INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**INFLUÊNCIA DE ANTIOXIDANTES NATURAIS SOBRE O PERFIL LIPÍDICO
DE HAMBÚRGUERES BOVINOS SUBMETIDOS À IRRADIAÇÃO POR ^{60}Co E
ACELERADORES DE ELÉTRONS**

REGINALDO ALMEIDA DA TRINDADE

Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do Grau
de Mestre em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear – Aplicações.

Orientadora:
Dra. Anna Lúcia C. H. Villavicencio

SÃO PAULO

2007

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**INFLUÊNCIA DE ANTIOXIDANTES NATURAIS SOBRE O PERFIL LIPÍDICO
DE HAMBÚRGUERES BOVINOS SUBMETIDOS À IRRADIAÇÃO POR ^{60}Co E
ACELERADORES DE ELÉTRONS**

REGINALDO ALMEIDA DA TRINDADE

**Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Mestre em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear – Aplicações.**

**Orientadora:
Dra. Anna Lúcia C. H. Villavicencio**

SÃO PAULO

2007

**Se teus sonhos estão nas nuvens, não te
preocupes! Eles estão no lugar certo;
agora construa os alicerces.**

William Shakespeare

AGRADECIMENTOS

À Professora e amiga Dra. Anna Lúcia Casañas Haasis Villavicencio pela orientação, pela oportunidade concedida, pela amizade, pelo carinho com o qual me conduziu em todas as fases deste trabalho, pelos conselhos, pelas dicas e principalmente pelos bons momentos compartilhados;

Ao Professor Titular da Universidade de São Paulo Dr. Jorge Mancini-Filho pela valiosa colaboração, desde o projeto inicial até sua execução, disponibilizando a estrutura do seu laboratório bem como seus sábios conselhos que me fizeram crescer e amadurecer no conhecimento da área;

Aos profissionais do Centro de Tecnologia das Radiações – IPEN, por toda a colaboração na execução deste trabalho, de modo especial à Dra. Maria Helena Sampaio, Dr. Aparecido Calvo, Dra. Margarida Hamada, Dr. Paulo R. Rela, Sra. Cláudia, Sr. Marcos (Grato pela paciência!), M.Sc. Yasco Kodama, Sr. Jorge (operador do irradiador multi-propósito), M.Sc. Célia e o doutorando Danilo (pela ajuda na dosimetria), Eng^{os} Beth e Carlos (pela irradiação no Acelerador de elétrons), Sr. Galdêncio (pelos muitos transportes: Sadia – IPEN);

A Rosângela Pavan Torres, pela amizade e pela disponibilidade em ajudar-me nas análises do perfil de ácidos graxos e pelas dicas na realização de toda a parte prática do trabalho. Muito Obrigado!

A Sadia S/A por ceder as instalações do setor de Pesquisa & Desenvolvimento para o preparo das amostras e também para realização das análises sensoriais dos hambúrgueres, em especial à pessoa do Dr. Getúlio, Eng^o. Gilson, Sr. Milton, Dra. Maria Tereza, Dra. Patrícia e a todos que colaboraram tão espontaneamente na execução prática deste trabalho.

Aos participantes e provadores da análise sensorial das amostras. A todos: meu muito obrigado!!!

À minha amiga Michele Cicconi: nem preciso dizer aqui o quanto você me ajudou e o quanto sou grato por tudo, sua amizade é muito valiosa!

Ao Sr. Ronald Luiz Nicolaci Fincatti pelo apoio ao longo deste tempo.

Aos meus amigos do laboratório de detecção e irradiação de alimentos do IPEN pelas valiosas dicas, colaboração e também pelo convívio tão amigável

que nos tornou uma equipe: Déborah, Fernanda, Ingrid, Mariana, Michel, Priscilla, Ricardo, Rosamaria e Simone.

Aos meus amigos do laboratório de lípidos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo: Fernanda, Fabiana, Priscilla, Marina.

Aos meus amigos especiais que me apoiaram em tantos momentos e abriram as portas de sua casa sempre que precisei: Alessandro Lima (*pelo conhecimento e também pelos momentos divertidos*), Elma Regina de Andrade-Wartha (*não tenho palavras para agradecer tudo que aprendi com você*), Ana Mara (*pela ajuda em me acalmar nos momentos de estresse, pela confiança e pela serenidade transmitida*), Liliane (*pelo carinho de sempre, "um cheiro!"*). Tenho certeza que conquistamos uma grande amizade e que será para sempre!!!

A minha mãe, pai e irmãos que mesmo sem compreender muito bem o que eu estava fazendo me apoiaram no que puderam.

Às novas amizades conquistadas, com as quais aprendi e compartilhei muitos bons momentos: Acácio, Artemir, João, Grazi, Beto.

Aos meus amigos e colegas de curso, pelas singelas contribuições do dia-a-dia e a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

INFLUÊNCIA DE ANTIOXIDANTES NATURAIS SOBRE O PERFIL LIPÍDICO DE HAMBÚRGUERES BOVINOS SUBMETIDOS À IRRADIAÇÃO POR ^{60}CO E ACELERADORES DE ELÉTRONS

Reginaldo Almeida da Trindade

RESUMO

A irradiação de carnes e seus derivados têm sido empregada em alguns países como medida de tratamento para garantir a segurança microbiológica destes produtos evitando infecções alimentares. A irradiação pode provocar algumas mudanças indesejáveis na composição química dos alimentos tal como a oxidação lipídica. Na produção de derivados de carnes, o perfil lipídico está diretamente relacionado com a qualidade sensorial e nutricional do produto. Para retardar o processo da oxidação lipídica são utilizados antioxidantes, que podem ser sintéticos ou naturais. Atualmente, maior atenção tem sido dada aos antioxidantes naturais derivados de ervas e especiarias, tais como o alecrim e o orégano. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antioxidante dos extratos destas duas especiarias em hambúrgueres bovinos submetidos à irradiação por fonte de ^{60}CO com a dose de 6, 7 e 8kGy e aceleradores de elétrons com dose de 3,5 e 7kGy e estocados sob congelamento por períodos pré-estabelecidos de 0, 45 e 90 dias. Os resultados demonstraram que o alecrim apresentou maior proteção antioxidante em uma matriz alimentícia heterogênea como o hambúrguer, porém o orégano quando utilizado em sinergismo com o alecrim ou com o BHT/BHA conseguiu retardar a oxidação lipídica durante todo o período de análise. Apesar de terem ocorrido alterações no perfil de ácidos graxos não foi possível demonstrar uma linearidade dependente da dose de irradiação e/ou do tempo de estocagem. A análise sensorial mostrou que dentre as amostras formuladas com antioxidantes naturais, o orégano recebeu maiores notas entre os provadores. A amostra irradiada formulada com alecrim recebeu maior nota em relação a não-irradiada. O uso de especiarias com atividade antioxidante com o objetivo de inibir a degradação oxidativa em alimentos gordurosos mostra-se promissor para a aplicação industrial.

INFLUENCE OF NATURAL ANTIOXIDANTS ON LIPID COMPOSITION OF BEEF BURGERS SUBMITTED TO IRRADIATION IN ^{60}Co SOURCE AND ELETRON BEAMS

Reginaldo Almeida da Trindade

ABSTRACT

Radiation processing has been employed in some countries as a mean of treatment to assure microbiological safety of meat and meat products, avoiding the occurrence of food-borne disease. The ionizing radiation may cause some undesirable changes on chemistry composition of food and the lipid oxidation is one of the main reactions. In meat products processing industry, the lipid composition is directly related to nutritional and sensory quality of the product. For preventing oxidation, use of antioxidants which can be synthetic or natural, has been practically applied in some products. Currently, most attention has been given to natural antioxidants from herbs and spices like rosemary and oregano. The aim this study was to assess the antioxidant effects of either rosemary and oregano extract in beef burgers submitted to irradiation in ^{60}Co source with dose 6, 7 e 8kGy, electron beams with dose 3,5 e 7kGy and storage under freeze along 0, 45 e 90 days. The results showed that rosemary extract has the major antioxidant effects when it is used on heterogeneous food matrix like beef burger, but oregano extract was better efficient to delay lipid oxidation along storage time when it is used in synergism with rosemary and/or BHT/BHA. Although to have occurred changes in the fatty acids composition it was not possible to demonstrate a straight dependence of irradiation dose and/or storage time. Sensory analysis showed that between the samples prepared with natural antioxidants, the beef burger prepared with oregano has received better scores by panelists. Irradiated beef burger prepared with rosemary has received better scores when compared to non-irradiated one. The use of spices with antioxidant activity to avoid the oxidative damage in foods that contain fats in their formulation is thought to be promising to application in food facilities.

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS.....	16
2.1. Objetivo geral	16
2.2 Objetivos específicos	16
3. REVISÃO DA LITERATURA	17
3.1 Irradiação de Alimentos.....	17
3.1.1 Histórico da Irradiação de Alimentos.....	17
3.1.2 Legislação	19
3.1.3 O processo de Irradiação de Alimentos	21
3.2 Ácidos Graxos da Carne Bovina	24
3.4 Radicais livres e Oxidação Lipídica.....	27
3.5 Antioxidantes e suas aplicações em alimentos	31
3.6 Consumo de carnes no Brasil	34
4. MATERIAL E MÉTODOS	36
4.1. Materiais.....	36
4.2. Métodos	36
4.2.2 Preparação da farinha.....	36
4.2.2 Preparação dos Extratos Aquosos do Orégano e Alecrim	36
4.2.3 Gravimetria do extrato aquoso	37
4.2.4 Quantificação dos compostos fenólicos totais nos extratos das especiarias	38
4.2.5 Avaliação da Atividade Antioxidante	39
4.2.6 Preparo das amostras de hambúrgueres	40
4.2.7 Irradiação das Amostras	43
4.2.8 Determinação do índice de oxidação lipídica pelas SRATB (Substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico)	43
4.2.9 Determinação do perfil de ácidos graxos por Cromatografia Gasosa	44
4.2.10 Análise Sensorial	45
4.2.11 Análise estatística dos resultados	46

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
5.1. Atividade Antioxidante dos Extratos	47
5.2. Composição de fenólicos totais dos extratos	51
5.3. Índice de oxidação lipídica	52
5.4. Composição de ácidos graxos totais e <i>trans</i>	67
5.5. Análise Sensorial (30 dias e 90 dias de estocagem).....	96
7. CONCLUSÕES.....	99
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	100
9. ANEXOS.....	110

LISTAS DE TABELAS

Pág.

Tabela 1: Alimentos permitidos para irradiação pela regulamentação do FDA. ...	21
Tabela 2: Percentual de proteção contra oxidação em Sistema β -caroteno/ácido linoléico do extrato comercial de Alecrim.....	47
Tabela 3: Percentual de proteção contra oxidação em Sistema β -caroteno/ácido linoléico do extrato aquoso de Orégano	49
Tabela 4: Concentração de fenólicos totais nos extratos das especiarias	52
Tabela 5: Perfil dos ácidos graxos da gordura bovina usada na formulação das amostras expresso em g/100g de amostra.	68
Tabela 6: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado com BHT/BHA irradiado com fonte Cobalto 60 expresso em g/100g de amostra.	70
Tabela 7: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado com Alecrim irradiado com fonte Cobalto 60 expresso em g/100g de amostra.	71
Tabela 8: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado com Orégano irradiado com fonte Cobalto 60 expresso em g/100g de amostra.	72
Tabela 9: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado com Alecrim e Orégano irradiado com fonte Cobalto 60 expresso em g/100g de amostra.	73
Tabela 10: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado com BHT/BHA e Alecrim irradiado com fonte Cobalto 60 expresso em g/100g de amostra.	74
Tabela 11: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado com BHT/BHA e Orégano irradiado com fonte Cobalto 60 expresso em g/100g de amostra.	75

Tabela 12: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado sem antioxidantes irradiado com fonte Cobalto 60 expresso em g/100g de amostra.....	76
Tabela 13: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado com BHT/BHA irradiado com Aceleradores de Elétrons expresso em g/100g de amostra.....	83
Tabela 14: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado com Alecrim irradiado com Aceleradores de Elétrons expresso em g/100g de amostra.....	84
Tabela 15: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado com Orégano irradiado com Aceleradores de Elétrons expresso em g/100g de amostra.....	85
Tabela 16: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado com Alecrim e Orégano irradiado com Aceleradores de Elétrons expresso em g/100g de amostra.....	86
Tabela 17: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado com BHT/BHA e Alecrim irradiado com Aceleradores de Elétrons expresso em g/100g de amostra.....	87
Tabela 18: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado com BHT/BHA Orégano irradiado com Aceleradores de Elétrons expresso em g/100g de amostra.....	88
Tabela 19: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado sem antioxidantes irradiado com Aceleradores de Elétrons expresso em g/100g de amostra.....	89
Tabela 20: Notas atribuídas à aceitação geral na análise sensorial.....	96

LISTAS DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1: Fórmula estrutural de um ácido graxo <i>cis</i> , ácido oléico e seu isômero <i>trans</i> , ácido elaídico.....	25
Figura 2: Rotas da oxidação lipídica.	28
Figura 3: Seqüência de reações do processo da autooxidação.....	29
Figura 4: Extração seqüencial.....	37
Figura 5: Curva padrão de catequina utilizada na determinação dos fenólicos totais.....	38
Figura 6: Modelo para cálculo de porcentagem de inibição da oxidação.....	40
Figura 7: Seqüência para o preparo das amostras de hambúrgueres.	40
Figura 8: Planejamento experimental dos hambúrgueres bovinos irradiados e estocados sob congelamento.....	42
Figura 9: Curva padrão com TEP do teste das SRATB	44
Figura 10: Apresentação das amostras e modelo da cabine da análise sensorial (SADIA S/A)	46
Figura 11: Atividade antioxidante do extrato comercial de Alecrim Danisco em Sistema β -caroteno/ácido linoléico.....	48
Figura 12: Atividade antioxidante do extrato aquoso de Orégano em Sistema β -caroteno/ácido linoléico.....	50
Figura 13: Taxa de oxidação expressa em mg de SRATB/kg de amostra com cobalto-60 no tempo 0 de estocagem.	54
Figura 14: Taxa de oxidação expressa em mg de SRATB/kg de amostra irradiadas com cobalto-60 no tempo 45 dias de estocagem.	55
Figura 15: Taxa de oxidação expressa em mg de SRATB/kg de amostra irradiadas com cobalto-60 no tempo 90 dias de estocagem.	55
Figura 16: Taxa de oxidação expressa em mg das SRATB/kg de amostra irradiados com Acelerador de elétrons no tempo 45 dias de estocagem.....	57

Figura 17: Taxa de oxidação expressa em mg das SRATB/kg de amostra irradiados com Acelerador de elétrons no tempo 90 dias de estocagem.....	57
Figura 18: Curva de estabilidade da oxidação lipídica expressa em mg das SRATB/kg de amostra. Amostras controle não-irradiadas (0kGy).	60
Figura 19: Curva de estabilidade da oxidação lipídica expressa em mg das SRATB/kg de amostra. Amostras irradiadas com ^{60}Co (8kGy).	60
Figura 20: Curva de estabilidade da oxidação lipídica expressa em mg das SRATB/kg de amostra. Amostras irradiadas com ^{60}Co (7kGy).	61
Figura 21: Curva de estabilidade da oxidação lipídica expressa em mg das SRATB/kg de amostra. Amostras irradiadas com ^{60}Co (6kGy).	62
Figura 22: Curva de estabilidade da oxidação lipídica expressa em mg das SRATB/kg de amostra. Amostras irradiadas em aceleradores de elétrons (3,5kGy).....	63
Figura 23: Curva de estabilidade da oxidação lipídica expressa em mg das SRATB/kg de amostra. Amostras irradiadas em aceleradores de elétrons (7kGy).....	64

1. INTRODUÇÃO

A irradiação de alimentos surgiu como uma alternativa segura no processo de redução dos organismos patogênicos dos alimentos e tem sido empregada em muitos produtos com este fim, e também para aumentar a vida de prateleira de determinados produtos pela redução da contaminação por microorganismos (Farkas, 2006).

A presença de microorganismos patogênicos nos alimentos é um sério problema de saúde pública, mesmo em países altamente desenvolvidos como os Estados Unidos. Alimentos contaminados têm causado impactos na saúde e na economia. Segundo dados do Centro de Controle de Doenças (CDC, 2004) a cada ano ocorrem 76 milhões de infecções, 325 mil hospitalizações, e aproximadamente 5 mil mortes causadas por patógenos alimentares (Smith & Pillai, 2004). Os especialistas do CDC estimam que a irradiação de metade de todos os alimentos com base de carne bovina, suína e de aves, e até mesmo os processados poderia reduzir em 1 milhão os casos de infecções alimentares, prevenir 6 mil doenças de origem alimentares e 350 mortes por ano (Tauxe, 2001).

O FDA (Food Drug Administration US) aprovou a irradiação de carne congelada ou resfriada para o controle de patógenos alimentares em 1997, o FSIS (Food Safety and Inspection Service) aprovou somente em fevereiro de 2000. A primeira embalagem de carne irradiada chegou ao mercado varejista em maio de 2000.

Algumas mudanças químicas são induzidas nos alimentos como resultado da irradiação. De fato, qualquer tratamento pelo qual um alimento seja submetido, ou aquecimento ou radiação ionizante, altera algumas propriedades químicas dos alimentos e o próprio objetivo do tratamento é decorrente destas alterações. Consideráveis esforços têm sido realizados para determinar os efeitos da irradiação sobre os vários componentes do alimento. A maioria dos estudos

realizados visa diminuir a oxidação dos lipídios naturais presentes no alimento, que levam a rancificação (Fennema, 2007).

A oxidação lipídica não é uma consequência exclusiva do processo da irradiação, e ocorre naturalmente em qualquer alimento que contenha gordura. A radiação ionizante, um processo gerador de radicais livres, atua como um acelerador da oxidação. Além dos microorganismos patogênicos, a oxidação lipídica é o primeiro processo pelo qual a qualidade nutricional ou sensorial de um alimento diminui, pois causa a degradação dos ácidos graxos polinsaturados (PUFA) e a geração de produtos residuais, com a formação de aldeídos, cetonas e outros produtos derivados dos lipídios que levam à deterioração nutricional e sensorial do alimento (Esteves *et al.*, 2007).

Parte da qualidade nutricional e sensorial da carne está relacionada à sua composição de ácidos graxos, e essa composição varia muito de acordo com a espécie e idade do animal, parte do animal utilizada, tipo de ração que esse animal recebeu e do processamento pelo qual o produto foi submetido. Outro fator seria a formação de ácidos graxos *trans* (AGTs) por efeito da irradiação ou mesmo do tempo de estocagem, pela ação dos radicais livres formados nestes dois de processos (Brito *et al.*, 2002; Yilmaz & Geçgel, 2006). Visto que, os ácidos graxos *trans* estão implicados em diversos efeitos maléficos à saúde (Lichtenstein *et al.*, 2006), qualquer tratamento pelo qual seja submetido um alimento deve garantir que não ocorra a formação destes ácidos graxos.

Para proteger os lipídios e evitar a deterioração sensorial e aparente, as indústrias alimentícias têm feito uso de vários aditivos alimentares com propriedades antioxidantes. Entretanto, a conscientização dos consumidores dos riscos à saúde provocados pelos aditivos, resultou em indicações às indústrias alimentícias para se evitar o uso de aditivos sintéticos, e desta forma estuda-se a possibilidade do uso de aditivos naturais ou métodos alternativos para extensão da vida-de-prateleira, aumentar a segurança e evitar os danos da oxidação lipídica. Uma destas alternativas é o uso de antioxidantes naturais, originários de ervas e especiarias (Georgantelis *et al.*, 2007).

Antioxidantes são substâncias capazes de seqüestrar ou impedir a formação de radicais livres. O mecanismo de ação dos antioxidantes está bem elucidado, isto é, para que um composto seja eficiente na redução das reações da autooxidação é necessário que ele iniba a formação de radicais livres na iniciação da cadeia de oxidação ou interrompa a sua propagação (Fennema, 2007).

O uso de antioxidantes naturais para reduzir a oxidação não é um conceito novo, e os estudos nessa área vêm desde meados de 1980 e incluem extratos vegetais, concentrados de sucos de frutas, extratos de sementes, etc. O alecrim (Rhee, 1987) tem sido sem dúvida, um dos mais estudados antioxidantes naturais, porém outros também têm sido alvos de investigação, entre eles o orégano (Govaris *et al.*, 2004) que é outra especiaria muito utilizada em alimentos e que apresenta um bom potencial antioxidante (Grun *et al.*, 2006).

A atividade antioxidante destas especiarias é atribuída principalmente a presença de compostos fenólicos. O alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e o orégano (*Origannum vulgaris* L.) têm demonstrado elevado potencial antioxidante em vários estudos que visam a aplicação destas especiarias em diversos produtos que são susceptíveis à oxidação (Lee, J.W., 2005).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

O presente trabalho teve por objetivo verificar a influência dos extratos das especiarias orégano (*Origannum vulgare* L.) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*) com propriedades antioxidantes sobre o perfil lipídico de hambúrgueres irradiados com ^{60}Co e aceleradores de elétrons, em seus aspectos químicos e sensoriais, após períodos pré-estabelecidos de armazenamento (45 e 90 dias).

