, 1998.

MUKAI, F.H.; GOLDSTEIN, B.D. Mutagenicity of malonaldehyde, a decomposition product of peroxidized polyunsaturated fatty-acids. **Science**, New York, v.191, n.4229, p.868-869, 1976.

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

NAWAR, W.W. Lipids. In: Fennema, O.R. (Ed). **Food chemistry**. New York: Marcel Dekker, 1985. p. 139-244.

NEGRO, C.; TOMMASI, L.; MICELI, A. Phenolic compounds and antioxidant activity from red grape marc extracts. **Bioresource Technology**, Kidlington, n.87, n.1, p.41-44, 2003.

NERY, L.R.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S.; CAMPOS, A.M.A.; SILVA, C.R. Valores de energia metabolizável de alimentos determinados com frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.36, n.5, p.1354-1358, 2007.

NOLAN, N.L.; BOWERS, J.A.; KROPF, D.H. Lipid oxidation and sensory analysis of cooked pork and turkey stored under modified atmospheres. **Journal of Food Science**, Chicago, v.54, n.4, p.846-849, 1989.

O'GRADY, M.N.; MONAHAN, F.J.; BURKE, R.M.; ALLEN, P. The effect of oxygen level on the oxidative stability of intact and minced beef steaks in MAP packs. Ir. **Journal Agriculture Food Research**, Washinton, v.36, p.284, 1997.

ORDÓÑEZ, J.A. **Tecnologia de alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 2v.

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

PEARSON, A.M.; GRAY, J.I.; WOLZAK, A.M.; HORENSTEIN N.A. Safety implications of oxidized lipids in muscle foods. **Food Technology**, Chicago, v.37, n.7, p.121-129, 1983.

PIKUL, J.; LESZCZYNSKI, D.E.; KUMMEROW, F.A. Evaluation of three modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v.37, n.5, p.1309-1313, 1989.

POKORNY, J. Natural antioxidants for food use - review. **Trends in Food Science and Technology**, Prague, v.1, p.223-227, 1991.

RABABAH, T.M.; HETTIARACHCHY, N.S.; HORAX, R. Total phenolics and antioxidant activities of fenugreek, green tea, black tea, grape seed, ginger, rosemary, gotu kola, and ginkgo extracts, vitamin E, and tert-butylhydroquinone. **Journal Agriculture Food and Chemistry**, Washington, v.52, n.16, p.5183-5186, 2004.

RABABAH, T.; HETTIARACHCHY, N.S.; ESWARANANDAM, S.; ESWARANANDAM, S.; MEULLENET, J.F.; DAVIS, B. Sensory evaluation of irradiated and nonirradiated poultry breast meat infused with plant extracts. **Journal of Food Science**, Chicago, v.70, n.3, p.S228-S235, 2005.

RABABAH, T.M.; EREIFEJ, K.I.; MAHASNEH, A.A.; RABABAH, A.A. Effect of plant extracts on physicochemical properties of chicken breast meat cooked using conventional electric oven or microwave. **Poultry Science**, North Dunlap, v.85, n.1, p.148-154, 2006.

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

RICE-EVANS, C.A.; NICHOLAS, J.M.; 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.

ROJAS, M.C.; BREWER, M.S. Effect of natural antioxidants on oxidative stability of cooked, refrigerated beef and pork. **Journal of Food Science**, Oxford, v.72, n.4, p.S282-S288, 2007.

ROMBALDI, C.V.; BERGAMASQUI, M.; LUCCHETTA, L.; ZANUZO, M.; SILVA, J.A. Produtividade e qualidade de uva, cv Isabel em dois sistemas de produção. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Rio Grande do Sul, v.26, n.1, p.89-91, 2004.

ROSMINI, M.R.; PERLO, F.; PEREZ-ALVAREZ, J.A. et al. TBA test by extractive method applied to 'Pate'. **Meat Science**, Valencia, v.42, n.1, p.103-110, 1996.

SARANTÓPOULOS, M. Embalagens semi-rígidas plásticas e de alumínio: opções para alimentos esterilizados. **Coletânea Instituto Tecnologia Alimentos**, Campinas, v.22, p.1-12, 1991.