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Avaliar a capacidade antioxidante dos extratos de orégano e alecrim *in vitro*;
- ✓ Verificar o nível de proteção contra a oxidação lipídica nas amostras processadas com diversas concentrações dos extratos e compará-los com um antioxidante sintético (BHT/BHA);
- ✓ Avaliar os efeitos de diferentes doses de irradiação sobre o índice de oxidação lipídica, perfil de ácidos graxos totais e frações *trans*;
- ✓ Avaliar os efeitos do tempo de estocagem sob congelamento sobre o índice de oxidação lipídica, perfil de ácidos graxos e frações *trans*;
- ✓ Avaliar a aceitação global das amostras com extratos de especiarias e um antioxidante comercialmente utilizado (BHT/BHA) pela análise sensorial.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Irradiação de Alimentos

3.1.1 Histórico da Irradiação de Alimentos

A radiação ionizante tem sido empregada com muito sucesso ao longo dos anos em diferentes ramos da indústria alimentícia. A aplicação desta tecnologia em alimentos é um desafio que possui grande potencial na melhora da preservação, estocagem e distribuição do alimento de forma segura (Del Mastro, 1999).

A idéia de utilizar a radiação ionizante na preservação de alimentos surgiu quase que imediatamente à descoberta da radioatividade em 1895. Neste mesmo ano, foi publicado um estudo que sugeria o uso da energia ionizante para destruição de microorganismos deteriorantes e patogênicos em alimentos (Del Mastro, 1999).

A história da irradiação de alimentos caminhou junto com a própria história da radiação. Roentgen descobriu os raios-X em 1895, Becquerel reconheceu a radioatividade em 1896. Uma série de pesquisas sobre os efeitos biológicos da radiação ionizante sobre os organismos vivos seguiram estas descobertas. Diversos empreendedores rapidamente encontraram outras aplicações práticas para a radiação ionizante. A principal vantagem no uso da radiação ionizante em alimentos observada pelos pesquisadores era a total ausência do uso direto ou mesmo emprego de compostos químicos, porém nenhuma aplicação imediata foi possível, por que as fontes de radiação disponíveis na época, máquinas de raios-x e isótopos radioativos, não tinham poder suficiente para tratar alimentos em quantidades industriais (Diehl, 2002). Entretanto, o desenvolvimento tecnológico durante a segunda guerra mundial produziu equipamentos que poderiam ser adaptados e aumentar o processamento pela radiação. Estudos realizados pelos Estados Unidos

estimularam a realização de experimentos por outros países. O primeiro uso comercial da irradiação de alimentos ocorreu em 1957 na Alemanha quando produtores de condimentos começaram a melhorar a qualidade higiênica de seus produtos pela irradiação com elétrons (Diehl, 2002). Esta empresa foi desativada em 1959 quando uma nova lei de alimentos proibiu o uso da radiação ionizante e então a empresa voltou a utilizar o óxido de etileno para fumigação. No Canadá a irradiação de batatas para inibir o brotamento foi permitida em 1960, e uma fonte de ^{60}Co iniciou o processo em 1965. Apesar dos impasses que foram surgindo, o interesse na irradiação de alimentos continuou ao redor do mundo (Diehl, 2002).

Em 1966, ocorreu o primeiro Simpósio Internacional de Irradiação de Alimentos, com a representação de 28 países que revisaram o progresso feito nos programas de pesquisas nacionais (IAEA, 1966). As autoridades de saúde permaneciam relutantes em apoiar e difundir a irradiação de alimentos como um novo processo, e as principais razões para essa reação eram as questões ainda não respondidas sobre a segurança para o consumo humano de alimentos irradiados (Diehl, 2002). Em 1970, um projeto internacional foi criado com o objetivo de patrocinar programas de pesquisas mundiais sobre a salubridade de alimentos irradiados. Foram dez anos de pesquisas patrocinadas pela IAEA (International Atomic Energy Atomic), FAO (Food and Agriculture Organization), OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) e WHO (World Health Organization) com participação de 24 países.

Em 1980, os resultados obtidos deram subsídios para que o comitê criado por estes órgãos concluísse que a irradiação de qualquer tipo de alimento na dose de até 10kGy não apresenta nenhum risco seja ele toxicológico, microbiológico ou nutricional para quem os consumir (WHO, 1981). Como resultado dessa declaração, vários países no mundo aprovaram a aplicação e comercialização de alimentos irradiados, sendo hoje um total de 34 países a utilizar esta tecnologia, dentre eles, o Brasil (Thakur & Smith, 1994; Giroux & Lacroix, 1998).

Com base nos resultados deste projeto internacional, foi criado em 1983 um grupo consultivo sobre irradiação de alimentos (ICGFI – International Consultive Group on Food Irradiation) formado por 45 países membros que

forneceu diversas publicações sobre a segurança dos alimentos irradiados, comercialização do processo, aspectos legislativos, controle das empresas de irradiação, aceitação e informação sobre esta nova tecnologia. Em 1983, o Codex Alimentarius adotou uma padronização geral para alimentos irradiados e o código internacional recomendado de prática para operação de empresas de irradiação (Diehl, 2002).

A Organização Mundial de Saúde encoraja o uso deste processo, o qual é descrito como uma técnica para preservar e aumentar a segurança dos alimentos (WHO/FAO, 1988). Em 1997, um grupo de estudos para aplicação de altas doses de irradiação, formado pela FAO/IAEA/WHO examinou os resultados com experimentos que utilizaram doses maiores do que 10kGy. Poucos alimentos toleraram doses acima de 10kGy sem perda da qualidade sensorial. Por outro lado, longos estudos realizados em animais alimentados com ração irradiada com doses tão altas quanto 70kGy não demonstraram nenhum efeito adverso à saúde que pudesse ser relacionado com este consumo (WHO, 1999).

Muito mais do que outros modernos processos de preservação de alimentos, a irradiação de alimentos teve que vencer barreiras criadas por informações erradas, prejudiciais, leis altamente restritivas e medidas regulatórias as quais até os dias atuais têm impedido o amplo uso desta tecnologia (Diehl, 2002).

3.1.2 Legislação

Nos Estados Unidos, a irradiação de carne ou produtos cárneos requer aprovação antecipada não somente pelo FDA, mas também pelo Departamento de Agricultura, segurança alimentar e serviço de inspeção (USDA/FSIS). O FDA aprovou a irradiação de carne crua refrigerada ou congelada e produtos cárneos para o controle de patógenos alimentares em 1997, esta aprovação se tornou efetiva em fevereiro de 2000. As primeiras embalagens comerciais com carne irradiada chegaram ao comércio em maio de 2000. Os hambúrgueres foram irradiados no estado de Iowa. Esta instalação é capaz de processar cerca de 100,000 toneladas de hambúrgueres por ano.

No Brasil, o decreto nº. 72.718 de 29/08/1973 estabelece e regulamenta a irradiação de alimentos. A irradiação de alimentos no Brasil segue basicamente a mesma legislação internacional estabelecida pelo FDA. Apesar de antiga, os princípios contidos nesse decreto são atuais, por exemplo, irradia-se o alimento com o propósito de preservá-lo, somente poderão ser utilizadas energias ionizantes inferiores ao limiar das reações nucleares que possam provocar radioatividade no material irradiado, etc. A autorização deverá ser concedida pela Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) mediante comprovação: da inocuidade para o consumo do alimento irradiado, o efeito nos nutrientes dos alimentos deve ser comparável aos demais processos de preservação (Brasil, 1973). Atualmente, a legislação foi aperfeiçoada pela RDC nº. 21 de 26/01/2001, que acrescenta e dá outras disposições à regulamentação técnica da irradiação de alimentos. Uma das principais observações, e que deve ser sempre ressaltada, é que o processo de irradiação, bem como qualquer outro tratamento que o alimento sofra para garantir sua inocuidade, não deve substituir as boas práticas de manuseio e fabricação. As fontes de radiação utilizadas em alimentos poderão ser: radiação gamma (^{60}Co e ^{137}Cs); Raios X gerados por máquinas que trabalham com energias de até 5 MeV; Elétrons gerados por máquinas que trabalham com energias de até 10 MeV. Em relação à dose aplicada, a mínima deve ser suficiente para se atingir o objetivo pretendido, e a máxima é aquela que não comprometa as características nutricionais e sensorial do alimento, e principalmente, na embalagem deve conter a inscrição: *Alimento tratado pelo processo de irradiação* (Brasil, 2001).

Nos Estados Unidos, o FDA (Food and Drug Administration) é o órgão regulador primário envolvido com a irradiação de alimentos. Este processo também é controlado pelo Departamento de Agricultura Americano (USDA), assim como os alimentos de origem animal são regulados pelo Serviço de Inspeção e Segurança Alimentar (FSIS), este mesmo órgão aprovou em 1992 o uso da irradiação em carne de ave fresca e congelada a fim de controlar microorganismos patogênicos causadores de toxinfecções alimentares e outras bactérias (Greenberg, 1996). A primeira autorização para o uso da irradiação na esterilização de alimentos ocorreu em março de 1995 quando o FDA permitiu a irradiação de carnes congeladas para ser utilizada em um Programa Espacial da

NASA (National Aeronautics and Space Administration). A norma publicada de 1997 estendeu a aprovação da irradiação para as carnes vermelhas e os seus produtos para prevenção de patógenos causadores de toxinfecções alimentares e outras bactérias. Este procedimento foi aprovado e autorizado pelo USDA em dezembro de 1999 (FSIS, 1999).

O primeiro estudo utilizando a radiação ionizante em hambúrgueres como método de preservação foi realizado em 1943 (Lee *et al.*, 1995). A irradiação de carnes foi aprovada nos EUA após alguns surtos de infecção alimentar causado pelo microorganismo *E.coli* O157:H7, presentes nestes alimentos, que causaram a morte de quatro crianças e a morbidade de 600 pessoas e que trouxe dúvidas sobre a segurança alimentar (Lee, 1994). O problema é mais enfatizado pelo fato que o tratamento com ácido orgânico, pelo qual são submetidas as carcaças dos animais tem uma eficiência limitada no controle da *E.coli* O157:H7, sendo assim a irradiação de certos alimentos pré-embalados como hambúrgueres e carne moída pode auxiliar no controle de patógenos e parasitas de carnes (Farkas, 1998). O FDA/FSIS estabeleceu as normatizações de doses para a irradiação de carne vermelha, sendo 4,5kGy para carne refrigerada e 7kGy para carnes congeladas, além destes, outros alimentos também estão submetidos a normatização pelo FDA, conforme **Tab. 1**:

Tabela 1: Alimentos permitidos para irradiação pela regulamentação do FDA.

Tipo de Alimento	Propósito	Dose
Carne de porco fresca	Controle de <i>Trichinella spiralis</i>	0.3kGy min - 1kGy max
Vegetais	Inibição de crescimento e maturação	1kGy max
Alimentos em geral	Desinfecção de artrópodes	1kGy max
Temperos secos	Desinfecção microbiológica	30kGy max
Frango	Controle de patógenos	3kGy max
Carne congelada (NASA)	Esterilização	44kGy max
Carne refrigerada	Controle de patógenos	4,5kGy max
Carne congelada	Controle de patógenos	7kGy max
Ovo inteiro	Controle de patógenos	3kGy max
Sementes	Controle de patógenos	8kGy

3.1.3 O processo de Irradiação de Alimentos

A irradiação de alimentos é um processo de exposição do alimento a fontes controladas de radiação ionizante com o propósito de reduzir a carga microbiana, destruir os microrganismos, estender a vida-de-prateleira e/ou

desinfestar o produto, além disso, alguns estudos sugerem outros efeitos, tal como a interação com outras propriedades físico-químicas do alimento podendo trazer alguns benefícios, por exemplo, reduzindo o tempo de cocção de diferentes tipos de leguminosas através das alterações do amido (Villavicencio, 1998), dependendo das condições do processo pode ocorrer um aumento na capacidade emulsificante das proteínas (Lacroix *et al.*, 1992), porém há poucos trabalhos sobre estes benefícios secundários à esterilização. A irradiação recebeu a aprovação do FDA para o uso em diversas categorias de alimentos e tem provado ser uma eficiente medida para a segurança alimentar após mais de 50 anos de pesquisa (Smith & Pillai, 2004).

A radiação ionizante inclui os raios gama (de isótopos radioativos de ^{60}Co e ^{137}Cs), raios betas gerados por aceleradores de elétrons e raios-X. Nenhuma destas fontes de irradiação tem energia suficiente para ser capaz de induzir radioatividade no alimento, entretanto ambas têm energia suficiente para remover elétrons dos átomos para formar íons ou radical livre. Os radicais livres colidem com outras ligações químicas nas diversas moléculas presentes no alimento, incluindo o DNA microbiano, quebrando-as e levando à destruição dos microorganismos. A quantidade de radiação ionizante absorvida é chamada de dose de radiação absorvida e é medida por unidade de Grays (1 Gy = 100 rads e 1 rad = 100 erg/g), sendo 1 Gy o equivalente a 1 Joule/Kg e 1000 Grays equivalente a 1 kiloGray (kGy). O nível de redução microbiana é dependente da dose absorvida pelo alimento alvo (Olson, 1998).

Os raios gama e raios-X têm maior capacidade de penetração no alimento do que os elétrons, por isso o tratamento com aceleradores de elétrons somente é efetivo quando for levada em consideração a energia do equipamento, a espessura e a atividade de água do produto a ser irradiado, esta última deve ser considerada também na irradiação com raios gama e com raios-X (GAO, 2000).

A radiação ionizante pode agir de modo direto ou indireto. A ação direta ocorre quando a radiação atinge diretamente uma ligação química, quer de uma proteína, lipídio ou um carboidrato gerando radicais livres, quer de um DNA microbiano quebrando-o e levando à inativação dos microorganismos. A ação indireta ocorre pela ionização de moléculas adjacentes ao DNA, tal como a água,

formando radicais livres e estes radicais atacam outras moléculas incluindo o material genético. A água é a principal molécula na maioria dos alimentos e microorganismos, e é freqüentemente a molécula mais atingida pela radiação (Grecz *et al.*, 1983).

Extensos estudos toxicológicos, agências regulatórias e organizações de saúde, incluindo o FAO (Food and Agriculture Organization), WHO (World Health Organization), Health Canadá (2003), FDA (1986), a Comissão do Codex Alimentarius (CAC, 1983) e o Comitê da Comissão Científica Européia (EC, 2003) têm concluído que os alimentos irradiados com doses de até 10kGy são bastante seguros, desde que estejam desidratados. Mais recentemente, a Comissão do Codex Alimentarius revisou suas considerações sobre a irradiação de alimentos, enfatizando que a dose absorvida pelos alimentos não deve exceder a 10kGy, exceto quando necessário para se atingir um propósito legitimamente tecnológico, por exemplo pode-se citar os temperos secos que podem ser irradiados com até 30kGy e os alimentos desidratados congelados que são utilizados pela NASA para uso de seus astronautas e pelo exército em suas missões, com doses de até 44kGy evitando desta forma, casos de toxinfecções alimentares (Tauxe, 2001; CAC, 2003).

A relativa sensibilidade de diferentes microorganismos à radiação é dependente do seu valor D_{10} (dose suficiente para reduzir a população microbiana em 1 log, ou seja, 90%). Assim sendo, cada microorganismo requer uma dose específica para sua eliminação (Smith & Pillai, 2004). Segundo o FDA (1997) e o FSIS (1999), a dose máxima permitida para uso em carnes é de 4,5kGy para carnes resfriadas e 7kGy para carnes congeladas.

Os Íons e moléculas excitadas são as primeiras espécies formadas quando a radiação ionizante é absorvida por uma matriz alimentícia. O destino das moléculas excitadas é a dissociação em radicais livres. Entre as reações de íons pode-se citar a neutralização entre si e/ou a produção de novas moléculas excitadas podem por sua vez se dissociam em moléculas menores ou radicais livres. Os principais radicais livres formados pela radiólise são os radicais hidroxilas ($\text{OH}^\cdot$) e o hidrogênio ($\text{H}^\cdot$), que são espécies muito reativas e instáveis e que podem combinar-se entre si em locais de altas concentrações de radicais ou

podem se difundir no meio e reagir com outras moléculas dando prosseguimento à cadeia de oxidação (Fennema, 2007).

3.2 Ácidos Graxos da Carne Bovina

A carne bovina tem uma grande quantidade de gordura. Estudos mostram que a carne normal contém em média 30% de gordura, a carne tipo magra contém 23% e a extramagra contém 17%. As gorduras animais contêm predominantemente triglicérides, fosfolipídios, esteróis e ésteres de esteróis (Levefre *et al.*, 1994).

A gordura da carne bovina é composta em sua maior parte por ácidos graxos saturados (SFAs – Saturated fatty acids) e ácidos graxos monoinsaturados (MUFAs – Monounsaturated fatty acids), e somente uma pequena parte de ácidos graxos polinsaturados (PUFAs – Polyunsaturated fatty acids) e de ácidos graxos *trans* (Valsta *et al.*, 2005). Alterações nas frações lipídicas da carne podem alterar também seu aroma e sabor (Scollan *et al.*, 2006).

Na carne bovina por ordem de importância são encontrados o ácido oléico (18:1), ácido palmítico (16:0), ácido esteárico (18:0), ácido palmitoléico (16:1), ácido linoléico (18:2), ácido α -linolênico (18:3) e o ácido araquidônico (20:4). Alguns ácidos graxos encontrados na carne desempenham funções importantes no metabolismo. Os ácidos graxos polinsaturados, como os ácidos linoléico e araquidônico são de grande importância nutricional, sendo essencial na dieta humana, e devido estes ácidos graxos serem oxidados rapidamente, algumas medidas devem ser tomadas para se evitar este processo, tais como uso de antioxidantes e monitoramento da temperatura. Os ácidos graxos insaturados também são carreadores de vitaminas lipossolúveis tais como A, D, E e K (Giroux & Lacroix, 1998).

Além da oxidação lipídica, outras importantes alterações deverão ser prevenidas quando os alimentos são submetidos ao processo de irradiação, uma delas é a formação de ácidos graxos *trans* (AGTs) (Brito *et al.*, 2002; Yilmaz & Geçgel, 2006). Os ácidos graxos são denominados *trans*, quando os hidrogênios ligados aos carbonos de uma insaturação se encontram em lados opostos. Na

Fig. 1 é demonstrada a estrutura química do ácido oléico (18:1) na sua forma *cis* e seu isômero ácido elaídico (18:1 $\hat{t}$) na forma *trans*. Na natureza, os ácidos graxos são encontrados na configuração *cis*. Nesta configuração os hidrogênios ligados aos carbonos da dupla ligação se encontram do mesmo lado. Os ácidos graxos *trans* presentes na dieta são oriundos de gorduras hydrogenadas, de óleos refinados, da carne, leite e derivados de animais ruminantes, por ação bacteriana (Martin *et al.*, 2004).

Figura 1: Fórmula estrutural de um ácido graxo *cis*, ácido oléico e seu isômero *trans*, ácido elaídico.

Os ácidos graxos insaturados de configuração *trans* (ácidos graxos *trans*) demonstram uma correlação positiva com o risco de doenças coronarianas assim como os ácidos graxos saturados. Com o aumento da ingestão de ácidos graxos *trans* vários mecanismos contribuem para o aumento do risco de doenças coronarianas: primeiro de tudo, os ácidos graxos *trans* diminuem o HDL (High-density Lipoprotein) colesterol e alteram a relação LDL (Low-density Lipoprotein)/HDL colesterol. Além disso, eles causam aumento dos níveis séricos de triglicérides e alguns estudos sugerem uma provável contribuição deste efeito na elevação dos riscos de doenças cardiovasculares, também inibem as enzimas do metabolismo eicosanóide, este efeito é atribuído a competição dos AGTs com

ácidos graxos das famílias ω -3 e ω -6 nas reações de dessaturação e alongação da cadeia, resultando na formação de eicosanóides sem atividade biológica e por último ainda pode resultar em alterações no balanço existente entre prostaglandinas e tromboxanos, o que pode favorecer a agregação plaquetária, contribuindo para o desenvolvimento de aterosclerose e trombogênese. Convém ressaltar que muito destes estudos foram realizados em animais de laboratório, e os estudos com seres humanos ainda são escassos (Mancini-Filho, 1997; Mancini-Filho & Chemin, 1996; Wahrburg, 2004; Martin *et al.*, 2004).

Com a mudança de hábitos alimentares e sociais, ocorreu um aumento progressivo do consumo de alimentos industrializados que contêm em sua formulação, entre outros ingredientes ou matérias primas, gorduras hidrogenadas, que por sua vez podem conter em sua composição altos teores de ácidos graxos *trans*, que se forma pelo processo de hidrogenação (Badolato, 2000). Com os avanços na área de tecnologia de gorduras, novas formas de hidrogenação já vinham sendo estudadas para se evitar a formação dos ácidos graxos *trans*, dentre as quais a hidrogenação modificada que é um processo no qual aumenta-se o grau de hidrogenação progressivamente, o que possibilita a redução da quantidade de AGTs mas aumenta a quantidade de ácidos graxos saturados ao final do processo; a interesterificação química, que consiste no rearranjo aleatório dos ácidos graxos na molécula do glicerol na presença de um catalisador, como o metóxido de sódio ou uma enzima *lipase*, neste caso ocorre a mistura de um óleo vegetal não hidrogenado e um óleo vegetal totalmente hidrogenado (ambos livres de AGTs) numa proporção típica de 85% e 15% respectivamente, que permite que se obtenha a gordura com um ponto de fusão similar a gordura hidrogenada; o uso de frações ricas em sólidos originárias de óleos naturais como do coco verde e da palma, tais frações podem ser misturadas com óleos líquidos, como o óleo de soja ou de canola, para criar gorduras vegetais ou margarinas sem ou com baixo nível de AGTs ou AG saturados e o uso de óleos melhorados "*trait-enhanced oils*", tais óleos são originários das referidas plantas ou de métodos biotecnológicos e pertencem a três categorias basicamente, óleos ricos em ácido oléico (18:1), tais como o óleo de girassol e canola; óleos com média quantidade de ácido oléico, tais como o óleo de girassol ou soja; óleos com baixa quantidade de ácido α -linolênico (18:3), tais como o óleo de canola ou soja. Óleos com altas e

médias concentrações de ácido oléico são mais estáveis à oxidação do que os tradicionais óleos com altas concentrações do ácido linoléico (18:2), tais como o óleo de soja, milho e girassol. Todos estes óleos têm boa estabilidade oxidativa (Rousseau *et al.*, 1996; Ghotra *et al.*, 2002; Hunter, 2005).

No Brasil, as autoridades de saúde já começaram a se preocupar com os níveis destes compostos nos alimentos, e com a informação aos consumidores dos produtos que estão sendo adquiridos. A resolução nº 360, publicada em 23 de dezembro de 2003 estabelece novas normas para a especificação nas embalagens dos alimentos, considerando que a rotulagem nutricional facilita ao consumidor conhecer as propriedades nutricionais dos alimentos, contribuindo para um consumo adequado dos mesmos, dentre estas novas regras está a inclusão dos valores específicos de ácidos graxos *trans*, que já entrou em vigor em julho de 2006, e agora as empresas buscam alternativas de reduzir a quantidade deste lipídio nos seus alimentos, bem como buscam garantir que os métodos empregados na produção não altere a concentração dos AGTs de modo que o torne inadequado para o consumo humano (RDC nº 360, 2003).

3.4 Radicais livres e Oxidação Lipídica

Os alimentos contêm alguns componentes-chaves, tais como carboidratos, proteínas, lipídios, vitaminas e pigmentos que regulam seu sabor, aspecto e valor nutritivo (WHO, 1994). Alguns desses componentes podem ser muito sensíveis à irradiação e, se a dose de radiação for alta, pode causar transformações prejudiciais no sabor, odor e cor desses alimentos (Villavicêncio, 1998). As alterações causadas pela irradiação nas propriedades sensoriais dos alimentos são resultantes principalmente de reações químicas em três tipos de componentes dos alimentos: 1. Oxidação lipídica, o que resulta num sabor rançoso, 2. Interação com os aminoácidos, causando pequenas quebras nas cadeias e liberando desagradáveis cheiros sulfurosos, lembrando que esta reação acontece em níveis bem baixos não acarretando problemas no valor nutricional e, 3. Quebra dos carboidratos, como no caso da pectina, por exemplo, resultando num amaciamento de frutas e vegetais (Kilcast, 1994).

Alguns estudos relatam que os macronutrientes tais como proteínas, carboidratos e gorduras são relativamente estáveis às doses até 10kGy, e que os micronutrientes, principalmente as vitaminas, podem ser sensíveis a qualquer método de tratamento de alimentos (Villavicêncio *et al.*, 2000). A oxidação lipídica da carne ou de seus derivados durante o período de estocagem ou causado por algum tratamento pelo qual o produto seja submetido segue os mesmos princípios já bem conhecidos da autooxidação, que resulta na produção de hidroperóxidos. A degradação destes hidroperóxidos produz aldeídos, tais como o malonaldeído, álcool, cetonas e outros produtos secundários (**Fig. 2**) e afeta o gosto e a cor da carne (Grün *et al.*, 2006).

Figura 2: Rotas da oxidação lipídica.

A oxidação lipídica tem sido postulada em três passos (**Fig. 3**):

1. Iniciação: nesta fase se formam os primeiros radicais livres ($R^\bullet$) por ação dos agentes oxidantes, neste caso ocorrerá pela ação da irradiação, tanto sobre as moléculas de ácidos graxos insaturados quanto pela radiólise da água. Ainda não há cheiro ou gosto de ranço no alimento.

2. Propagação: Nesta fase ocorre a reação dos radicais livres com o oxigênio para formar peróxidos radicais ($ROO^\bullet$). Estes peróxidos radicais

abstraem os átomos de hidrogênios do grupo α -metilênico de outras moléculas de ácidos graxos insaturados produzindo hidroperóxidos (ROOH) e novos radicais livres. Estes novos radicais reagem com o oxigênio e a seqüência de reação se torna cíclica. Há um aumento dos peróxidos e de seus produtos de decomposição. Nesta fase já há presença de cheiro e sabor de ranço que tendem a aumentar rapidamente.

3. Terminação: Esta fase ocorre quando dois radicais reagem entre si formando um radical livre não-reativo e outros compostos não-reativos. Nesta fase percebe-se cheiro e sabor de ranço forte no alimento, alterações na cor e viscosidade dos lipídios, bem como da sua composição. Na cadeia de autoxidação, a irradiação atua como um potente iniciador (Fennema, 2007; Bobbio & Bobbio, 2001).

Figura 3: Seqüência de reações do processo da autoxidação.

As moléculas orgânicas e inorgânicas e os átomos que contêm um ou mais elétrons não pareados, com existência independente, podem ser classificados como radicais livres (Halliwell, 1994). Essa configuração faz dos radicais livres moléculas altamente instáveis, com meia-vida curtíssima e quimicamente muito reativas, capazes de reagir com qualquer composto situado próximo à sua órbita externa, passando a ter uma função oxidante ou redutora de elétrons (Halliwell & Gutteridge, 1999).

A oxidação lipídica ou rancificação oxidativa ocorre pela degradação dos ácidos graxos polinsaturados (PUFA). As transformações geradas pela oxidação resultam em produtos residuais, tais como aldeídos, cetonas, ácidos, álcoois, hidrocarbonetos, etc. e entre estas as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e produtos voláteis de lipídios levando a uma perda na qualidade nutricional ou sensorial do alimento (Estéves *et al.*, 2007; Bobbio & Bobbio, 2001). Este conjunto de alterações é um processo irreversível que contribui para o desenvolvimento de características organolépticas inaceitáveis, sendo um fator importante em produtos cárneos preservados por congelamento (Georganteli *et al.*, 2007). A oxidação lipídica em alimentos tratados pela irradiação é um problema crucial e deve ser intensamente controlada, já que este processo gera a formação de radicais livres e estes são os principais iniciadores do processo oxidativo (Lee *et al.*, 2005).

A rancificação oxidativa não ocorre normalmente com ácidos graxos saturados porque neste caso a formação de um radical livre é energeticamente desfavorável. Somente sob condições drásticas de temperatura, a formação do radical livre por ruptura homolítica da ligação C-H de uma cadeia carbônica saturada poderia ocorrer já que esta ruptura exigiria aproximadamente 100 kcal/mol de energia. Entretanto, a presença de duplas ligações na cadeia carbônica dos ácidos graxos insaturados baixa a energia necessária para a ruptura homolítica das ligações C-H na posição alílica para aproximadamente 60 kcal/mol (Bobbio & Bobbio, 2001). A taxa de oxidação é diretamente dependente do grau de insaturação dos ácidos graxos, ou seja, a taxa relativa de autooxidação do ácido oléico (18:1), ácido linoléico (18:2), ácido α -linolênico (18:3) é na ordem de 1:12:25 com base na formação de peróxidos e na ordem de 1:40-50:100 com base no consumo de oxigênio (Tozer, 2001).

A distribuição dos lipídios na matriz do alimento também é um fator importante no desenvolvimento de processos oxidativos, ou seja, quando os lipídios se encontram dispersos na matriz, formada por polissacarídeos e pelas proteínas, estão mais facilmente expostos à oxidação. No entanto, a existência de interações hidrofóbicas entre as cadeias de ácidos graxos e as hélices de amilose, ou o encapsulamento dos lipídios pelas proteínas, podem conduzir ao retardamento dos processos oxidativos (Silva *et al.*, 1999).

A temperatura, a superfície de área e os metais de transição também podem afetar a velocidade da oxidação. A velocidade de oxidação aumenta conforme o aumento da temperatura e pode dobrar a cada 10°C. A oxidação também aumenta proporcionalmente à superfície de área do lipídio exposto ao ar. Metais de transição como o ferro e o cobre são também efetivos pró-oxidantes (Tozer, 2001).

3.5 Antioxidantes e suas aplicações em alimentos

Antioxidantes são substâncias capazes de seqüestrar ou impedir a formação de radicais livres, ou seja, são doadores de prótons. Os principais antioxidantes lipídio-solúveis atualmente utilizados em alimentos são os fenóis polihídricos e monohídricos. O mecanismo de ação dos antioxidantes está bem elucidado, ou seja, uma substância é eficiente na redução das reações da autooxidação se inibir a formação de radicais livres na iniciação (antioxidante primário) na cadeia de oxidação ou se interromper a propagação (antioxidante secundário) da cadeia de radicais livres (Fennema, 2007).

Embora a inibição completa da oxidação lipídica até agora não tenha sido conseguida, o uso de antioxidantes tem conseguido retardar esse processo por períodos longos, de modo a permitir o consumo dos lipídios ou dos alimentos que os contém, mesmo após seu armazenamento por muitos meses (Bobbio & Bobbio, 2001).

Na seleção de antioxidantes, são desejáveis as seguintes propriedades: eficácia em baixas concentrações (0,001 a 0,01%); ausência de efeitos indesejáveis na cor, no odor, no sabor ou em outras características do alimento e fácil aplicação; estabilidade nas condições de processo e armazenamento e o composto e seus produtos de oxidação não podem ser tóxicos, mesmo em doses muito maiores das que normalmente seriam ingeridas no alimento, além destes fatores, outros devem ser considerados, incluindo legislação, custo e a preferência do consumidor por produtos naturais (Ramalho & Jorge, 2006).

Os antioxidantes podem ser classificados de acordo com seu mecanismo de ação. Os antioxidantes primários são compostos fenólicos que promovem a remoção ou inativação dos radicais livres formados durante a iniciação ou propagação da reação, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas interrompendo a reação da cadeia, neste grupo estão o BHT, BHA, TBHQ e o PG que são sintéticos, e os tocoferóis, que são naturais e estes últimos também podem ser classificados como antioxidantes biológicos. Os antioxidantes sinergistas são substâncias com pouca ou nenhuma atividade antioxidante que podem aumentar a atividade dos antioxidantes primários quando usado em combinação adequada com eles. Os removedores de oxigênio são compostos que atuam capturando o oxigênio presente no meio, através de reações químicas estáveis, tornando-os indisponíveis para atuarem como propagadores da autoxidação, neste grupo estão o ácido ascórbico, seus isômeros e seus derivados. Os antioxidantes mistos incluem compostos de plantas que têm sido amplamente estudados como antioxidantes em alimentos, e neste grupo estão os flavonóides e derivados do ácido cinâmico (ácido caféico). Os agentes quelantes e/ou sequestrantes complexam íons metálicos, tais como o cobre e o ferro, que catalisam a oxidação lipídica, neste grupo está o ácido cítrico e seus sais e os fosfatos. Os antioxidantes biológicos incluem as várias enzimas presentes nos sistemas biológicos, tais como glicose oxidase, superóxido dismutase e a catalase (Shahidi, 2005; Ramalho & Jorge, 2006).

Estudos mostram que antioxidantes podem reduzir os efeitos da deterioração nas carnes irradiadas pela neutralização dos radicais livres que são formados durante o processo da irradiação (Nam & Ahn, 2003).

Por definição, atividade antioxidante é a capacidade de um composto ou composição de inibir a oxidação lipídica (Roginsky & Lissi, 2005). Os compostos antioxidantes sintéticos mais utilizados na indústria de alimentos, entre outros, são o butil-hidroxi-anisol (BHA); butil-hidroxi-tolueno (BHT); tércio-butil-hidroxiquinona (TBHQ), tri-hidroxi-butilfenona (THBP) e o propilgalato (PG) (Soares, 2002).

Em razão de alguns estudos que apontam possíveis efeitos deletérios ao organismo causados pelos aditivos sintéticos, tais como o BHT ou o BHA, os

consumidores têm dado preferência aos antioxidantes naturais do que os sintéticos (Hocman, 1988; Ito *et al.*, 1986; Williams & Iatropoulos, 1996; Williams *et al.*, 1999).

Diversas pesquisas têm-se dirigido no sentido de encontrar produtos naturais com atividade antioxidante os quais permitirão substituir os sintéticos ou fazer associações entre eles, com o intuito de diminuir sua quantidade nos alimentos. Estes estudos são concentrados nos compostos fenólicos de origem vegetal, pois eles agem como aceptores de radicais livres, interrompendo a reação em cadeia provocada por estes, além de atuarem nos processos oxidativos catalizados por metais, tanto *in vitro*, como *in vivo* (Soares, 2002).

O alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e o orégano (*Origanum vulgare* L.) têm demonstrado um ótimo potencial antioxidante em diversos estudos que visam a aplicação destas especiarias em diversos produtos que são susceptíveis à oxidação, tais como maioneses, salsichas, carnes de peru, frango, peixes, etc. (Lee *et al.*, 2005; Estéves & Cava, 2006; Carvalho-Junior *et al.*, 2005; Rodríguez-Meizoso *et al.*, 2006; Kulisic *et al.*, 2004; Botsoglou *et al.*, 2002).

A atividade antioxidante destas especiarias é atribuída principalmente a presença dos compostos fenólicos. Compostos fenólicos englobam moléculas simples até outras com alto grau de polimerização (Bravo, 1998). Estão presentes nos vegetais na forma livre ou ligado a açúcares (glicosídeos) e proteínas (Croft, 1998). Os fenólicos estão divididos em dois grandes grupos: os flavonóides e os ácidos fenólicos. Antioxidantes fenólicos atuam como seqüestradores de radicais e algumas vezes como quelantes de metais (Shahidi *et al.*, 1992), agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os principais compostos fenólicos identificados no orégano são: glicosídeo fenólico; ácido caféico, ácido protocatequínico, apigenina, eriodictol, diidro-quercetina e diidro-kaempferol, enquanto no alecrim são: ácido carnósico, carnosol, ácido rosmarínico, rosmanol, apigenina, hesperetina, ácido caféico, ácido vanílico, ácido ferúlico, ácido ursólico (Cintra, 1999).

3.6 Consumo de carnes no Brasil

Segundo o American Meat Institute (AMI), o consumo de carne moída conhecida como "*Ground Beef*" nos Estados Unidos é de aproximadamente 12 kg por pessoa/ano, totalizando a produção de algo em torno de 3,5 milhões de toneladas anualmente. A carne bovina fresca ou moída é produzida em mais de 1000 frigoríficos em todos os 50 estados americanos, e estima-se que metade desta produção seja vendida em restaurantes "*fast-food*", e a outra metade em supermercados locais (AMI, 2005).

A carne bovina e, paralelamente, os hambúrgueres tiveram crescimento de produção e consumo fantásticos nas últimas décadas. Em 1960, nos EUA, a produção de carne reestruturada, processada sob Inspeção Federal era de 375.000 toneladas, sendo somente 30% do total destinado para hambúrgueres. Cerca de 20 anos depois, a produção total de carne aumentou em cerca de 1.000%, passando para 1,3 milhões de toneladas (Sink, 1980).

A procura por alimentos semiprontos cresceu rapidamente nos últimos anos devido sua conveniência, praticidade e facilidade no preparo. Entre estes alimentos, os produtos derivados da carne bovina são os mais populares, tais como os hambúrgueres que responde por cerca de 40% destes produtos (Nascimento *et al.*, 2005). Tais produtos são preparados e congelados em indústrias alimentícias, em seguida são distribuídos e vendidos sob congelamento (abaixo de -10°C) (Lee *et al.*, 2005).

No Brasil o consumo de carne bovina começou a crescer após a estabilização da moeda. A reativação do consumo da carne bovina está relacionada, principalmente, ao aumento do consumo de hambúrgueres não apenas no Brasil, mas em todo o mundo. As gerações mais jovens são menos sensíveis aos argumentos de risco de desenvolvimento de doenças cardíacas pela ingestão de grande quantidade de gorduras de origem animal, e consomem cada vez mais hambúrgueres. Estudos têm confirmado a tendência de que mantenham esses hábitos pelo resto da vida. A maior fatia de crescimento de consumo da carne bovina mundial está prevista para acontecer no setor de carne moída e de hambúrgueres. Tal fato beneficia economicamente o Brasil, cujo

rebanho tem capacidade de atender o aumento da demanda (Nascimento *et al.*, 2005).

Em comparação com os países europeus, o Brasil foi o maior consumidor de carne bovina (36,3 kg/hab/ano) considerando-se os dados relativos a 2003 (ABIECS, 2003). No “ranking” mundial, o Brasil foi o terceiro maior consumidor de carne bovina em 2003 (Rodrigues-Júnior, 2003), só perdendo para os Estados Unidos da América (41,90 kg/hab/ano) e Austrália (37,50 kg/hab/ano).

Por definição, hambúrguer pode ser um produto cárneo industrializado obtido da carne moída de origem bovina, adicionado ou não de tecido adiposo e ingredientes, moldado e submetido a processo tecnológico adequado. Sua matéria prima é carne desossada congelada, gordura, proteína de soja, condimentos como cebola e alho poró e aditivos, como antioxidantes (Brasil, 2000; RIISPOA, 1952).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Materiais

Orégano Santos Flora S/A;

Extrato de Alecrim Danisco S/A (Guardian™ Rosemary Extract 09);

Blend BHT/BHA (butilhidroxitolueno / butilhidroxianisol) - Grindox™ Danisco S/A;

Hambúrgueres bovinos (dianteiro bovino moído; gordura bovina; sal; gelo) preparados especialmente para este experimento na planta piloto da Sadia S/A;

Hexano Merck®, álcool etílico 95%, álcool metílico, ácido clorídrico, hidróxido de sódio 0,05 N metanólico, cloreto de sódio, ácido pirogálico, mistura de esterificação, β -caroteno, ácido linoléico, Tween 40, éter etílico PA, éter de petróleo, clorofórmio, ácido tiobarbitúrico (TBA), Catequina, Reagente Folin Ciacalteau, Ácido tricloroacético (TCA) - Dinamica®, padrão TEP (1,1,3,3 – Tetraethoxiprapone), padrões de ácidos graxos Sigma®.

4.2. Métodos

4.2.2 Preparação da farinha de Orégano

Foram utilizadas folhas de orégano secas. As folhas de orégano foram tamisadas (*Tamis 32 Mesh*). A farinha foi acondicionada em frasco de plástico, protegidas da luz e mantidas à temperatura ambiente (20-25 °C).

4.2.2 Preparação do Extrato Aquoso de Orégano

A extração foi realizada de modo seqüencial com solventes de diferentes polaridades. Abaixo segue o esquema da extração (**Fig. 4**).

Inicialmente foi utilizado éter etílico, em seguida utilizou-se álcool etílico e finalmente água destilada, originando então extratos etéreo, alcoólico e aquoso, respectivamente, sendo que apenas o extrato aquoso foi utilizado para os testes de atividade antioxidante e adição às amostras de hambúrgueres.

Figura 4: Extração seqüencial (Mancini-filho *et al.*, 1998)

4.2.3 Gravimetria do extrato aquoso

A gravimetria foi realizada para determinar a quantidade de matéria seca presente nos extratos das amostras e calcular a quantidade em ppm (parte por milhão) do extrato que seria utilizado para os testes de atividade antioxidante e também para a adição na massa utilizada no preparo das amostras. Uma alíquota de 1 ml do extrato foi transferida para vidros-relógio, previamente tarados, e o material (vidro-relógio e extrato) foi pesado. A evaporação do solvente foi feita em estufa a 105 °C por 2 horas. Após a evaporação completa do solvente, o vidro-relógio foi pesado e então determinada a quantidade de matéria seca (mg/mL de extrato) pela seguinte fórmula:

$$\text{mg/mL (\%)} = \frac{\text{Pi} - \text{Pf} \times 100}{\text{mL}}$$

Onde: Pi (peso inicial); Pf (peso final); mL (quantidade do extrato).

4.2.4 Quantificação dos compostos fenólicos totais nos extratos das especiarias

Neste trabalho foi utilizado extrato comercial do alecrim cuja informação da quantidade de fenólicos diterpenos constava nas especificações da embalagem. Porém para fim de padronização, foi novamente determinada a concentração destes compostos pela mesma metodologia utilizada para o extrato do orégano. A quantificação total de compostos fenólicos presentes nos extratos aquoso e comercial das especiarias foi realizada pelo método indicado por Swan & Hillis (1959). A medida da absorbância, em comprimento de onda de 520nm, foi realizada utilizando o reagente Folin Ciocalteau para a reação colorimétrica, e a catequina para a curva padrão (**Fig. 5**). Os resultados foram obtidos como mg de fenólicos/mL de extrato para o extrato do alecrim, e mg de fenólicos/mg da farinha do orégano.

Figura 5: Curva padrão de catequina utilizada na determinação dos fenólicos totais.

4.2.5 Avaliação da Atividade Antioxidante

A atividade antioxidante foi determinada em sistema β -caroteno/ácido linoléico (sistema aquoso) *in vitro*, desenvolvido por Marco (1968) e modificado por Miller (1971), empregando o ácido linoléico, Tween 40 e β -caroteno. Este é sistema de co-oxidação de substratos, no qual é realizado um ensaio espectrofotométrico baseado na descoloração (oxidação) do β -caroteno induzida pelos produtos da degradação oxidativa de um ácido graxo insaturado (ácido linoléico). Esse sistema foi mantido a 50°C, e medidas espectrofotométricas de absorbância foram monitoradas em espectrofotômetro (Spectrometry® 20 Genesys™), a 470 nm, a cada 15 minutos, durante 120 minutos. Diferentes volumes de extrato para 100 e 200 ppm (cálculo baseado nos valores da gravimetria) foram adicionados a 5 mL de solução de β -caroteno com ácido linoléico: 20 μ L de solução β -caroteno (20 mg/mL) + 1 mL de clorofórmio, 40 mg de ácido linoléico, 530 mg de Tween 40 como emulsificante, e foram evaporados com nitrogênio. A seguir foram adicionados entre 120 e 150 mL de água destilada, tratada com O₂ durante 30 minutos. A solução inicial foi diluída até apresentar densidade ótica entre 0.6 e 0.7 na absorbância de 470nm.