SCHRICKER, B.R.; MILLER, D.D. Effects of cooking and chemical treatment on heme and nonheme iron in meat. **Journal of Food Science**, Chicago, v.48, n.4, p.1340-1343, 1983.

SCHWARZ, K.; ERNST, H.; TERNES, W. Evaluation of antioxidative constituents from thyme. **Journal Science Food Agriculture**, Baffin Lave Chichester, v.70, n.2, p.217, 1996.

SHAMBERGER, R.J.; ANDREONE, T.L.; WILLIS, C.E. Antioxidants and cancer .4. initiating activity of malonaldehyde as a carcinogen. **Journal of the National Cancer Institute**, Bethesda, v.53, n.6, p.1771-1773, 1974.

SHAHIDI, F.; DESILVA, C.; AMAROWICZ, R. Antioxidant activity of extracts of defatted seeds of niger (*Guizotia abyssinica*). **Journal of the American Oil Chemists Society**, Champaign, v.80, n.5, p.443-450, 2003.

SHERWIN, E.R. Oxidation and antioxidants in fat and oil processing. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Champaign, v.55, n.11, p.809-814, 1978.

SHI, J.; YU, J.; POHORLY, J.E.; KAKUDA, Y. Polyphenolics in grape seeds – biochemistry and functionality. **Journal of Medicinal Food**, Washington, v.6, n.4, p.291-299, 2003.

SILVA, N. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997. 295p.

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

SILVA, N., JUNQUEIRA, V. C. A., SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001. 317 p.

SIMS, R.J.; FIORITI, J.A **Handbook of food additives**. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 1980. 348p.

SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods of Enzymology**, San Diego, v.299, p.152-178, 1999.

SKERGET, M.; KOTNIK, P.; HADOLIN, M.; HRAS, A.R.; SIMONIC, M.; KNEZ, Z. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant material and their antioxidant activities. **Food Chemistry**, Kidlington, v.89, n.2, p.191-198, 2005.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.15, n.1, p.3-16, 2002.

SOARES, M.; WELTER, L.; KUSKOSKI, E.M.; GONZAGA, L.; FETT, R. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.1, p.59-64, 2008.

SOUZA, X.R. **Características de carcaça, qualidade de carne e composição lipídica de frango de corte criados em sistemas de produção caipira e convencional**. 2004. 338p. Tese Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Faculdade de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

SØRENSEN, G.; JØRGENSEN, S.S. A critical examination of some experimental variables in the 2-thiobarbituric acid (TBA) test for lipid oxidation in meat products. **Zeitschrift fur Lebensmittel Untersuchung und Forschung**, New York, v.202, n.3, p.205-210, 1996.

SPANOS, G.A.; WROLSTAD, R.E. Phenolic of apple, pear, and white grape juices and their changes with processing and storage - a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.40, n.9, p.1478-1487, 1992.

STANGELO, A.J. Lipid oxidation in foods. **Critical Reviews in Foods Science and Nutrition**, Boca Raton, v.36, n.3, p.175-224, 1996.

STANGELO, A.J.; VERCELLOTTI, J.R.; LEGENDRE, M.G.; VINNETT, C.H.; KUAN, J.W.; JAMES, C.; DUPUY, H.P. Chemical and instrumental analyses of warmed-over flavor in beef. **Journal of Food Science**, Chicago, v.52, n.5, p.1163-1168, 1987.

STANGELO, AJ; VERCELLOTTI, JR; DUPUY, HP, et al. Assessment of beef flavor quality - a multidisciplinary approach. **Food Technology**, Chicago, v.42, n.6, p.133-138, 1988.

TARLADGIS, B.G.; WATTS, B.M.; YOUNATHAN, M.T. A distillation for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, Chicago, v.37, p.44-48, 1960.

TCHIVANGANA, J.Z; MORRISSEY, P.A. Metmyoglobin and inorganic metals as prooxidants in raw and cooked muscle systems. **Meat Science**, Kidlington, v.15, p.107-116, 1985.