Todas as determinações foram realizadas em repetições até a obtenção do coeficiente de variância de 5% e acompanhadas por um controle sem antioxidante e um outro com antioxidante sintético (BHT/BHA), nas mesmas proporções das amostras. As porcentagens de inibição da oxidação foram calculadas da seguinte forma: o decaimento da densidade ótica do controle (D.O. inicial – D.O. final) foi considerado como 100% de oxidação (**Fig. 6**). A queda na leitura da densidade ótica das amostras foi correlacionada com o controle e estabeleceu-se a porcentagem de inibição da oxidação, subtraindo-se a porcentagem de oxidação de cada amostra de 100.

Primeiramente foi verificada a ação antioxidante dos extratos sozinhos e depois o efeito sinérgico dos dois extratos naturais (alecrim e orégano) e por último foi verificada a atividade dos extratos somados aos antioxidantes sintéticos.

Figura 6: Modelo para cálculo de porcentagem de inibição da oxidação (Pereira, 1996).

4.2.6 Preparo das amostras de hambúrgueres

As amostras de hambúrgueres foram preparadas na planta piloto da SADIA S/A conforme **Fig. 7**, e o planejamento experimental das análises das amostras é mostrado na **Fig. 8**. Foram utilizados para a preparação da massa, 70% de músculo bovino dianteiro; 20% Gordura; 8% Gelo/água; 2% sal iodado e proporções diferentes dos antioxidantes testados.

Figura 7: Sequência para o preparo das amostras de hambúrgueres.

As amostras foram preparadas conforme a recomendação da SADIA S/A, onde inicialmente são misturados a carne, a gordura, o sal, e o gelo (1), em seguida é adicionado o antioxidante escolhido (2), e a massa é novamente

misturada para que ocorra a distribuição homogênea do extrato (3), a massa é então colocada em um moedor de carne (4 e 5), e posteriormente no processador piloto de hambúrguer (6), e a máquina molda as amostras com a espessura padrão de 7 mm (7), por fim algumas amostras são moldadas manualmente utilizando um molde de polietileno e espátula (8).

Após o preparo das amostras, elas foram acondicionadas em embalagens plásticas, e imediatamente congeladas à - 20º C. A temperatura foi mantida durante o transporte SADIA – IPEN e também durante o processo de irradiação (item 4.2.7).

Figura 8: Planejamento experimental dos hambúrgueres bovinos irradiados e estocados sob congelamento

4.2.7 Irradiação das Amostras

As amostras, sob condições aeróbias, foram separadas em dois grupos, sendo um grupo tratado pelo processo de irradiação em um Irradiador semi-industrial de ^{60}Co (irradiação gama) nas instalações do Centro de Tecnologia das Radiações (IPEN/SP) com as seguintes doses 6, 7 e 8kGy e o outro grupo em um acelerador de elétrons também do Centro de Tecnologia das Radiações (IPEN/SP) com as doses de 3.5 e 7kGy. Amostras não irradiadas foram utilizadas como controle. Durante ambos os processos de irradiação a temperatura foi mantida com gelo seco (-20 °C).

No Irradiador Semi-industrial de ^{60}Co a taxa de dose foi de $\approx 3\text{kGy/h}$ e foram utilizados dosímetros Harwell Amber Batch P tipo 3042 – variação de limite de detecção 1-30kGy. As amostras foram irradiadas no sistema de dose fracionada, ou seja, foram colocadas todas de uma só vez no irradiador semi-industrial acondicionadas em caixas térmicas de isopor contendo gelo seco, e conforme se atingia a dose desejada, partes das amostras foram sendo retiradas do aparelho até que o último grupo atingisse a dose de 8kGy.

No acelerador de elétrons foi utilizada uma energia de 1,084 MeV, largura do feixe de 100 cm e velocidade da bandeja de 6,72 m/min para ambas as doses utilizadas. Para a dose de 3,5kGy a taxa de dose foi de 7,86kGy/s e a corrente do feixe 1,65 mA, e para a dose de 7kGy a taxa de dose foi de 15,67kGy/s e a corrente do feixe 3,29 mA.

4.2.8 Determinação do índice de oxidação lipídica foi medido pelas SRATB (Substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico)

Usando o método de Turner *et al.* (1954), os valores das SRATB (Substâncias Reativas ao Ácido 2-Tiobarbitúrico) dos hambúrgueres irradiados com fonte ^{60}Co e com feixe de elétrons foram medidos no tempo 0, 45 e 90 dias. O teste foi realizado para determinar a taxa de oxidação lipídica e o nível de proteção proporcionado pelos antioxidantes adicionados. O procedimento foi realizado da seguinte forma: uma alíquota de 5 g de cada amostra foi homogeneizada com 25 ml de ácido tricloroacético (TCA - Dinamica® – Chemical industry) a 7,5%, e após total homogeneização essa mistura foi filtrada em um balão volumétrico e o volume foi

acertado para 25 ml. Em outro tubo foi colocado 5 ml desse filtrado e 5 ml de TBA 0,05 N e então essa solução foi colocada em banho-maria por 10 min para que ocorresse a reação das substâncias reativas com o ácido 2-tiobarbitúrico. A absorbância, em comprimento de onda de 532nm, foi medida em um espectrofotômetro (Spectometry® 20 Genesys™). A concentração das SRATB foi calculada usando uma curva padrão (**Fig. 9**). Esta curva foi elaborada usando o TEP (1,1,3,3 - Tetraetoxipropano) como reagente padrão em diversas concentrações.

Figura 9: Curva padrão com TEP do teste das SRATB

4.2.9 Determinação do perfil de ácidos graxos por Cromatografia Gasosa

A extração dos ácidos graxos foi realizada segundo o método da AOAC (2001), por hidrólise alcalina seguida por esterificação. Os ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) foram identificados por cromatografia gasosa, comparando-se os tempos de retenção dos ésteres da amostra com os dos ácidos graxos padrões (SIGMA®) e a quantificação foi realizada com base na percentagem de área dos picos e os valores expressos em g/100g da amostra.

As condições da análise foram as seguintes:

Cromatógrafo à gás CG 17A Shimadzu GC com detector de ionização de chama, equipado com coluna cromatográfica de sílica fundida SP-2560 (*Biscyanopropil polysiloxane*) de 100 metros de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno. Os parâmetros foram controlados através do software Workstation Class GC 10.

Programação de temperatura da coluna: isotérmica a 140°C por 5 minutos, aquecimento a 4°C/min. até 240°C, permanecendo nesta temperatura por 30 minutos. A temperatura do vaporizador foi de 250°C e do detector de 260°C. O gás hélio foi utilizado como gás de arraste a 1 mL/min. A alíquota injetada foi de 1µL, leitura feita em triplicata. A razão de divisão da amostra no injetor foi de 1/50.

4.2.10 Análise Sensorial

Com o objetivo de avaliar as alterações provocadas no sabor dos hambúrgueres em função dos antioxidantes utilizados, da oxidação e da irradiação, foi utilizado o teste de aceitação global com uso de uma escala hedônica de 9 pontos (**Anexo 1**) variando de gostei muitíssimo a desgostei muitíssimo. A análise sensorial foi realizada de acordo com a recomendação da SADIA S/A para produtos do tipo hambúrguer, respeitando-se o período compreendido entre o processamento, distribuição e consumidor final, desta forma, foram realizadas duas análises, sendo a primeira 20 dias após o processamento das amostras, e a segunda no término do experimento, ou seja, com 90 dias após o processamento.

Para realização destas análises, o projeto foi submetido à apreciação pelo comitê de Ética em Pesquisas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF/USP), obtendo a respectiva autorização (**Anexo 2**). A primeira análise sensorial foi realizada nas dependências do laboratório de análise sensorial da SADIA S/A, e a segunda análise, por questão de transporte dos provadores, foi realizada nas dependências do Laboratório de Análise Sensorial da FCF/USP, seguindo a mesma metodologia aplicada anteriormente.

A realização do teste de aceitação foi conduzida com uma participação de 30 provadores entre estudantes e funcionários do IPEN e FCF/USP.

As amostras escolhidas para a análise sensorial foram as que estavam nas extremidades do experimento, ou seja, amostras não-irradiadas e irradiadas com 8kGy com a adição dos seguintes antioxidantes: BHT/BHA (200 ppm); Extrato de Alecrim (400 ppm); Extrato de Orégano (400 ppm), totalizando 6 amostras para cada provador, que eram servidas de forma monárdica e independente conforme a **Fig. 10**.

Figura 10: Apresentação das amostras e modelo da cabine da análise sensorial (SADIA S/A)

Os hambúrgueres foram grelhados em chapa elétrica, da marca Imarflex[®], pelo tempo de 3 minutos mais 1 minuto de cada lado em temperatura de 180 °C. Não foi utilizado nenhum tipo de óleo no processamento, apenas a gordura que desprendia do produto. Depois de grelhados, os hambúrgueres eram cortados em pedaços e mantidos em caixas isotérmicas para manutenção da temperatura até serem servidos. As amostras eram servidas em pratos de plásticos codificadas com 3 dígitos. Para limpeza do paladar durante a degustação das amostras, os provadores utilizavam biscoito cream cracker e água mineral, servidos à vontade.

4.2.11 Análise estatística dos resultados

A análise estatística foi realizada utilizando o software GraphPad Prisma[®] versão 4.0 (GraphPad Software Inc.), através de modelos de análise de variância (ANOVA) e comparações múltiplas, pelo teste de Tukey, ao nível de significância $P < 0.05$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Atividade Antioxidante dos Extratos

A capacidade em inibir a oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoléico submetido a condições oxidantes do extrato comercial de alecrim (Grindox[®]), alecrim com BHT/BHA e alecrim com orégano são apresentados em porcentagem de proteção antioxidante na **Tab. 2**. O BHT/BHA foi utilizado como parâmetro de comparação. Observou-se que o alecrim possui um elevado potencial antioxidante tanto na concentração de 100ppm (77,67%) quanto na concentração de 200ppm (85,62%), o melhor desempenho apresentado pelo extrato de alecrim foi observado quando utilizado em sinergismo com o BHT/BHA na concentração de 100ppm de cada (89,71%).

Tabela 2: Percentual de proteção contra oxidação em Sistema β -caroteno/ácido linoléico do extrato comercial de Alecrim

Soluções	% de proteção antioxidante*
Controle	00,00
BHT/BHA 100ppm	94,48
BHT/BHA 200ppm	98,13
Alecrim 100ppm	77,67
Alecrim 200ppm	85,62
Alecrim 50ppm + BHT/BHA 50ppm	86,50
Alecrim 100ppm + BHT/BHA 100ppm	89,71
Alecrim 50ppm + Orégano 50ppm	74,66
Alecrim 100ppm + Orégano 100ppm	80,42

*Os dados são resultados de análises realizadas em triplicata.

Na **Fig. 11** é mostrada a cinética de proteção contra oxidação (*atividade antioxidante*) do extrato comercial de alecrim e deste em sinergismo com o BHT/BHA e com o orégano em sistema β -caroteno/ácido linoléico.

Figura 11: Atividade antioxidante do extrato comercial de Alecrim Danisco em Sistema β -caroteno/ácido linoléico.

Os compostos isolados do alecrim têm apresentado efeito antioxidante quando avaliados em emulsão, em sistema óleo vegetal e gordura suína. O extrato comercial de alecrim demonstrou capacidade antioxidante maior que o extrato aquoso de orégano em nossos experimentos. Resultados semelhantes também foram encontrados por Cintra (1999) que comparou a atividade antioxidante do alecrim com outras especiarias, dentre estas o orégano. Embora seus valores de proteção contra a oxidação tenham sido menores que os encontrados neste estudo, o desempenho geral foi semelhante, pois se observa uma certa variação nesses valores, em razão do local de colheita das amostras, condições de plantio, tempo em que se encontra armazenada antes das análises e principalmente a técnica utilizada na extração dos compostos da especiaria.

Os trabalhos com extrato de alecrim em alimentos têm sido realizados com a versão comercial do produto, e não apresentam dados em relação à capacidade antioxidante do extrato (Esteves & Cava, 2006; Ahn *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2005). Alguns trabalhos recentes com alecrim sugerem formas alternativas de extração visando diminuir as perdas dos compostos bioativos presentes nas

especiarias. Mesmo nestas condições de extração quando estes extratos são testados em sistema β -caroteno/ácido linoléico para avaliar o potencial antioxidante apresentam resultados semelhantes (Carvalho-Junior *et al.*, 2005). Neste trabalho, o extrato comercial de alecrim foi submetido aos mesmos testes utilizados para o extrato de orégano, para que fosse possível comparar os resultados. Os resultados do sinergismo apresentados neste trabalho concordam com o trabalho de Basaga *et al.* (1997) que avaliou o sinergismo do alecrim com o BHT na estabilidade oxidativa do óleo de soja.

Na **Tab. 3** é apresentada a capacidade em inibir a oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoléico submetido a condições oxidantes do extrato aquoso do orégano, orégano com BHT/BHA e orégano com alecrim .

Tabela 3: Percentual de proteção contra oxidação em Sistema β -caroteno/ácido linoléico do extrato aquoso de Orégano

Soluções	% de proteção antioxidante*
Controle	0,00
BHT/BHA 100ppm	97,38
BHT/BHA 200ppm	95,58
Orégano 100ppm	60,63
Orégano 200ppm	75,15
Orégano 50ppm + BHT/BHA 50ppm	95,06
Orégano 100ppm + BHT/BHA 100ppm	97,38
Orégano 50ppm + Alecrim 50ppm	61,49
Orégano 100ppm + Alecrim 100ppm	72,83

*Os dados são resultados de análises realizadas em triplicata.

Observa-se que o extrato aquoso do orégano apresenta um potencial inibidor da oxidação reduzido quando comparado ao extrato comercial do alecrim, ou seja, utilizando a concentração de 200ppm a inibição foi de 75,15% e o alecrim, como citado anteriormente foi de 85,62%. Porém a capacidade antioxidante do orégano em sinergismo com o BHT/BHA na concentração de 100ppm de cada extrato foi de 97,38%.

Na **Fig. 12** é mostrada a cinética de proteção contra oxidação (*atividade antioxidante*) do extrato aquoso de orégano e deste em sinergismo com o BHT/BHA e com o extrato comercial de Alecrim em sistema β -caroteno/ácido linoléico.

Figura 12: Atividade antioxidante do extrato aquoso de Orégano em Sistema β -caroteno/ácido linoléico.

O extrato aquoso do orégano apresentou proteção antioxidante menor do que o extrato comercial do alecrim e ambos apresentaram capacidade antioxidante menor que o antioxidante sintético BHT/BHA, porém por se tratar de extratos naturais, obtiveram um ótimo comportamento no sistema testado. Almeida-Doria & Regitano-D'arce (2000) fizeram um trabalho semelhante onde testaram no sistema β -caroteno/ácido linoléico o extrato alcoólico do alecrim e do orégano comparando com o BHT/BHA e observou que o BHT/BHA apresentou a maior proteção, porém entre os naturais, o alecrim foi melhor que o orégano, porém em seu trabalho utilizaram 500ppm para o alecrim e 1000ppm para o orégano, provavelmente o autor decidiu por utilizar uma concentração maior dos extratos pelo fato que o extrato alcoólico geralmente apresenta menor quantidade de fenólicos, conforme relata Cintra (1999).

Atualmente, diversos estudos têm dado ênfase à forma de extração dos compostos bioativos destas especiarias para que haja melhor otimização no seu uso, dentre estas formas, está a extração subcrítica aquosa (Rodríguez-Meizoso *et al.*, 2006), extração supercrítica com CO_2 e por fluido supercrítico (Carvalho Jr *et al.*,

2005; Caveró *et al.*, 2006). Um dos sistemas mais utilizados para avaliar a capacidade antioxidante e sua potencial utilização em alimento e produtos industrializados de modo a oferecer proteção contra a oxidação lipídica é o sistema β -caroteno/ácidos linoléico (Caveró *et al.*, 2006). Este é um método simples, sensível, mas não específico (substâncias oxidantes e redutoras interferem no ensaio). Como a co-oxidação do β -caroteno é normalmente efetuado num meio emulsionado, isso pode gerar falta de reprodutibilidade dos valores de absorbância medidos (Silva *et al.*, 1999).

Neste trabalho, o objetivo de se realizar o teste da atividade antioxidante das especiarias foi tê-la como parâmetro de análise e orientação da concentração do extrato que seria adicionada nas amostras. Com base nestes resultados foi decidido que seria utilizada a dose 200 ppm de BHT/BHA e 400 ppm de extrato de alecrim e de orégano, visto que o limite para o emprego de aditivos naturais em alimentos é aquele no qual se atinja o objetivo proposto mas não comprometa a qualidade nutricional e/ou sensorial do alimento.

Diversos trabalhos anteriores têm comprovado o potencial antioxidante das especiarias, inclusive com o uso em diversas matrizes alimentares, tais como salsicha suína (Sebranek *et al.*, 2005), músculo bovino (Formanek *et al.*, 2001), carne bovina (Georgantelis *et al.*, 2007), carne bovina cozida (Ahn *et al.*, 2007), hambúrgueres suínos (Lee *et al.*, 2005), patê de fígado (Estéves *et al.*, 2007).

5.2. Composição de fenólicos totais dos extratos

Para determinar a concentração de fenólicos totais das especiarias empregadas foi utilizado o método de Folin-Ciocalteu. Este método tem sido empregado em diversos estudos, com algumas adaptações necessárias para cada tipo de amostra (Cintra, 1999; Rodriguez-Meizoso *et al.*, 2006; Celiktas *et al.*, 2006).

A **Tab. 4** apresenta a concentração de fenólicos totais dos extratos das especiarias, sendo 38,9 mg/g de amostra de orégano e 38,83 mg/ml do extrato alecrim. O extrato do alecrim utilizado neste ensaio foi um extrato comercial e os cálculos foram realizados por ml do extrato, e não por grama de amostra, como no

caso do orégano. O valor apresentado pelo extrato de alecrim foi confirmado pela descrição na embalagem da empresa que forneceu o extrato.

Tabela 4: Concentração de fenólicos totais nos extratos das especiarias

Amostras	Fenólicos Totais
Orégano (Extrato Aquoso)	38,9 ± 0,9 mg/g de amostra
Alecrim (Extrato Comercial*)	38,83 ± 0,32 mg/mL do extrato (4% de fenólicos dipertenos)

* GuardianTM Rosemary Extract 09 - Danisco S/A – Veículado em propilenoglicol.

Todas as análises foram realizadas em triplicata

Para os compostos fenólicos totais, a relação entre a absorbância e a concentração foi obtida por meio de uma curva padrão confeccionada com concentrações de 5 a 80 µg de catequina, o padrão utilizado para essas análises.

A quantidade de fenólicos totais das especiarias têm sido determinados em diversos trabalhos, a identificação dos fenólicos não foi o objetivo deste trabalho, porém de acordo com a literatura a capacidade antioxidante do alecrim tem sido atribuída principalmente à presença do carnosol e do ácido carnósico. No estudo de Cintra (1999) os valores de fenólicos totais encontrados no extrato aquoso do orégano foram menores do que os relatados neste trabalho, ou seja, 28,2 mg/ml, enquanto o alecrim apresentou 31,6 mg/ml do extrato aquoso. Estes resultados foram similares aos encontrados por Rodriguez-Meizoso *et al.* (2006) após extração subcrítica aquosa em diversas temperaturas. Porém seus resultados foram superiores devido à forma de extração utilizada e a temperatura empregada que variou de 25 a 200 °C.

5.3. Índice de oxidação lipídica

Nas **Fig. 13, 14 e 15** são mostrados histogramas com os níveis de oxidação das amostras irradiadas com as doses de 0kGy, 6kGy, 7kGy e 8kGy com os tempos de 0, 45 e 90 dias de estocagem expressos em mg das SRATB/kg de amostra, onde se pode observar tanto o efeito da irradiação como o da estocagem como indutores da oxidação lipídica.

No comportamento oxidativo das amostras no tempo 0 de estocagem pode-se notar que apesar das amostras apresentarem formulações diferentes, todas as amostras mostraram resistência à oxidação semelhantes antes de serem irradiadas, com exceção da amostra controle sem antioxidante (**Fig. 13 – 0kGy**).

Não houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre as formulações com BHT/BHA, alecrim, alecrim+orégano e BHT/BHA+alecrim. A amostra formulada com orégano não apresentou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) somente das amostras formuladas com BHT/BHA+orégano, pois mostraram um percentual de proteção lipídica menor. De fato, as amostras formuladas com orégano e com BHT/BHA+orégano apresentaram os maiores valores das SRATB.

O efeito da irradiação sobre a oxidação lipídica já está bem elucidado. Assim sendo, não foi objetivo deste trabalho comparar amostras irradiadas com não irradiadas sobre o nível de oxidação, porém avaliar a efeito protetor dos antioxidantes utilizados nas formulações, inclusive durante a estocagem sob congelamento, e comparar as doses de irradiação utilizadas.

As amostras ao serem irradiadas apresentaram diferentes comportamentos, visto que a irradiação é um fator de aceleração do processo oxidativo. A irradiação por si só, aumentou a taxa de oxidação lipídica na amostra formulada com o extrato aquoso do orégano e a aumentou intensamente na amostra controle sem a adição de antioxidantes, conforme é observado na **Fig. 13** (6, 7 e 8kGy). Quando as amostras foram irradiadas com 8kGy as amostras formuladas com BHT/BHA, alecrim e alecrim+orégano não apresentam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). As amostras formuladas com orégano e com BHT/BHA+orégano foram significativamente diferentes ($p < 0,05$) de todas as demais. Ainda que a amostra formulada com extrato aquoso de orégano tenha se mostrado mais sensível à oxidação lipídica, esta oxidação foi menor que a amostra controle mostrando que apesar de ser mais sensível aos efeitos da irradiação, o extrato aquoso de orégano ainda apresentou capacidade antioxidante razoável.

Entre as amostras formuladas com BHT/BHA irradiadas, houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) somente entre as doses de 7kGy e 8kGy. Porém esta diferença deve ser considerada como uma variância da técnica utilizada, visto que esta diferença não foi percebida na amostra não irradiada quando comparada com a irradiada com 8kGy. As amostras formuladas com alecrim, orégano, BHT/BHA+orégano e sem antioxidantes apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) nas três doses de irradiação empregadas. Na amostra formulada com alecrim+orégano só houve diferença estatisticamente

significativa ($p < 0,05$) entre as doses de 7kGy e 8kGy, e na amostra formulada com BHT/BHA+alecrim só houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre as doses de 6kGy e 8kGy.

Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% ($p < 0,05$).

Letras maiúsculas indicam comparações entre as diferentes amostras com uma mesma dose de irradiação.

Letras minúsculas indicam comparações entre as mesmas amostras com diferentes doses de irradiação (6kGy; 7kGy e 8kGy).

Figura 13: Taxa de oxidação expressa em mg de SRATB/kg de amostra com cobalto-60 no tempo 0 de estocagem.

Nas **Fig. 14 e 15** são mostrados os índices de oxidação lipídica que as amostras apresentaram quando estocadas após 45 e 90 dias. Ao analisarmos os três tempos de estocagem juntos, pode-se verificar que o tempo de estocagem não desempenhou uma função muito crítica quando a oxidação foi analisada pelo método das SRATB. Foi observado que em algumas amostras ocorreu uma redução nos valores das SRATB após 90 dias de estocagem, fato que demonstra que estes produtos da oxidação são produtos pouco estáveis ao analisarmos tempos longos de estocagem. Sabendo que a oxidação é um processo irreversível, a redução da quantidade destes produtos de oxidação pode ser atribuída à degradação destes produtos em outros subprodutos, tais como, álcoois e ácidos orgânicos, ou até mesmo a interação com as proteínas do alimento (Silva *et al.*, 1999; Osawa *et al.*, 2005; Guillén-Sans & Guzmán-Chozas, 1998).

Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% ($p < 0,05$).

Letras maiúsculas indicam comparações entre as diferentes amostras com uma mesma dose de irradiação.

Letras minúsculas indicam comparações entre as mesmas amostras com diferentes doses de irradiação (6kGy; 7kGy e 8kGy).

Figura 14: Taxa de oxidação expressa em mg de SRATB/kg de amostra irradiadas com cobalto-60 no tempo 45 dias de estocagem.

Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% ($p < 0,05$).

Letras maiúsculas indicam comparações entre as diferentes amostras com uma mesma dose de irradiação.

Letras minúsculas indicam comparações entre as mesmas amostras com diferentes doses de irradiação (6kGy; 7kGy e 8kGy).

Figura 15: Taxa de oxidação expressa em mg de SRATB/kg de amostra irradiadas com cobalto-60 no tempo 90 dias de estocagem.

Entre as amostras que foram submetidas à irradiação houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as doses empregadas (6, 7 e 8kGy) em quase todas as formulações. De modo geral, as diferenças que foram notadas neste trabalho mostraram que doses de irradiação com diferenças de até 1kGy já são capazes de produzir efeitos nos níveis de oxidação, ou seja, os valores das SRATB aumentaram significativamente com a dose de radiação empregada e esta diferença fica mais evidente quando se trabalha com uma variação maior das doses, ou seja, acima de 1kGy. As maiores diferenças foram notadas nas amostras formuladas com alecrim e com o orégano. Nas amostras formuladas com BHT/BHA ou com o alecrim esta diferença foi mais evidente entre as doses de 6kGy e 8kGy, confirmando que quanto maior for a incerteza e a variação na dose de irradiação empregada, maiores serão os índices de oxidação, e neste caso a dosimetria exerce um papel fundamental para garantir a estabilidade oxidativa. Quando um alimento é irradiado em um irradiador industrial, onde pode ocorrer uma variação na dose empregada, em razão da geometria e posicionamento do material dentro do irradiador, essa variação pode ser significativa do ponto de vista da oxidação lipídica, e esta condição deve ser monitorada.

Nas **Fig. 16 e 17** são mostrados os índices de oxidação lipídica que as amostras irradiadas em aceleradores de elétrons apresentaram quando estocadas após 45 e 90 dias.

Pode-se observar que as amostras quando são irradiadas com aceleradores de elétrons apresentam uma maior estabilidade contra a oxidação (**Fig. 16**). Com 45 dias de estocagem os valores das SRATB foram bastante lineares com dose de 3,5kGy de acordo com o potencial dos antioxidantes utilizados. Quando irradiadas com 7kGy, o comportamento é semelhante à irradiação com fonte ^{60}Co . Na irradiação com acelerador de elétrons, o extrato aquoso de orégano foi também bastante sensível, porém o efeito da estocagem foi mais proeminente quando alcançado um maior tempo de estocagem, ou seja, 90 dias (**Fig. 17**). Com este período de estocagem, a oxidação lipídica na amostra formulada com orégano irradiada com 7kGy foi maior que a amostra controle sem antioxidantes, mostrando um provável efeito pró-oxidante.

Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% ($p < 0,05$).
 Letras maiúsculas indicam comparações entre as diferentes amostras com uma mesma dose de irradiação.
 Letras minúsculas indicam comparações entre as mesmas amostras com diferentes doses de irradiação (3,5kGy e 7kGy).

Figura 16: Taxa de oxidação expressa em mg das SRATB/kg de amostra irradiados com Acelerador de elétrons no tempo 45 dias de estocagem.

Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% ($p < 0,05$).
 Letras maiúsculas indicam comparações entre as diferentes amostras com uma mesma dose de irradiação.
 Letras minúsculas indicam comparações entre as mesmas amostras com diferentes doses de irradiação (3,5kGy e 7kGy).

Figura 17: Taxa de oxidação expressa em mg das SRATB/kg de amostra irradiados com Acelerador de elétrons no tempo 90 dias de estocagem.

Após 45 dias de estocagem, todas as amostras irradiadas com 3,5kGy, apresentaram diferenças estatisticamente significativa ($p<0,05$), à exceção das amostras formuladas com alecrim e com orégano que foram estatisticamente similares nos valores das SRATB. Nas amostras irradiadas com 90 dias, a amostra formulada com alecrim foi estatisticamente similar ($p<0,05$) a amostra formulada com BHT/BHA+orégano, e a amostra formulada com BHT/BHA+alecrim foram estatisticamente semelhantes ($p<0,05$) a amostra formulada com BHT/BHA+orégano. Quando comparamos as duas doses de irradiação empregadas, à exceção da amostra formulada com BHT/BHA+orégano, todas as demais apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p<0,05$).

Após 90 dias de armazenamento (**Fig. 17**), todas as amostras apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p<0,05$) nos valores das SRATB, à exceção das amostras que continham BHT/BHA, mesmo quando utilizado em sinergismo tal como o BHT/BHA+alecrim e BHT/BHA+orégano. Este comportamento foi notado nas duas doses de irradiação empregadas. Isso demonstra que o BHT/BHA foi o antioxidante mais estável durante o armazenamento das amostras. Semelhante aos 45 dias de estocagem, todas as amostras foram estatisticamente diferentes ($p<0,05$) entre as duas doses empregadas, à exceção da amostra formulada com BHT/BHA+orégano.

Nas **Fig. 18 a 21** são mostradas curvas de estabilidade oxidativa em função do tempo da estocagem das amostras irradiadas com fonte ^{60}Co , onde foi notado com maior clareza que apesar das substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico serem importantes marcadores da oxidação, em alguns casos pode ocorrer uma redução em seus valores conforme aumenta o tempo de estocagem, fato que possivelmente é decorrente de alguns fatores vistos a seguir. Pode-se notar ainda que todos os antioxidantes testados, com exceção do orégano, apresentaram comportamento similar de proteção antioxidante.

A redução dos valores das SRATB devido a estocagem prolongada já havia sido relatada anteriormente. Kesava-Rao *et al.* (1996) observou uma redução nos valores das SRATB em carne de búfalo crua, entre 30 e 60 dias de estocagem sob congelamento, e esta redução foi atribuída às interações com as proteínas presentes no alimento.

O teste das substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico tem sido amplamente utilizado como parâmetro para medir a oxidação lipídica não somente em alimentos, mas também em sistemas biológicos. Entretanto, o teste de TBARS como é comumente conhecido, tem algumas limitações em razão de alguns fatores que devem ser considerados: os componentes presentes nos lipídios que geram cor no teste de TBA variam de acordo com as amostras e a formação do malonaldeído, produto que primariamente reage em maior quantidade com o TBA, e que depende do grau de insaturação dos ácidos graxos polinsaturados, ou seja, amostras muito insaturadas desenvolvem mais cor que as pouco insaturadas; o teste não é específico para o malonaldeído, e outras substâncias podem reagir com o TBA e contribuir no valor da absorbância. Além disso, o malonaldeído pode se ligar às proteínas da carne, formando compostos estáveis e também com o glicogênio muscular atuando como interferentes no teste. Outro composto importante na carne bovina é o ferro que aumenta a formação do malonaldeído por catalisar a oxidação lipídica (Osawa *et al.*, 2005).

Nas amostras não irradiadas (**Fig. 18**) é notado que durante a estocagem os valores da SRATB diminuíram, com exceção do orégano, que apresentou um comportamento distinto, demonstrou uma menor estabilidade oxidativa e elevou os valores encontrados com 45 dias de estocagem e continuou aumentando com 90 dias de estocagem.

Os efeitos da oxidação parecem ser minimizados pelas temperaturas de congelamento. Ahn *et al.* (2000) comparou os valores de SRATB durante a estocagem de hambúrguer suíno refrigerado e congelado, e observou que em todas as amostras os valores das SRATB aumentaram ao final de duas semanas a 4°C. Entretanto, quando estas amostras foram estocadas por três meses a -40°C os valores da SRATB foram reduzidos. Resultados semelhantes foram encontrados por Kesava-Rao *et al.* (1996) que relatou valores das SRATB maiores em carne de búfalo cozida quando estas amostras foram mantidas sob refrigeração do que as que foram mantidas em congelamento. A maior mobilidade dos radicais livres, produzidos pela irradiação ou pela autooxidação, na matriz do alimento resfriado é um fator desencadeante do processo oxidativo (Moura, 2004).

Figura 18: Curva de estabilidade da oxidação lipídica expressa em mg das SRATB/kg de amostra. Amostras controle não-irradiadas (0kGy).

Figura 19: Curva de estabilidade da oxidação lipídica expressa em mg das SRATB/kg de amostra. Amostras irradiadas com ^{60}Co (8kGy).

As amostras irradiadas com fonte ^{60}Co utilizando as doses 8, 7 e 6kGy (Fig. 19, 20 e 21) apresentaram valores das SRATB bastante lineares com a dose empregada para a amostra sem antioxidante e formulada com orégano. As demais formulações tiveram um comportamento oxidativo similar entre si, ou seja, mantiveram os valores de SRATB muito próximos entre si.

Analisando o tempo de estocagem, as formulações não apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) após 45 e 90 dias, à exceção da amostra formulada com orégano, a qual com a dose de 6kGy, manteve os valores das SRATB nos primeiros 45 dias de estocagem, e após este período continuou aumentando. Também se observa uma redução nos valores das SRATB em algumas amostras após 45 dias de estocagem, mas essa redução não foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$), e a razão desta ocorrência já foi comentada anteriormente.

Figura 20: Curva de estabilidade da oxidação lipídica expressa em mg das SRATB/kg de amostra. Amostras irradiadas com ^{60}Co (7kGy).

Figura 21: Curva de estabilidade da oxidação lipídica expressa em mg das SRATB/kg de amostra. Amostras irradiadas com ^{60}Co (6kGy).

É notado também que as amostras formuladas com extrato aquoso de orégano e sem antioxidante no dia 0 já apresentaram de início valores das SRATB maior do que as demais amostras, este fato mostra que o orégano impede moderadamente a formação dos radicais livres numa forma de ação imediata, mas não consegue neutralizar todos os radicais e portanto não impede a sua ação sobre os ácidos graxos insaturados, na fase de propagação da cadeia da autooxidação.

Nas amostras irradiadas com acelerador de elétrons (**Fig. 22 e 23**), as doses empregadas foram bem diferentes entre si, ou seja, 3,5 e 7kGy, nestas amostras a diferença entre as taxas de oxidação são significativas ($p < 0,05$) quando comparadas com o controle sem antioxidante e com o antioxidante sintético comercialmente utilizado (BHT/BHA). É interessante notar que as amostras formuladas com BHT/BHA e Orégano em sinergismo não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores das SRATB das amostras irradiadas com 3,5kGy e 7kGy, nem no tempo 45 dias nem no tempo 90 dias mantendo os mesmos valores das SRATB em ambos períodos de análise. As amostras formuladas com BHT/BHA e um outro tipo de antioxidante natural sendo orégano ou alecrim em sinergismo, apresentaram diferenças pequenas nas taxas de oxidação quando irradiadas com

3.5 e 7kGy, seja no tempo 45 dias ou 90 dias. Este mesmo comportamento não foi observado quando as amostras foram formuladas com um único tipo de antioxidante, nem mesmo o BHT/BHA. Nestes casos os valores de SRATB diferiram amplamente quando duas doses de irradiação foram comparadas (3.5 e 7kGy).

Figura 22: Curva de estabilidade da oxidação lipídica expressa em mg das SRATB/kg de amostra. Amostras irradiadas em aceleradores de elétrons (3,5kGy).

Figura 23: Curva de estabilidade da oxidação lipídica expressa em mg das SRATB/kg de amostra. Amostras irradiadas em aceleradores de elétrons (7kGy).

Estes resultados estão em concordância com outros trabalhos que analisaram o tempo de estocagem, efeitos da irradiação, e adição de antioxidantes naturais para prevenir a oxidação lipídica. No trabalho de Moura (2004), foram analisados os efeitos da irradiação ionizante sobre a formação de óxidos de colesterol em hambúrgueres, neste trabalho foi avaliado o índice de oxidação lipídica destas amostras irradiadas com diferentes doses, os resultados mostraram que a oxidação apresentou uma proporcionalidade de acordo com a dose de radiação empregada, embora neste estudo os hambúrgueres não tenham sido formulados com antioxidantes. Os valores das SRATB encontrados por Moura nas amostras irradiadas com 3kGy foi de 2,31 mgMDA/kg de amostra e as amostras irradiadas com 7kGy foi de 5,18 mgMDA/kg de amostra. Estes valores são semelhantes aos valores encontrados nas amostras controles sem antioxidantes utilizadas neste trabalho.

No trabalho de Kanatt *et al.* (2006) é relatado que os valores das SRATB são diretamente proporcionais à dose de irradiação empregada, o autor estudou os efeitos da irradiação em costela e coxa de carneiro, e observou que o emprego da

radiação ionizante em fonte ^{60}Co com doses de 2,5kGy e 5kGy aumentou em 34% e 89% os valores das SRATB. No presente estudo observou-se um aumento em torno de 30 – 40% nos valores de SRATB para as amostras irradiadas com ^{60}Co na dose de 7kGy comparada com as amostras não-irradiadas.

No trabalho de Lee *et al.* (2005) foram analisadas as mudanças nos valores das SRATB em amostras de hambúrgueres irradiados e formulados com BHA e extrato de alecrim. Embora ele tenha trabalhado com um sistema de estocagem acelerada a 30 °C, durante o período de 21 dias. Foi observado que o BHA apresentou o melhor potencial antioxidante, mas o extrato de alecrim também desempenhou elevado potencial antioxidante, mesmo em amostras irradiadas com 20kGy, que é uma dose extremamente alta para uso em carnes. No trabalho foi observado que ocorreu também uma redução nos valores das SRATB em todos os períodos e formulações. O reduzido potencial antioxidante do alecrim foi atribuído aos demais ingredientes que foram colocados ao se formular as amostras, inclusive na amostra controle, o que não permitiu que se observasse uma significativa diferença entre a formulação controle e a formulação com o extrato de alecrim. Em nosso estudo não encontramos tal interferente, pois as amostras foram formuladas contendo como ingrediente somente o sal.

O trabalho realizado por Ahn *et al.* (2007) verificou os efeitos dos extratos de plantas tais como o alecrim sobre a oxidação lipídica da carne bovina cozida estocada em refrigeração pelo período de 9 dias. No trabalho foi utilizada uma quantidade de 1% de extrato, enquanto o BHT/BHA foi utilizado a dose permitida para aditivos 0.02%, novamente o alecrim obteve um desempenho menor que o antioxidante sintético (BHT/BHA), porém nas condições em que o experimento foi realizado, com cozimento prévio, o alecrim desempenhou elevado potencial antioxidante, principalmente quando comparado com a amostra controle sem a adição de nenhum antioxidante.

Alguns estudos têm sugerido que a irradiação pode diminuir a capacidade antioxidante de alguns tipos de especiarias (Suhaj *et al.*, 2006; Sajilata & Singhal, 2006). Por se tratar de um extrato aquoso, a presença da água e de seus respectivos produtos radiolíticos após a irradiação, poderiam ter ajudado a diminuir a capacidade antioxidante do extrato de orégano. A extração dos compostos fenólicos

do orégano e sua adsorção em compostos carreadores, tais como óleos vegetais, propileno-glicol, e até mesmo proteínas como as fibras de colágeno podem ajudar a manter a atividade antioxidante por maior tempo na matriz do alimento, e uma distribuição mais homogênea nas amostras (Waszkowiak & Dolata, 2007). Além disso poderiam conferir uma maior proteção destes compostos frente à processo de preservação como a irradiação. O extrato comercial do alecrim utilizado neste trabalho veio veiculado em propilenoglicol que pode ter conferido uma maior proteção deste extrato frente à radiação, da mesma forma o BHT/BHA veio veiculado em óleo vegetal.

Poucos estudos relatam a aplicação direta do extrato de orégano em alimentos com o sentido de inibir a oxidação lipídica, principalmente em carnes bovina, de frango ou suína, porém alguns trabalhos sugerem a aplicação do orégano como antimicrobiano (Goulas & Kontominas, 2007; Shekarforoush *et al.*, *no prelo*; Lin *et al.*, 2005). Além disso, novas formas de extrair as propriedades desta especiaria têm sido estudadas, visto que a extração seqüencial utilizada até o momento mostra-se pouco resistente aos diversos processos aos quais é submetido o alimento para garantir a segurança microbiológica aos consumidores. Uma outra forma de aplicação que tem sido empregada é a suplementação com o óleo essencial do orégano na alimentação de animais tais como perus, porcos e frangos para que ocorra uma maior proteção antioxidante após abate (Janz *et al.*, 2007; Botsoglou *et al.*, 2002; Botsoglou *et al.*, 2003a; 2003b). Outros trabalhos avaliam a atividade antioxidante do orégano em sistemas *in vitro* (Puertas-Mejia *et al.*, 2002; Cervato *et al.*, 2000; Bendini *et al.*, 2002), porém estes trabalhos limitam-se a testes *in vitro* e seu emprego direto numa matriz de alimentos complexa não tem sido relatada.

Tem sido encontrado na literatura um limiar de valores das SRATB e o início do desenvolvimento de forte *off-flavour* que é de 2 mgSRATB/Kg de amostra (Greene & Cumuze, 1981; Campo *et al.*, 2006). Observou-se no trabalho que durante todo o período de análise, ou seja, 90 dias, as amostras conseguiram manter níveis bem abaixo deste valor das SRATB, à exceção da amostra formulada com orégano que manteve os valores das SRATB abaixo de 2 até o tempo de 45 dias nas amostras irradiadas com ^{60}Co em todas as doses empregadas e com

acelerador de elétrons na dose de 7kGy, na dose de 3,5kGy os níveis foram mantidos baixos mesmo após 90 dias de estocagem.

5.4. Composição de ácidos graxos totais e *trans*

A composição de ácidos graxos na carne está diretamente relacionada com a sua qualidade sensorial (Scollan *et al.*, 2006) e nutricional (Valsta *et al.*, 2005). A composição de ácidos graxos varia amplamente dependendo da espécie animal da qual a carne se origina e também da região e do tipo de ração e suplementação que esses animais recebem como alimento (Aro *et al.*, 1998). Na carne bovina o total de ácidos graxos saturados pode variar de 40 a 50 % dos ácidos graxos totais (Wood *et al.*, 2003). A gordura adicionada às amostras deste estudo (20% da massa total) teve uma concentração de saturados de 43,2%, o que significa que em um hambúrguer de 50 g, o consumidor ingere cerca de 4,3 g de gordura saturada. Quantidades elevadas de ácidos graxos saturados na dieta estão diretamente relacionadas aos riscos coronarianos (Lichtenstein *et al.*, 2006). Desta forma, não somente o aumento de ácidos graxos *trans* pode vir a ter um efeito prejudicial à saúde, mas também mudanças expressivas na concentração e no perfil dos ácidos graxos também podem trazer riscos à saúde do indivíduo. Todo processo pelo qual um alimento industrializado seja submetido deve garantir que não haja alteração significativa nas propriedades químicas do alimento, e se caso isto ocorra, deverão ser providenciados meios para que esse processo seja minimizado.