TIMS, M.J.; WATTS, B.M. Protection of cooked meats with phosphates. **Food Technology**, Chicago, v.12, n.5, p.240-243, 1958.

ULU, H. Evaluation of three 2-thiobarbituric acid methods for the measurement of lipid oxidation in various meats and meats products. **Meat Science**, Kidlington, v.67, n.4, p.638-687, 2004.

UNIVERSIDADE DE CAMPINAS. **Tabela brasileira de composição de alimento**. 2 ed. Campinas, 2006.

VALSTA, L.M.; TAPANAINEN, H.; MÄNNISTÖ, S. Meat fats in nutrition. **Meat Science**, Kidlington, v.70, n.3, p.525-530, 2005.

van ACKER, S.; van der BERG, D.J.; TROMP, M.N.J.L. et al. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. **Free Radical Biology and Medicine**, Kidlington, v.20, n.3, p.331-342, 1996.

WEBER, H.A.; HODGES, A.E.; GUTHRIE, J.R.; O'BRIEN, B.M.; ROBAUGH, D.; CLARK, A.P.; HARRIS, R.K.; ALGAIER, J.W.; SMITH, C.S. Comparison of proanthocyanidins in commercial antioxidants: grape seed and pine bark extracts. **Journal Agriculture Food and Chemistry**, Washington, v.55, n.1, p.148-156, 2007.

WILLIAMS, S.J. **The oxidative stability of cooked chicken**. 1997. 280p. (M. S. Agriculture), University College Dublin, Dublin, 1997.

WONG, J.W.; HASHIMOTO, K.; SHIBAMOTO, T. Antioxidant activities of rosemary and sage extracts and vitamin-e in a model meat system. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.43, n.10, p.2707-2712, 1995.

YANISHLIEVA, N.V.; MARINOVA, E.M.; MAREKOV, I.N. et al. Effect of an ethanol extract from summer savory (*Satureja hortensis* L) on the stability of sunflower oil at frying temperature. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Baffins Lane Chichester, v.74, n.4, p.524-530, 1997.

YEN, G.C.; CHEN, H.Y.; PENG, H.H. Antioxidant and pro-oxidant effects of various tea extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.45, p.30-34, 1997.

YOUNATHAN, M.T. Causes and prevention of warmed-over flavor. In ANNUAL RECIPROCAL MEAT CONFERENCE, 38., 1985. Baton Rouge. **Proceedings...** Baton Rouge: Louisiana State University, 1985. p. 74-80.

ANEXO

Tabela 16 – Resultados da contagem de microrganismos Psicrotróficos aeróbios e anaeróbios em amostras de carne de frango processada, acondicionada em embalagem aeróbica (PVA) e vácuo, submetida a diferentes tratamentos e armazenada sob refrigeração à $4 \pm 1^\circ\text{C}$ por até 14 dias

Tratamento		Psicrotróficos aeróbios (log UFC.g ⁻¹)			Psicrotróficos anaeróbios (log UFC.g ⁻¹)		
Embalagem	Descrição	0 dia	7 dias	14 dias	0 dia	7 dias	14 dias
Aeróbia	CNTL	2,58	4,98	5,89	1,75	3,36	5,01
	BHT	2,60	4,22	5,58	1,85	3,01	4,28
	EUI60	2,51	3,32	6,40	1,72	2,46	3,97
	EUN60	2,50	3,57	6,34	1,81	2,42	4,98
	EUI40	2,52	3,32	6,11	1,79	2,48	3,95
	EUN40	2,49	3,58	6,35	1,81	2,40	4,90
Vácuo	CNTL	2,58	3,40	4,14	1,75	3,06	4,70
	BHT	2,60	3,13	4,12	1,85	2,94	4,66
	EUI60	2,51	3,24	3,41	1,72	2,74	3,70
	EUN60	2,50	3,16	4,91	1,81	2,88	5,48
	EUI40	2,52	3,22	3,40	1,79	2,75	3,70
	EUN40	2,49	3,17	4,90	1,81	2,85	5,42