A **Tab. 5** apresenta o perfil lipídico da gordura bovina que é adicionada às formulações de hambúrgueres, a qual neste estudo serviu de parâmetro para comparação e amostra controle da estocagem.

Deve-se ter em mente que estes valores correspondem a uma amostra de gordura pura, e tendem a se apresentar aumentados quando esta gordura é adicionada a uma mistura, como no caso dos hambúrgueres, onde a presença de músculo bovino que também possui em sua composição muitos lipídios presos às membranas celulares e também muitas moléculas de ácidos graxos livres que podem fazer com que os valores dos ácidos graxos presentes na mistura final apresentem-se bem maiores. Wood *et al.* (2003) estudou a composição de ácidos

graxos presentes em amostras de músculo bovino e gordura bovina pura e observou que a presença do ácido palmítico (16:0) foi de 25% e 26%, o ácido esteárico (18:0) foi de 13% e 12%, o ácido oléico (18:1) foi de 36% e 35%, o ácido linoléico (18:2) foi de 2,4% e 1,1%, o ácido α -linolênico (18:3) foi de 0,7% e 0,5% do total de ácidos graxos em amostras de músculo bovino e gordura bovina pura, respectivamente.

Pode-se observar que dentre os ácidos graxos saturados desta amostra os que se apresentam em maiores quantidades são os ácidos palmíticos (16:0) e esteáricos (18:0). Entre os ácidos graxos insaturados os de maior quantidade é o ácido oléico (18:1) e o ácido palmitoléico (16:1) fato que torna os ácidos graxos monoinsaturados quase a metade dos ácidos graxos totais. A quantidade de polinsaturados presentes nas amostras é pequena, e ainda assim é representada em sua maior parte pelos ácidos graxos *trans*. Dentre os ácidos graxos *trans*, o ácido elaídico (18:1*t*) e o ácido linolelaídico (18:2*t*), são os de maior relevância para a carne bovina.

Tabela 5: Perfil dos ácidos graxos da gordura bovina usada na formulação das amostras expresso em g/20g* de amostra.

Ácido Graxo	g/100 g amostra
14:0 – Mirístico	0,37 $\pm$ 0,01
15:0 - Pentadecanóico	0,13 $\pm$ 0,01
16:0 – Palmítico	3,84 $\pm$ 0,19
17:0 – Margárico	0,31 $\pm$ 0,03
18:0 – Esteárico	3,99 $\pm$ 0,37
14:1 – Miristoléico	0,10 $\pm$ 0,01
16:1 – Palmitoléico	0,61 $\pm$ 0,05
17:1 – Heptadecenóico	0,21 $\pm$ 0,01
18:1 – Oléico	8,58 $\pm$ 0,50
18:2 – Linoléico	0,16 $\pm$ 0,00
18:3 – α -linolênico	0,06 $\pm$ 0,00
20:4 – Araquidônico	nd
22:5 - Docosapentaenóico	nd
18:1<i>t</i>	0,58 $\pm$ 0,02
18:2<i>t</i>	0,13 $\pm$ 0,04
Saturados	8,64 $\pm$ 0,60
Monoinsaturados	9,50 $\pm$ 0,58
Polinsaturados	0,22 $\pm$ 0,00
Trans	0,70 $\pm$ 0,02

(*) = médias, $\pm$ desvio-padrão, (n=3), nd=não detectado.

Nesta amostra de gordura não foi detectada a presença dos ácidos graxos polinsaturados C20-C22, tais como o ácido araquidônico (20:4) e docosapentaenóico (22:5), estando desta forma de acordo com a literatura que atribui a presença destes PUFA's mais propriamente ao músculo bovino (Wood *et al.*, 2003)

Nas **Tab. 6 a 19** são apresentadas as composições de ácidos graxos totais de todas as formulações estudadas no presente trabalho, foi dada ênfase na quantidade dos principais ácidos graxos encontrados em carnes bovinas (Giroux, 1998), ou seja, ácido palmítico (16:0) e esteárico (18:0), ácido oléico (18:1) e palmitoléico (16:1), ácido linoléico (18:2), α -linolênico (18:3) e araquidônico (20:4), representando saturados, mono e polinsaturados respectivamente, além das frações *trans*. Pode-se observar que a média de ácidos graxos *trans* presente na gordura bovina é de 0,70 g/100g, ou seja, 0,7%.

Em todas as tabelas também foi comparada a quantidade de ácidos graxos *trans* totais e o perfil geral destes ácidos graxos expressos como total de saturados, mono e polinsaturados nas amostras não irradiadas e irradiadas nas diferentes doses (3,5 e 7kGy para aceleradores de elétrons e 6, 7 e 8kGy para fonte ^{60}Co).

Na análise estatística foram comparadas as diferentes doses de radiação empregadas num mesmo tempo de estocagem, e também foram comparadas doses iguais de irradiação em diferentes tempos de estocagem.

Tabela 6: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado com BHT/BHA irradiado com fonte ^{60}Co expresso em g/100g* de amostra.

Ácido Graxo	45 Dias				90 Dias			
	OkGy	6kGy	7kGy	8kGy	OkGy	6kGy	7kGy	8kGy
14:0 – Mirístico	0,82±0,07	0,88±0,02	0,81±0,11	0,90±0,03	0,89±0,03	0,83±0,04	0,85±0,04	0,74±0,02
15:0 - Pentadecanóico	0,14±0,01	0,15±0,00	0,14±0,01	0,15±0,00	0,16±0,01	0,14±0,01	0,14±0,01	0,13±0,01
16:0 – Palmítico	4,84±0,05 ^{Aa}	4,88±0,09 ^{Aa}	4,79±0,10 ^{Aa}	4,80±0,07 ^{Aa}	5,01±0,08 ^{Aa}	4,93±0,10 ^{Aa}	4,85±0,01 ^{Aa}	4,82±0,02 ^{Aa}
17:0 – Margárico	0,27±0,01	0,26±0,01	0,25±0,01	0,24±0,01	0,24±0,00	0,26±0,01	0,24±0,00	0,25±0,00
18:0 – Esteárico	4,00±0,27 ^{Aa}	3,94±0,15 ^{Aa}	3,99±0,23 ^{Aa}	3,62±0,08 ^{Aa}	3,92±0,11 ^{Aa}	3,88±0,21 ^{Aa}	3,82±0,10 ^{Aa}	4,14±0,11 ^{Ab}
14:1 – Miristoléico	0,20±0,02	0,22±0,02	0,21±0,02	0,26±0,02	0,23±0,01	0,21±0,03	0,22±0,02	0,16±0,02
16:1 – Palmitoléico	0,49±0,04 ^{ACa}	0,48±0,03 ^{Aa}	0,49±0,05 ^{ACa}	0,59±0,04 ^{BCa}	0,47±0,02 ^{Aa}	0,47±0,04 ^{Aa}	0,49±0,03 ^{Aa}	0,42±0,03 ^{Ab}
17:1 – Heptadecenóico	0,14±0,01	0,14±0,01	0,14±0,01	0,16±0,01	0,14±0,00	0,14±0,00	0,14±0,00	0,13±0,00
18:1 – Oléico	6,52±0,18 ^{Aa}	6,51±0,11 ^{Aa}	6,76±0,15 ^{Aa}	6,83±0,14 ^{Aa}	6,60±0,15 ^{Aa}	6,84±0,13 ^{Aa}	6,89±0,08 ^{Aa}	6,87±0,10 ^{Aa}
18:2 – Linoléico	0,70±0,26 ^{Aa}	0,71±0,12 ^{Aa}	0,53±0,01 ^{Aa}	0,51±0,03 ^{Aa}	0,49±0,02 ^{Aa}	0,45±0,03 ^{Aa}	0,49±0,04 ^{Aa}	0,48±0,03 ^{Aa}
18:3 – α -linolênico	0,11±0,02 ^{ABa}	0,13±0,01 ^{Aa}	0,10±0,01 ^{Ba}	0,12±0,00 ^{ABa}	0,10±0,00 ^{Aa}	0,09±0,00 ^{Ab}	0,10±0,01 ^{Aa}	0,09±0,00 ^{Ab}
20:4 – Araquidônico	0,07±0,01 ^{Aa}	0,06±0,01 ^{Aa}	0,07±0,00 ^{Aa}	0,07±0,00 ^{Aa}	0,07±0,00 ^{Aa}	0,05±0,01 ^{Aa}	0,06±0,01 ^{Aa}	0,06±0,01 ^{Aa}
22:5 - Docosapentaenóico	0,05±0,02	0,03±0,00	0,04±0,00	0,04±0,01	0,04±0,00	0,03±0,00	0,03±0,00	0,03±0,00
18:1t	0,71±0,02	0,60±0,02	0,60±0,01	0,68±0,01	0,56±0,01	0,62±0,03	0,64±0,04	0,64±0,05
18:2t	0,00±0,00	0,06±0,00	0,13±0,02	0,09±0,02	0,13±0,01	0,12±0,01	0,11±0,01	0,09±0,02
Saturados	10,07±0,31 ^{Aa}	10,11±0,23 ^{Aa}	9,98±0,18 ^{Aa}	9,71±0,14 ^{Aa}	10,22±0,19 ^{Aa}	10,04±0,13 ^{Aa}	9,91±0,07 ^{Aa}	10,07±0,07 ^{Aa}
Monoinsaturados	7,35±0,25 ^{Aa}	7,35±0,14 ^{Aa}	7,60±0,16 ^{ABa}	7,85±0,20 ^{Ba}	7,44±0,17 ^{Aa}	7,67±0,20 ^{Aa}	7,73±0,11 ^{Aa}	7,59±0,10 ^{Aa}
Polinsaturados	0,93±0,26 ^{Aa}	0,94±0,14 ^{Aa}	0,75±0,01 ^{Aa}	0,74±0,04 ^{Aa}	0,70±0,03 ^{Aa}	0,62±0,04 ^{Ab}	0,67±0,06 ^{Aa}	0,65±0,04 ^{Aa}
Trans	0,71±0,02 ^{ACa}	0,67±0,02 ^{Aa}	0,73±0,03 ^{ACa}	0,77±0,03 ^{Aa}	0,69±0,03 ^{Aa}	0,74±0,04 ^{Aa}	0,75±0,04 ^{Aa}	0,73±0,05 ^{Aa}

(*) = médias, $\pm$ desvio-padrão, (n=3)

Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% ($p < 0,05$).

Letras maiúsculas na mesma linha indicam comparações entre as diferentes doses de irradiação dentro de um mesmo tempo de estocagem (45 dias ou 90 dias).

Letras minúsculas na mesma linha indicam comparações entre doses iguais de irradiação (0kGy; 6kGy; 7kGy e 8kGy) em tempos de estocagem diferentes.

Tabela 7: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado com Alecrim irradiado com fonte ^{60}Co expresso em g/100g* de amostra.

Ácido Graxo	45 Dias				90 Dias			
	OkGy	6kGy	7kGy	8kGy	OkGy	6kGy	7kGy	8kGy
14:0 – Mirístico	0,90±0,03	0,76±0,08	0,79±0,06	0,77±0,06	0,83±0,02	0,90±0,02	0,88±0,03	0,75±0,00
15:0 - Pentadecanóico	0,15±0,00	0,13±0,01	0,13±0,00	0,13±0,00	0,16±0,04	0,14±0,00	0,14±0,00	0,13±0,00
16:0 – Palmítico	4,87±0,06 ^{Aa}	4,69±0,15 ^{Aa}	4,78±0,01 ^{Aa}	4,86±0,03 ^{Aa}	4,95±0,04 ^{Aa}	4,88±0,04 ^{Ab}	4,87±0,01 ^{Aa}	4,79±0,00 ^{Aa}
17:0 – Margárico	0,26±0,00	0,24±0,01	0,25±0,01	0,25±0,01	0,24±0,01	0,25±0,00	0,25±0,01	0,25±0,00
18:0 – Esteárico	4,04±0,29 ^{Aa}	3,42±0,19 ^{BCa}	3,78±0,15 ^{ACa}	4,17±0,05 ^{ABa}	3,68±0,24 ^{Aa}	3,65±0,04 ^{Aa}	3,73±0,06 ^{Aa}	3,98±0,00 ^{Aa}
14:1 – Miristoléico	0,23±0,01	0,21±0,02	0,20±0,01	0,18±0,03	0,16±0,05	0,23±0,01	0,23±0,01	0,17±0,00
16:1 – Palmitoléico	0,49±0,02 ^{Aa}	0,51±0,03 ^{Aa}	0,47±0,02 ^{Aa}	0,45±0,02 ^{Aa}	0,48±0,06 ^{Aa}	0,49±0,01 ^{Aa}	0,48±0,02 ^{Aa}	0,42±0,00 ^{Aa}
17:1 – Heptadecenóico	0,15±0,02	0,15±0,01	0,14±0,00	0,13±0,00	0,13±0,00	0,15±0,00	0,15±0,00	0,14±0,00
18:1 – Oléico	6,52±0,14 ^{Aa}	6,99±0,25 ^{Ba}	7,06±0,11 ^{BCa}	6,82±0,08 ^{ACa}	7,09±0,31 ^{Ab}	6,91±0,02 ^{Aa}	6,95±0,03 ^{Aa}	7,05±0,00 ^{Aa}
18:2 – Linoléico	0,47±0,13 ^{Aa}	1,27±0,23 ^{Ba}	0,40±0,01 ^{Aa}	0,33±0,01 ^{Aa}	0,37±0,05 ^{Aa}	0,46±0,01 ^{Ab}	0,40±0,01 ^{Aa}	0,38±0,00 ^{Aa}
18:3 – α -linolênico	0,09±0,01 ^{Aa}	0,14±0,02 ^{Ba}	0,09±0,00 ^{Aa}	0,08±0,00 ^{Aa}	0,05±0,04 ^{Aa}	0,09±0,00 ^{Ab}	0,08±0,00 ^{Aa}	0,07±0,00 ^{Aa}
20:4 – Araquidônico	0,06±0,01 ^{Aa}	0,04±0,01 ^{Ba}	0,05±0,00 ^{Aa}	0,05±0,00 ^{Aa}	0,05±0,00 ^{ABa}	0,06±0,00 ^{Ab}	0,05±0,00 ^{ABa}	0,04±0,00 ^{Ba}
22:5 - Docosapentaenóico	0,04±0,00	0,03±0,00	0,04±0,00	0,04±0,00	0,03±0,01	0,04±0,00	0,04±0,00	0,03±0,00
18:1t	0,66±0,03	0,65±0,03	0,74±0,04	0,68±0,02	0,71±0,05	0,69±0,01	0,70±0,01	0,74±0,00
18:2t	0,14±0,00	0,14±0,01	0,14±0,02	0,13±0,05	0,11±0,02	0,12±0,00	0,12±0,01	0,12±0,00
Saturados	10,21±0,34 ^{Aa}	9,24±0,42 ^{Ba}	9,74±0,13 ^{ACa}	10,18±0,08 ^{ACa}	9,86±0,18 ^{Aa}	9,82±0,02 ^{Aa}	9,87±0,03 ^{Aa}	9,90±0,00 ^{Aa}
Monoinsaturados	7,39±0,16 ^{Aa}	7,86±0,27 ^{BCa}	7,87±0,15 ^{BCa}	7,58±0,04 ^{ACa}	7,87±0,31 ^{Ab}	7,78±0,00 ^{Aa}	7,80±0,04 ^{Aa}	7,78±0,00 ^{Aa}
Polinsaturados	0,67±0,16 ^{Aa}	1,17±0,27 ^{Ba}	0,57±0,01 ^{Aa}	0,49±0,02 ^{Aa}	0,58±0,01 ^{Aa}	0,65±0,02 ^{Ab}	0,57±0,02 ^{Aa}	0,52±0,00 ^{Aa}
Trans	0,80±0,04 ^{Aa}	0,79±0,02 ^{Aa}	0,88±0,03 ^{Aa}	0,81±0,06 ^{Aa}	0,82±0,06 ^{Aa}	0,80±0,01 ^{Aa}	0,82±0,01 ^{Aa}	0,86±0,00 ^{Aa}

(*) = médias, $\pm$ desvio-padrão, (n=3)

Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% ($p < 0,05$).

Letras maiúsculas na mesma linha indicam comparações entre as diferentes doses de irradiação dentro de um mesmo tempo de estocagem (45 dias ou 90 dias).

Letras minúsculas na mesma linha indicam comparações entre doses iguais de irradiação (0kGy; 6kGy; 7kGy e 8kGy) em tempos de estocagem diferentes.

Tabela 8: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado com Orégano irradiado com fonte ^{60}Co expresso em g/100g* de amostra.

Ácido Graxo	45 Dias				90 Dias			
	OkGy	6kGy	7kGy	8kGy	OkGy	6kGy	7kGy	8kGy
14:0 – Mirístico	0,74±0,08	0,83±0,05	0,83±0,01	0,82±0,00	0,93±0,03	0,94±0,01	0,87±0,08	0,77±0,02
15:0 - Pentadecanóico	0,14±0,01	0,15±0,01	0,15±0,00	0,14±0,00	0,16±0,00	0,15±0,00	0,15±0,01	0,13±0,01
16:0 – Palmítico	4,89±0,02 ^{Aa}	4,92±0,04 ^{Aa}	4,83±0,01 ^{Aa}	4,86±0,09 ^{Aa}	4,99±0,06 ^{Aa}	4,94±0,02 ^{ACa}	4,78±0,13 ^{BCa}	4,88±0,03 ^{ACa}
17:0 – Margárico	0,28±0,01	0,27±0,01	0,25±0,00	0,26±0,01	0,24±0,00	0,25±0,00	0,25±0,00	0,27±0,01
18:0 – Esteárico	4,79±0,12 ^{Aa}	3,88±0,04 ^{Ba}	3,82±0,12 ^{Ba}	4,16±0,16 ^{Ba}	3,71±0,14 ^{Ab}	3,71±0,07 ^{Aa}	3,74±0,07 ^{Aa}	4,29±0,23 ^{Ba}
14:1 – Miristoléico	0,17±0,03	0,21±0,01	0,20±0,01	0,20±0,01	0,25±0,03	0,25±0,01	0,23±0,02	0,16±0,01
16:1 – Palmitoléico	0,43±0,03 ^{Aa}	0,46±0,02 ^{Aa}	0,44±0,02 ^{Aa}	0,44±0,03 ^{Aa}	0,49±0,04 ^{Aa}	0,50±0,02 ^{Aa}	0,49±0,01 ^{Aa}	0,38±0,02 ^{Ba}
17:1 – Heptadecenóico	0,13±0,01	0,15±0,02	0,14±0,01	0,14±0,01	0,15±0,01	0,15±0,00	0,15±0,01	0,13±0,01
18:1 – Oléico	6,26±0,03 ^{Aa}	6,86±0,03 ^{Aa}	6,94±0,12 ^{Aa}	6,69±0,18 ^{Aa}	6,79±0,15 ^{Ab}	6,76±0,02 ^{Aa}	7,00±0,24 ^{Aa}	6,72±0,10 ^{Aa}
18:2 – Linoléico	0,37±0,01 ^{Aa}	0,38±0,03 ^{Aa}	0,43±0,01 ^{Aa}	0,41±0,06 ^{Aa}	0,44±0,02 ^{Aa}	0,45±0,01 ^{Aa}	0,43±0,04 ^{Aa}	0,40±0,01 ^{Aa}
18:3 – α -linolênico	0,08±0,01 ^{Aa}	0,08±0,00 ^{Aa}	0,08±0,00 ^{Aa}	0,08±0,00 ^{Aa}	0,09±0,00 ^{Aa}	0,08±0,00 ^{Aa}	0,08±0,01 ^{Aa}	0,06±0,00 ^{Bb}
20:4 – Araquidônico	0,05±0,00 ^{Aa}	0,06±0,02 ^{Aa}	0,05±0,00 ^{Aa}	0,05±0,01 ^{Aa}	0,06±0,00 ^{Aa}	0,05±0,00 ^{Aa}	0,04±0,01 ^{Aa}	0,04±0,00 ^{Aa}
22:5 - Docosapentaenóico	0,03±0,00	0,03±0,00	0,03±0,00	0,03±0,00	0,04±0,00	0,03±0,00	0,03±0,01	0,02±0,00
18:1t	0,55±0,01	0,69±0,02	0,72±0,02	0,66±0,00	0,61±0,02	0,67±0,01	0,68±0,01	0,70±0,07
18:2t	0,15±0,02	0,08±0,02	0,13±0,04	0,11±0,00	0,13±0,01	0,12±0,00	0,14±0,01	0,11±0,01
Saturados	10,83±0,03 ^{Aa}	10,05±0,03 ^{Ba}	9,88±0,11 ^{Ba}	10,24±0,18 ^{Ba}	10,03±0,15 ^{Ab}	10,00±0,05 ^{Aa}	9,79±0,15 ^{Aa}	10,34±0,23 ^{Ba}
Monoinsaturados	7,00±0,04 ^{Aa}	7,69±0,05 ^{Ba}	7,73±0,15 ^{Ba}	7,47±0,22 ^{Ba}	7,67±0,19 ^{Ab}	7,65±0,04 ^{Aa}	7,88±0,22 ^{Aa}	7,40±0,15 ^{Ba}
Polinsaturados	0,54±0,01 ^{Aa}	0,55±0,05 ^{Aa}	0,60±0,01 ^{Aa}	0,57±0,07 ^{Aa}	0,63±0,03 ^{Aa}	0,61±0,02 ^{Aa}	0,58±0,06 ^{Aa}	0,52±0,02 ^{Aa}
Trans	0,70±0,02 ^{Aa}	0,77±0,03 ^{ACa}	0,85±0,05 ^{BCa}	0,78±0,01 ^{ACa}	0,74±0,03 ^{Aa}	0,79±0,01 ^{Aa}	0,81±0,01 ^{Aa}	0,80±0,07 ^{Aa}

(*) = médias, $\pm$ desvio-padrão, (n=3)

Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% ($p < 0,05$).

Letras maiúsculas na mesma linha indicam comparações entre as diferentes doses de irradiação dentro de um mesmo tempo de estocagem (45 dias ou 90 dias).

Letras minúsculas na mesma linha indicam comparações entre doses iguais de irradiação (0kGy; 6kGy; 7kGy e 8kGy) em tempos de estocagem diferentes.

Tabela 9: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado com Alecrim e Orégano irradiado com fonte ^{60}Co expresso em g/100g* de amostra.

Ácido Graxo	45 Dias				90 Dias			
	OkGy	6kGy	7kGy	8kGy	OkGy	6kGy	7kGy	8kGy
14:0 – Mirístico	0,91±0,04	0,90±0,00	0,85±0,01	0,78±0,01	0,89±0,03	0,88±0,03	0,91±0,04	0,76±0,03
15:0 - Pentadecanóico	0,16±0,03	0,15±0,00	0,14±0,00	0,16±0,02	0,15±0,00	0,15±0,00	0,14±0,00	0,13±0,01
16:0 – Palmítico	4,82±0,14 ^{Aa}	4,88±0,11 ^{Aa}	4,81±0,01 ^{Aa}	4,74±0,10 ^{Aa}	4,91±0,02 ^{Aa}	4,81±0,01 ^{Aa}	4,87±0,05 ^{Aa}	4,80±0,02 ^{Aa}
17:0 – Margárico	0,27±0,01	0,26±0,01	0,28±0,01	0,27±0,00	0,25±0,01	0,27±0,00	0,25±0,00	0,27±0,01
18:0 – Esteárico	4,53±0,16 ^{Aa}	4,09±0,04 ^{Ba}	4,24±0,12 ^{ABa}	4,48±0,12 ^{Aa}	4,37±0,07 ^{Aa}	4,20±0,06 ^{Aa}	4,15±0,17 ^{Aa}	4,45±0,16 ^{Aa}
14:1 – Miristoléico	0,19±0,02	0,18±0,00	0,16±0,00	0,14±0,00	0,17±0,01	0,18±0,02	0,19±0,01	0,14±0,01
16:1 – Palmitoléico	0,63±0,06 ^{Aa}	0,56±0,01 ^{ADa}	0,50±0,01 ^{BDa}	0,35±0,00 ^{Ca}	0,38±0,00 ^{Ab}	0,38±0,01 ^{Ab}	0,39±0,03 ^{Ab}	0,34±0,03 ^{Aa}
17:1 – Heptadecenóico	0,14±0,02	0,13±0,01	0,13±0,00	0,14±0,02	0,12±0,00	0,13±0,00	0,12±0,01	0,12±0,01
18:1 – Oléico	5,91±0,24 ^{Aa}	6,38±0,06 ^{Ba}	6,51±0,12 ^{Ba}	6,38±0,06 ^{Ba}	6,36±0,04 ^{Ab}	6,61±0,04 ^{Aa}	6,52±0,08 ^{Aa}	6,52±0,26 ^{Aa}
18:2 – Linoléico	0,46±0,13 ^{Aa}	0,45±0,05 ^{Aa}	0,42±0,02 ^{Aa}	0,52±0,17 ^{Aa}	0,38±0,02 ^{Aa}	0,38±0,02 ^{Aa}	0,41±0,00 ^{Aa}	0,38±0,02 ^{Aa}
18:3 – α -linolênico	0,10±0,01 ^{Aa}	0,09±0,00 ^{Ba}	0,09±0,00 ^{Ba}	0,07±0,00 ^{Ca}	0,08±0,00 ^{Ab}	0,07±0,00 ^{Bb}	0,08±0,00 ^{Ab}	0,07±0,00 ^{Ba}
20:4 – Araquidônico	0,06±0,01 ^{Aa}	0,05±0,00 ^{Aa}	0,05±0,00 ^{Aa}	0,05±0,00 ^{Aa}	0,05±0,01 ^{Aa}	0,04±0,01 ^{Aa}	0,05±0,00 ^{Aa}	0,04±0,01 ^{Aa}
22:5 - Docosapentaenóico	0,04±0,00	0,04±0,01	0,04±0,00	0,04±0,00	0,05±0,00	0,03±0,01	0,04±0,00	0,04±0,00
18:1t	0,69±0,01	0,82±0,03	0,79±0,01	0,82±0,01	0,75±0,01	0,79±0,01	0,81±0,02	0,89±0,08
18:2t	0,16±0,04	0,09±0,06	0,06±0,01	0,12±0,02	0,14±0,00	0,13±0,01	0,12±0,00	0,11±0,01
Saturados	10,70±0,31 ^{Aa}	10,28±0,12 ^{Aa}	10,32±0,12 ^{Aa}	10,43±0,22 ^{Aa}	10,57±0,03 ^{Aa}	10,30±0,04 ^{Aa}	10,33±0,10 ^{Aa}	10,42±0,22 ^{Aa}
Monoinsaturados	6,86±0,31 ^{Aa}	7,25±0,06 ^{Aa}	7,29±0,12 ^{Aa}	7,01±0,08 ^{Aa}	7,03±0,05 ^{Aa}	7,31±0,07 ^{Aa}	7,22±0,12 ^{Aa}	7,12±0,31 ^{Aa}
Polinsaturados	0,66±0,15 ^{Aa}	0,63±0,05 ^{Aa}	0,60±0,02 ^{Aa}	0,69±0,17 ^{Aa}	0,56±0,04 ^{Aa}	0,53±0,03 ^{Aa}	0,57±0,00 ^{Aa}	0,52±0,04 ^{Aa}
Trans	0,85±0,06 ^{Aa}	0,91±0,04 ^{Aa}	0,85±0,01 ^{Aa}	0,94±0,03 ^{Aa}	0,89±0,01 ^{Aa}	0,92±0,01 ^{ACa}	0,93±0,02 ^{ACa}	1,00±0,07 ^{BCa}

(*) = médias, $\pm$ desvio-padrão, (n=3)

Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% ($p < 0,05$).

Letras maiúsculas na mesma linha indicam comparações entre as diferentes doses de irradiação dentro de um mesmo tempo de estocagem (45 dias ou 90 dias).

Letras minúsculas na mesma linha indicam comparações entre doses iguais de irradiação (0kGy; 6kGy; 7kGy e 8kGy) em tempos de estocagem diferentes.

Tabela 10: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado com BHT/BHA e Alecrim irradiado com fonte ^{60}Co expresso em g/100g* de amostra.

Ácido Graxo	45 Dias				90 Dias			
	0kGy	6kGy	7kGy	8kGy	0kGy	6kGy	7kGy	8kGy
14:0 – Mirístico	0,84±0,01	0,74±0,01	0,90±0,02	0,77±0,02	0,85±0,01	0,87±0,07	0,90±0,01	0,71±0,02
15:0 - Pentadecanóico	0,14±0,01	0,12±0,01	0,14±0,00	0,14±0,01	0,14±0,00	0,13±0,01	0,14±0,00	0,12±0,00
16:0 – Palmítico	4,77±0,11 ^{Aa}	4,64±0,04 ^{Aa}	4,74±0,06 ^{Aa}	4,81±0,07 ^{Aa}	4,74±0,04 ^{Aa}	4,71±0,08 ^{Aa}	4,80±0,02 ^{Aa}	4,75±0,08 ^{Aa}
17:0 – Margárico	0,29±0,03	0,25±0,00	0,28±0,00	0,30±0,01	0,26±0,00	0,25±0,01	0,25±0,00	0,26±0,01
18:0 – Esteárico	4,24±0,34 ^{Aa}	3,87±0,24 ^{Aa}	3,90±0,03 ^{Aa}	4,21±0,19 ^{Aa}	4,15±0,05 ^{Aa}	3,92±0,18 ^{Aa}	4,02±0,07 ^{Aa}	4,43±0,12 ^{Aa}
14:1 – Miristoléico	0,18±0,01	0,18±0,01	0,20±0,00	0,15±0,00	0,17±0,00	0,20±0,03	0,19±0,01	0,12±0,01
16:1 – Palmitoléico	0,51±0,02 ^{Aa}	0,51±0,07 ^{Aa}	0,58±0,01 ^{Aa}	0,51±0,01 ^{Aa}	0,40±0,01 ^{ACb}	0,42±0,03 ^{Ab}	0,40±0,01 ^{ACb}	0,32±0,02 ^{BCb}
17:1 – Heptadecenóico	0,14±0,02	0,14±0,00	0,14±0,00	0,14±0,01	0,14±0,00	0,14±0,00	0,14±0,00	0,12±0,01
18:1 – Oléico	6,40±0,41 ^{ACa}	6,96±0,14 ^{Ba}	6,69±0,06 ^{BCa}	6,65±0,10 ^{BCa}	6,79±0,13 ^{Aa}	6,99±0,02 ^{Aa}	6,78±0,07 ^{Aa}	6,80±0,11 ^{Aa}
18:2 – Linoléico	0,45±0,08 ^{Aa}	0,66±0,09 ^{Ba}	0,47±0,05 ^{Aa}	0,38±0,08 ^{Aa}	0,41±0,02 ^{Aa}	0,41±0,01 ^{Ab}	0,42±0,01 ^{Aa}	0,35±0,03 ^{Aa}
18:3 – α -linolênico	0,10±0,00 ^{Aa}	0,10±0,01 ^{Aa}	0,10±0,00 ^{Aa}	0,08±0,00 ^{Ba}	0,08±0,00 ^{Ab}	0,08±0,00 ^{Ab}	0,08±0,00 ^{Ab}	0,06±0,00 ^{Bb}
20:4 – Araquidônico	0,06±0,01 ^{Aa}	0,04±0,00 ^{Ba}	0,06±0,00 ^{Aa}	0,04±0,01 ^{Ba}	0,05±0,00 ^{Aa}	0,04±0,01 ^{ABa}	0,04±0,00 ^{ABb}	0,03±0,00 ^{Ba}
22:5 - Docosapentaenóico	0,04±0,00	0,03±0,00	0,04±0,00	0,03±0,00	0,04±0,00	0,05±0,00	0,05±0,00	0,04±0,00
18:1t	0,72±0,02	0,70±0,04	0,72±0,01	0,73±0,02	0,73±0,01	0,74±0,02	0,75±0,01	0,83±0,09
18:2t	0,18±0,06	0,12±0,03	0,10±0,02	0,12±0,02	0,12±0,00	0,12±0,00	0,12±0,00	0,11±0,01
Saturados	10,29±0,47 ^{Aa}	9,62±0,19 ^{Ba}	9,96±0,11 ^{ABa}	10,23±0,22 ^{Aa}	10,15±0,10 ^{Aa}	9,89±0,04 ^{Aa}	10,11±0,07 ^{Aa}	10,27±0,09 ^{Aa}
Monoinsaturados	7,23±0,45 ^{Aa}	7,79±0,13 ^{Ba}	7,61±0,06 ^{ABa}	7,44±0,12 ^{ABa}	7,50±0,13 ^{Aa}	7,74±0,08 ^{Aa}	7,50±0,08 ^{Aa}	7,37±0,14 ^{Aa}
Polinsaturados	0,65±0,08 ^{Aa}	0,83±0,10 ^{Ba}	0,67±0,05 ^{ABa}	0,54±0,09 ^{Aa}	0,57±0,03 ^{Aa}	0,58±0,02 ^{Ab}	0,58±0,02 ^{Aa}	0,49±0,03 ^{Aa}
Trans	0,90±0,06 ^{Aa}	0,82±0,01 ^{Aa}	0,82±0,02 ^{Aa}	0,85±0,04 ^{Aa}	0,85±0,00 ^{Aa}	0,85±0,01 ^{Aa}	0,87±0,01 ^{Aa}	0,94±0,10 ^{Aa}

(*) = médias, $\pm$ desvio-padrão, (n=3)

Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% ($p < 0,05$).

Letras maiúsculas na mesma linha indicam comparações entre as diferentes doses de irradiação dentro de um mesmo tempo de estocagem (45 dias ou 90 dias).

Letras minúsculas na mesma linha indicam comparações entre doses iguais de irradiação (0kGy; 6kGy; 7kGy e 8kGy) em tempos de estocagem diferentes.

Tabela 11: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado com BHT/BHA e Orégano irradiado com fonte ^{60}Co expresso em g/100g* de amostra.

Ácido Graxo	45 Dias				90 Dias			
	OkGy	6kGy	7kGy	8kGy	OkGy	6kGy	7kGy	8kGy
14:0 – Mirístico	0,92±0,00	0,84±0,05	0,92±0,05	0,77±0,03	0,82±0,09	0,90±0,07	0,92±0,04	0,71±0,02
15:0 - Pentadecanóico	0,17±0,00	0,14±0,00	0,15±0,01	0,14±0,01	0,15±0,01	0,15±0,00	0,15±0,01	0,13±0,00
16:0 – Palmítico	4,96±0,00 ^{Aa}	4,94±0,02 ^{Aa}	4,98±0,04 ^{Aa}	4,79±0,13 ^{Aa}	4,71±0,24 ^{Aa}	4,88±0,09 ^{Aa}	4,91±0,03 ^{Aa}	4,78±0,08 ^{Aa}
17:0 – Margárico	0,31±0,00	0,24±0,00	0,25±0,02	0,28±0,01	0,25±0,01	0,26±0,00	0,25±0,00	0,27±0,00
18:0 – Esteárico	3,92±0,00 ^{Aa}	3,61±0,13 ^{Aa}	3,68±0,14 ^{Aa}	4,49±0,20 ^{Ba}	3,48±0,11 ^{Ab}	3,85±0,20 ^{Aa}	3,57±0,09 ^{Aa}	3,94±0,04 ^{Bb}
14:1 – Miristoléico	0,24±0,00	0,22±0,01	0,24±0,00	0,17±0,00	0,21±0,02	0,23±0,02	0,24±0,01	0,17±0,01
16:1 – Palmitoléico	0,64±0,00 ^{ACa}	0,48±0,03 ^{Ba}	0,61±0,03 ^{Aa}	0,69±0,02 ^{Ca}	0,48±0,05 ^{Ab}	0,45±0,03 ^{ABa}	0,49±0,02 ^{Ab}	0,40±0,02 ^{Bb}
17:1 – Heptadecenóico	0,14±0,00	0,15±0,00	0,14±0,01	0,13±0,01	0,16±0,01	0,15±0,00	0,15±0,00	0,15±0,01
18:1 – Oléico	6,38±0,00 ^{ACa}	6,91±0,12 ^{Aa}	6,84±0,11 ^{Aa}	6,17±0,32 ^{BCa}	7,34±0,47 ^{Ab}	6,71±0,10 ^{Ba}	6,89±0,01 ^{Aa}	7,11±0,08 ^{Ab}
18:2 – Linoléico	0,44±0,00 ^{ABa}	0,54±0,04 ^{Aa}	0,38±0,06 ^{Ba}	0,46±0,03 ^{ABa}	0,46±0,04 ^{Aa}	0,47±0,04 ^{Aa}	0,46±0,01 ^{Aa}	0,40±0,03 ^{Aa}
18:3 – α -linolênico	0,11±0,00 ^{Aa}	0,10±0,01 ^{ABa}	0,10±0,01 ^{ABa}	0,09±0,01 ^{Ba}	0,09±0,01 ^{Ab}	0,09±0,00 ^{Aa}	0,09±0,00 ^{Aa}	0,07±0,00 ^{Bb}
20:4 – Araquidônico	0,07±0,00 ^{Aa}	0,08±0,01 ^{Aa}	0,05±0,02 ^{Aa}	0,06±0,00 ^{Aa}	0,06±0,01 ^{Aa}	0,07±0,02 ^{Aa}	0,06±0,01 ^{Aa}	0,05±0,01 ^{Aa}
22:5 - Docosapentaenóico	0,05±0,00	0,04±0,00	0,04±0,01	0,04±0,00	0,04±0,01	0,04±0,01	0,03±0,01	0,03±0,00
18:1t	0,54±0,00	0,66±0,01	0,64±0,04	0,64±0,02	0,67±0,02	0,69±0,02	0,71±0,03	0,72±0,03
18:2t	0,17±0,00	0,11±0,00	0,05±0,01	0,14±0,07	0,13±0,01	0,12±0,01	0,13±0,01	0,12±0,01
Saturados	10,28±0,00 ^{ABa}	9,77±0,09 ^{Aa}	9,98±0,03 ^{ABa}	10,48±0,33 ^{Ba}	9,41±0,37 ^{Ab}	10,04±0,15 ^{Ba}	9,81±0,05 ^{ABa}	9,83±0,13 ^{ABb}
Monoinsaturados	7,40±0,00 ^{ABa}	7,75±0,08 ^{Aa}	7,83±0,11 ^{Aa}	7,15±0,34 ^{Ba}	8,20±0,42 ^{Ab}	7,54±0,14 ^{Ba}	7,77±0,05 ^{ABa}	7,83±0,12 ^{ABb}
Polinsaturados	0,68±0,00 ^{Aa}	0,77±0,06 ^{Aa}	0,57±0,09 ^{Aa}	0,65±0,03 ^{Aa}	0,65±0,07 ^{Aa}	0,67±0,07 ^{Aa}	0,64±0,03 ^{Aa}	0,55±0,04 ^{Aa}
Trans	0,70±0,00 ^{Aa}	0,77±0,00 ^{Aa}	0,69±0,05 ^{Aa}	0,78±0,07 ^{Aa}	0,80±0,03 ^{Ab}	0,81±0,02 ^{Aa}	0,84±0,02 ^{Ab}	0,84±0,03 ^{Aa}

(*) = médias, $\pm$ desvio-padrão, (n=3)

Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% ($p < 0,05$).

Letras maiúsculas na mesma linha indicam comparações entre as diferentes doses de irradiação dentro de um mesmo tempo de estocagem (45 dias ou 90 dias).

Letras minúsculas na mesma linha indicam comparações entre doses iguais de irradiação (0kGy; 6kGy; 7kGy e 8kGy) em tempos de estocagem diferentes.

Tabela 12: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado sem antioxidantes irradiado com fonte ^{60}Co expresso em g/100g* de amostra.

Ácido Graxo	45 Dias				90 Dias			
	OkGy	6kGy	7kGy	8kGy	OkGy	6kGy	7kGy	8kGy
14:0 – Mirístico	0,88±0,04	0,90±0,00	0,86±0,02	0,81±0,04	0,85±0,01	0,83±0,05	0,85±0,05	0,73±0,01
15:0 - Pentadecanóico	0,14±0,01	0,15±0,00	0,15±0,01	0,15±0,01	0,15±0,00	0,14±0,01	0,14±0,01	0,13±0,00
16:0 – Palmítico	4,91±0,03 ^{Aa}	4,94±0,04 ^{Aa}	4,89±0,05 ^{Aa}	4,98±0,08 ^{Aa}	4,91±0,04 ^{Aa}	4,90±0,06 ^{Aa}	4,96±0,11 ^{Aa}	4,88±0,05 ^{Aa}
17:0 – Margárico	0,26±0,00	0,24±0,01	0,26±0,00	0,27±0,01	0,26±0,00	0,25±0,00	0,25±0,00	0,24±0,03
18:0 – Esteárico	3,87±0,03 ^{Aa}	3,41±0,08 ^{Ba}	3,78±0,07 ^{ABa}	4,20±0,31 ^{Aa}	3,87±0,11 ^{Aa}	3,61±0,06 ^{Aa}	3,71±0,21 ^{Aa}	3,91±0,11 ^{Aa}
14:1 – Miristoléico	0,25±0,03	0,26±0,01	0,22±0,00	0,20±0,01	0,21±0,01	0,22±0,02	0,22±0,01	0,18±0,00
16:1 – Palmitoléico	0,53±0,02 ^{Aa}	0,55±0,00 ^{Aa}	0,46±0,01 ^{Ba}	0,47±0,00 ^{Ba}	0,46±0,01 ^{ABa}	0,49±0,02 ^{Ab}	0,48±0,03 ^{Aa}	0,43±0,01 ^{Ba}
17:1 – Heptadecenóico	0,15±0,00	0,16±0,00	0,15±0,00	0,14±0,01	0,14±0,01	0,16±0,00	0,14±0,01	0,14±0,00
18:1 – Oléico	6,73±0,03 ^{ABa}	7,13±0,00 ^{Aa}	6,89±0,03 ^{Aa}	6,64±0,40 ^{Ba}	6,84±0,11 ^{Aa}	7,07±0,07 ^{Aa}	6,93±0,04 ^{Aa}	7,03±0,13 ^{Aa}
18:2 – Linoléico	0,42±0,01 ^{Aa}	0,38±0,00 ^{Aa}	0,39±0,02 ^{Aa}	0,31±0,03 ^{Ba}	0,41±0,02 ^{Aa}	0,41±0,02 ^{Aa}	0,42±0,02 ^{Aa}	0,39±0,02 ^{Ab}
18:3 – α -linolênico	0,10±0,00 ^{Aa}	0,09±0,00 ^{Ba}	0,09±0,00 ^{Ba}	0,08±0,00 ^{Ca}	0,08±0,00 ^{Ab}	0,08±0,00 ^{Ab}	0,08±0,00 ^{Ab}	0,07±0,00 ^{Ab}
20:4 – Araquidônico	0,06±0,01 ^{Aa}	0,05±0,00 ^{Aa}	0,05±0,00 ^{Aa}	0,04±0,01 ^{Aa}	0,04±0,00 ^{Aa}	0,05±0,01 ^{Aa}	0,05±0,00 ^{Aa}	0,03±0,02 ^{Aa}
22:5 - Docosapentaenóico	0,04±0,00	0,03±0,00	0,04±0,00	0,03±0,01	0,03±0,00	0,04±0,00	0,03±0,00	0,03±0,00
18:1t	0,63±0,03	0,68±0,01	0,73±0,03	0,64±0,03	0,69±0,01	0,70±0,02	0,69±0,02	0,77±0,05
18:2t	0,10±0,01	0,10±0,03	0,10±0,00	0,11±0,02	0,12±0,01	0,12±0,00	0,12±0,01	0,11±0,00
Saturados	10,06±0,03 ^{ABa}	9,63±0,03 ^{Aa}	9,94±0,01 ^{ABa}	10,40±0,45 ^{Ba}	10,03±0,12 ^{Aa}	9,74±0,06 ^{Aa}	9,91±0,05 ^{Aa}	9,90±0,17 ^{Aa}
Monoinsaturados	7,66±0,02 ^{Aa}	8,10±0,01 ^{Ba}	7,72±0,02 ^{ABa}	7,45±0,39 ^{Aa}	7,66±0,13 ^{Aa}	7,93±0,03 ^{Aa}	7,77±0,04 ^{Aa}	7,78±0,14 ^{Aa}
Polinsaturados	0,62±0,00 ^{Aa}	0,55±0,00 ^{Ba}	0,57±0,02 ^{ABa}	0,46±0,05 ^{Ca}	0,56±0,02 ^{Aa}	0,57±0,02 ^{Aa}	0,57±0,03 ^{Aa}	0,51±0,01 ^{Aa}
Trans	0,73±0,04 ^{Aa}	0,78±0,04 ^{Aa}	0,83±0,03 ^{Ba}	0,75±0,01 ^{Aa}	0,81±0,02 ^{Aa}	0,82±0,02 ^{Aa}	0,81±0,02 ^{Aa}	0,88±0,05 ^{Aa}

(*) = médias, $\pm$ desvio-padrão, (n=3)

Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% ($p < 0,05$).

Letras maiúsculas na mesma linha indicam comparações entre as diferentes doses de irradiação dentro de um mesmo tempo de estocagem (45 dias ou 90 dias).

Letras minúsculas na mesma linha indicam comparações entre doses iguais de irradiação (0kGy; 6kGy; 7kGy e 8kGy) em tempos de estocagem diferentes.

Pode-se observar que o ácido palmítico (16:0) e o ácido esteárico (18:0) apresentaram pouca sensibilidade a ação da irradiação ou da estocagem e suas concentrações nas amostras não diferiram significativamente, mas algumas observações devem ser relatadas:

O ácido palmítico (16:0) apresentou um aumento significativo ($p < 0,05$) na amostra formulada com alecrim após 90 dias de estocagem em relação aos primeiros 45 dias somente quando irradiada com 6kGy (**Tab. 7**).

O ácido esteárico (18:0) apresentou um aumento significativo ($p < 0,05$) com a dose de 8kGy na amostra formulada com BHT/BHA após 90 dias de estocagem em relação aos primeiros 45 dias (**Tab. 6**), e também na amostra formulada com orégano e com BHT/BHA+orégano irradiada com 8kGy estocada por 90 dias em relação a não irradiada com o mesmo tempo de estocagem (**Tab. 8 e 11**). Na amostra formulada com BHT/BHA+orégano esse aumento significativo ($p < 0,05$) também foi observado após 45 dias de estocagem (**Tab. 11**).

O ácido palmitoléico (16:1) apresentou aumento significativo ($p < 0,05$) nas amostras formuladas com BHT/BHA irradiadas com 8kGy em relação as irradiadas com 6kGy após 45 dias de estocagem, mas sofreu uma redução significativa ($p < 0,05$) após 90 dias de estocagem (**Tab. 6**), e esta redução após 90 dias de estocagem também foi observada na amostra formulada com orégano (**Tab. 8**). Na amostra formulada com alecrim+orégano a redução na concentração do ácido palmítico (16:1) ocorreu já nos primeiros 45 dias de estocagem, sendo significativa ($p < 0,05$) apenas na dose de 8kGy de irradiação mantendo os valores até 90 dias. Nas amostras não-irradiadas e irradiadas com 6 e 7kGy a redução só foi significativa quando se atingiu os 90 dias de estocagem (**Tab. 9**). Nestas mesmas amostras formuladas com BHT/BHA+alecrim e BHT/BHA+orégano apresentaram redução significativa ($p < 0,05$) destes ácidos graxos em todas as doses empregadas após 90 dias de estocagem em relação aos 45 primeiros dias (**Tab. 10 e 11**). Nas amostras sem antioxidantes a redução mais evidente foi na amostra irradiada com 8kGy, porém esta redução não foi significativa ($p < 0,05$) (**Tab. 11**).

O ácido oléico não apresentou diferença estatística ($p < 0,05$) nas amostras formuladas com BHT/BHA. Nas amostras formuladas com alecrim, houve aumento

significativo ($p<0,05$) deste ácido graxo nos primeiros 45 dias de estocagem entre as amostras não-irradiadas e irradiadas com 8kGy, não houve diferença significativa entre as doses de 8 e 7kGy, mas houve entre 8 e 6kGy. Na amostra não-irradiada houve um aumento significativo ($p<0,05$) após 90 dias de estocagem em relação aos primeiros 45 dias. Nas amostras formuladas com alecrim+orégano, BHT/BHA+alecrim observou-se diferenças significativas ($p<0,05$) nos primeiros 45 dias de estocagem entre as amostras não-irradiadas e as irradiadas com 6, 7 e 8kGy, mantendo os valores até os 90 dias de estocagem.

O ácido α -linolênico (18:3) sofreu redução significativa ($p<0,05$) apenas com o emprego da dose de 8kGy em relação às não-irradiadas e irradiadas com 6 e 7kGy em todas as formulações à exceção das amostras formuladas com BHT/BHA e Alecrim que mantiveram as mesmas concentrações independente da dose de irradiação empregada.

Em relação aos ácidos graxos *trans*, somente foram observadas diferenças significativas ($p<0,05$) nas amostras formuladas com BHT/BHA com doses de 6 e 8kGy (**Tab. 6** – 45 dias), amostras formuladas com orégano não-irradiadas e irradiadas com 7kGy (**Tab. 8** – 45 dias), amostras formuladas com alecrim+orégano não-irradiadas e irradiadas com 8kGy (**Tab. 9** – 90 dias) e as amostras controles sem antioxidantes não irradiadas e irradiadas com 7kGy (**Tab. 12** – 45 dias). Ao analisarmos estes dados, pode-se observar que essa diferença apesar de ser estatisticamente significativa, não apresenta uma resposta linear entre irradiação ou mesmo a dose de irradiação empregada e a formação de isômeros *trans*, pois foi notado que quando emprega-se doses maiores, tais como 8kGy que foi a maior dose utilizada, a diferença entre a não irradiada e a irradiada não se mostrou significativa ($p<0,05$) em todas as formulação, inclusive nas amostras controle, ou seja, sem adição de antioxidantes. A amostra formulada com BHT/BHA que apresentou diferença entre as irradiadas com 6 e 8kGy, não diferiram significativamente ($p<0,05$) das amostras controle não-irradiadas.

O ácido araquidônico (20:4) que é um polinsaturado que está presente em concentrações muito baixas na carne, mas que por possuir quatro insaturações em sua cadeia é um ácido graxo muito susceptível à oxidação (Fennema, 2007) também foi estudado no trabalho. A concentração deste ácido graxo em todas formulações

foi reduzindo de acordo com a dose de irradiação empregada e com o tempo estocagem, mas essa redução não foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em nenhuma das formulações, à exceção das amostras formuladas com BHT/BHA+alecrim, na qual a redução foi significativa ($p < 0,05$) entre as amostras não-irradiadas e irradiadas com 8kGy tanto após 45 dias de estocagem quanto após 90 dias de estocagem (**Tab. 10**).

Após 90 dias de estocagem, é possível observar um aumento na quantidade dos ácidos graxos *trans* presentes nas amostras em relação aos primeiros 45 dias de estocagem, principalmente nas amostras formuladas com alecrim, alecrim+orégano, BHT/BHA+alecrim, BHT/BHA+orégano e sem antioxidantes, mas esse aumento não se mostrou estatisticamente significativo ($p < 0,05$). À exceção das amostras formuladas com BHT/BHA e das amostras formuladas com orégano, BHT/BHA+orégano e sem antioxidantes que apresentaram valores de isômeros *trans* por volta de 0,7%, todas as demais amostras irradiadas apresentaram valores de *trans* acima de 0,08g/100g de amostra, ou seja, 0,8%. A estocagem não se mostrou um fator crítico quanto à formação destes isômeros, pois quando foi comparada as mesmas doses de irradiação nas diversas formulações em tempos de estocagem diferentes apenas a amostra formulada BHT/BHA+orégano irradiada com 8kGy mostrou diferença significativa após a estocagem de 45 e 90 dias (**Tab. 11**).

Algumas diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) nas quantidades de ácidos graxos saturados totais foram encontradas neste trabalho, mas essas diferenças não foram lineares, ou seja, não apresentaram correlação positiva nem com o tempo de estocagem nem com a dose de irradiação empregada, portanto é de pouco valor quando analisado no contexto geral o comportamento destes ácidos graxos.

Tal como os ácidos graxos *trans*, os ácidos graxos polinsaturados também apresentaram valores menores em suas concentrações ao compararmos as amostras irradiadas e as não-irradiadas em todas as formulações, também foram encontrados valores menores de PUFA's nas amostras com a maior dose de irradiação empregada (8kGy). Estatisticamente, nenhuma destas diferenças foi significativa ($p < 0,05$), mas como a concentração destes ácidos graxos é também

muito pequena em carnes e seus derivados, pode-se observar que ocorre sim uma redução no total destes ácidos graxos tanto por efeito da irradiação como pelo efeito do tempo de estocagem.

Nas **Tab. 13 a 19** são demonstrados os perfis lipídicos das diferentes formulações estudadas, irradiadas com acelerador de elétrons e armazenadas por 45 dias e 90 dias.

Não foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) nas concentrações do ácido palmítico (16:0) presentes em todas as formulações estudadas.

Nas concentrações do ácido esteárico (18:0) foram notadas algumas diferenças. Nas amostras formuladas com orégano após 45 dias de estocagem houve uma redução significativa ($p < 0,05$) destes ácidos graxos nas amostras irradiadas com ambas doses de irradiação em relação à amostra não-irradiada. Após 90 dias de estocagem todos os valores se mostraram significativamente ($p < 0,05$) reduzidos quando comparados aos primeiros 45 dias de estocagem, à exceção da amostra irradiada com 3,5kGy (**Tab. 15**). Na amostra formulada com alecrim+orégano foi observada uma redução significativa ($p < 0,05$) na amostra irradiada com 3,5kGy nos primeiros 45 dias de estocagem, mas após 90 dias os valores se igualaram às demais amostras do grupo (**Tab. 16**), o mesmo ocorrendo com a amostra formulada com BHT/BHA+orégano (**Tab. 18**).

A concentração do ácido palmitoléico (16:1) aumentou significativamente ($p < 0,05$) após a irradiação com 3,5kGy, mas aumentou moderadamente com 7kGy nas amostras formuladas com BHT/BHA após 45 dias de estocagem, sendo que após 90 dias de estocagem seus valores diminuíram (**Tab. 13**). O mesmo comportamento foi notado na amostra formulada com o alecrim e com o orégano apesar de que a diferença neste caso não foi significativa ($p < 0,05$) (**Tab. 14 e 15**). Nas amostras formuladas com alecrim+orégano foi observada uma redução significativa ($p < 0,05$) em todas as doses de irradiação após 90 dias de estocagem em relação aos primeiros 45 dias, sendo que neste período de estocagem já foi observada uma redução significativa ($p < 0,05$) com o emprego da dose de irradiação de 7kGy (**Tab. 16**). Reduções significativas ($p < 0,05$) após 90 dias de estocagem em

relação aos primeiros 45 dias também foram observadas nas amostras formuladas com BHT/BHA+alecrim, BHT/BHA+orégano e sem antioxidantes, sendo que nestas três formulações a redução do ácido palmitoléico (16:1) também foi percebida com o uso de 7kGy mesmo com os 45 dias iniciais de estocagem (**Tab. 17, 18 e 19**).

O ácido oléico (18:1) não diferiu significativamente ($p < 0,05$) nas amostras formuladas com BHT/BHA e nas amostras formuladas sem antioxidantes em nenhuma das doses empregadas, nem pelo tempo de estocagem. Entretanto, nas amostras formuladas com alecrim, orégano, alecrim+orégano, BHT/BHA+orégano foi observado um aumento significativo ($p < 0,05$) na concentração deste ácido graxo por ação do tempo de estocagem, ou seja, após 90 dias em relação aos 45 dias. Nas amostras formuladas com alecrim, com alecrim+orégano e com BHT/BHA+orégano este aumento é notado nas amostras não-irradiadas (**Tab. 14, 16 e 18**), na amostra com orégano é notado na não-irradiada e na irradiada com 7kGy (**Tab. 15**). Na amostra com alecrim+orégano e BHT/BHA+alecrim (**Tab. 16 e 17**) já se nota um aumento significativo ($p < 0,05$) entre as amostras não-irradiadas e irradiadas com 3,5 e 7kGy nos primeiros 45 dias de estocagem.

As concentrações do ácido linoléico (18:2) não diferiram significativamente ($p < 0,05$) em quase todas as amostras, à exceção das amostras formuladas com orégano onde se observa um aumento significativo ($p < 0,05$) com 45 dias de estocagem entre as amostras não-irradiadas e irradiadas com 3,5kGy (**Tab. 15**), este mesmo aumento é observado também na amostra formulada com BHT/BHA+orégano (**Tab. 18**) Após 90 dias observa-se um aumento significativo ($p < 0,05$) também entre as amostras não-irradiadas em relação aos 45 dias (**Tab. 15**).

O ácido α -linolênico (18:3) apresentou uma redução significativa ($p < 0,05$) nas amostra formuladas com alecrim+orégano nos primeiros 45 dias de estocagem entre as doses de 0 e 3,5kGy comparadas com 7kGy, quando se atingiu 90 dias de estocagem esta redução foi notada também nas amostras de 0 e 3,5kGy comparadas aos primeiros 45 dias (**Tab. 16**), este mesmo comportamento também foi observado nas amostras formuladas com BHT/BHA+alecrim e BHT/BHA+orégano (**Tab. 17 e 18**).

O ácido araquidônico (20:4) apresentou também uma redução significativa ($p < 0,05$) nas amostras formuladas com alecrim, orégano, alecrim+orégano e também na amostra formulada com BHT/BHA+alecrim nos primeiros 45 dias de estocagem com o emprego das doses de 3,5kGy e 7kGy (**Tab. 14, 15, 16 e 17**). Após os 90 dias de estocagem não houve mais diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) nas concentrações deste ácido graxo.

As amostras irradiadas com acelerador de elétrons quando analisadas após 45 dias de estocagem apresentaram um perfil atípico em algumas amostras, visto que em algumas situações a quantidade de ácidos graxos *trans* nas amostras não-irradiadas foi maior que nas amostras irradiadas (**Tab. 14, 16 e 17**), isso foi mais evidente quando foram comparadas as amostras não-irradiadas com as irradiadas com dose de 3,5kGy, mas estas diferenças só foram estatisticamente significativa ($p < 0,05$) nas amostras formuladas com alecrim.

Nas amostras formuladas com orégano (**Tab. 15**) foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as amostras não-irradiadas e irradiadas com 3,5kGy e 7kGy nos primeiros 45 dias de estocagem, porém não foram significativamente diferentes ($p < 0,05$) quando comparadas as duas doses de irradiação, além de que houve uma redução nos valores dos isômeros *trans* após 90 dias de estocagem, porém esta redução não foi significativa ($p < 0,05$). Nas amostras formuladas com alecrim e com BHT/BHA+orégano foi observado um aumento significativo ($p < 0,05$) na concentração dos isômeros *trans* após 45 dias de estocagem e ao compararmos as amostras não-irradiadas com as irradiadas com 7kGy (**Tab. 14 e 18**). As únicas amostras que apresentaram aumento nas concentrações dos isômeros *trans* após 90 dias de estocagem foi a formulada com alecrim+orégano quando também foram comparadas as amostras não-irradiadas com as irradiadas com 7kGy (**Tab. 16**).

Tabela 13: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado com BHT/BHA irradiado com Aceleradores de Elétrons expresso em g/100g* de amostra.

Ácido Graxo	45 Dias			90 Dias		
	OkGy	3,5kGy	7kGy	OkGy	3,5kGy	7kGy
14:0 – Mirístico	0,82±0,07	0,91±0,09	0,79±0,04	0,89±0,03	0,79±0,09	0,92±0,03
15:0 - Pentadecanóico	0,14±0,01	0,15±0,01	0,14±0,00	0,16±0,01	0,14±0,01	0,16±0,01
16:0 – Palmítico	4,84±0,05 ^{Aa}	4,87±0,10 ^{Aa}	4,81±0,08 ^{Aa}	5,01±0,08 ^{Aa}	5,24±0,42 ^{Aa}	4,96±0,07 ^{Aa}
17:0 – Margárico	0,27±0,01	0,26±0,01	0,27±0,00	0,24±0,00	0,24±0,03	0,25±0,01
18:0 – Esteárico	4,00±0,27 ^{Aa}	3,67±0,19 ^{Aa}	3,92±0,15 ^{Aa}	3,92±0,11 ^{Aa}	4,14±0,69 ^{Aa}	3,84±0,11 ^{Aa}
14:1 – Miristoléico	0,20±0,02	0,23±0,03	0,19±0,02	0,23±0,01	0,20±0,04	0,23±0,01
16:1 – Palmitoléico	0,49±0,04 ^{Aa}	0,68±0,04 ^{Ba}	0,61±0,03 ^{ABa}	0,47±0,02 ^{Aa}	0,47±0,11 ^{Ab}	0,49±0,02 ^{Aa}
17:1 – Heptadecenóico	0,14±0,01	0,15±0,01	0,14±0,00	0,14±0,00	0,14±0,03	0,14±0,01
18:1 – Oléico	6,52±0,18 ^{Aa}	6,69±0,09 ^{Aa}	6,81±0,05 ^{Aa}	6,60±0,15 ^{Aa}	6,44±0,68 ^{Aa}	6,64±0,12 ^{Aa}
18:2 – Linoléico	0,70±0,26 ^{Aa}	0,50±0,03 ^{Aa}	0,48±0,02 ^{Aa}	0,49±0,02 ^{Aa}	0,47±0,10 ^{Aa}	0,50±0,03 ^{Aa}
18:3 – α-linolênico	0,11±0,02 ^{Aa}	0,12±0,01 ^{Aa}	0,10±0,00 ^{Aa}	0,10±0,00 ^{Aa}	0,07±0,05 ^{Aa}	0,10±0,00 ^{Aa}
20:4 – Araquidônico	0,07±0,01 ^{Aa}	0,06±0,00 ^{Aa}	0,06±0,00 ^{Aa}	0,07±0,00 ^{Aa}	0,06±0,03 ^{Aa}	0,06±0,01 ^{Aa}
22:5 - Docosapentaenóico	0,05±0,02	0,03±0,00	0,03±0,00	0,04±0,00	0,03±0,01	0,03±0,01
18:1t	0,71±0,02	0,60±0,02	0,63±0,02	0,56±0,01	0,53±0,01	0,62±0,02
18:2t	0,00±0,00	0,13±0,00	0,08±0,04	0,13±0,01	0,10±0,05	0,13±0,01
Saturados	10,07±0,31 ^{Aa}	9,87±0,13 ^{Aa}	9,93±0,05 ^{Aa}	10,22±0,19 ^{Aa}	10,55±1,05 ^{Aa}	10,12±0,17 ^{Aa}
Monoinsaturados	7,35±0,25 ^{Aa}	7,76±0,10 ^{Aa}	7,75±0,02 ^{Aa}	7,44±0,17 ^{Aa}	7,25±0,83 ^{Aa}	7,49±0,14 ^{Aa}
Polinsaturados	0,93±0,26 ^{Aa}	0,71±0,04 ^{Aa}	0,67±0,03 ^{Aa}	0,70±0,03 ^{Aa}	0,63±0,18 ^{Aa}	0,69±0,03 ^{Aa}
Trans	0,71±0,02 ^{Aa}	0,73±0,03 ^{Aa}	0,71±0,04 ^{Aa}	0,69±0,03 ^{ABa}	0,63±0,06 ^{Ab}	0,75±0,02 ^{Ba}

(*) = médias, ± desvio-padrão, (n=3)

Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% (p<0,05).

Letras maiúsculas na mesma linha indicam comparações entre as diferentes doses de irradiação dentro de um mesmo tempo de estocagem (45 dias ou 90 dias).

Letras minúsculas na mesma linha indicam comparações entre doses iguais de irradiação (0kGy; 3,5kGy e 7kGy) em tempos de estocagem diferentes.

Tabela 14: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado com Alecrim irradiado com Aceleradores de Elétrons expresso em g/100g* de amostra.

Ácido Graxo	45 Dias			90 Dias		
	OkGy	3,5kGy	7kGy	OkGy	3,5kGy	7kGy
14:0 – Mirístico	0,90±0,03	1,09±0,16	0,81±0,03	0,83±0,02	0,80±0,10	0,95±0,03
15:0 - Pentadecanóico	0,15±0,00	0,14±0,01	0,13±0,00	0,16±0,04	0,13±0,01	0,14±0,00
16:0 – Palmítico	4,87±0,06 ^{Aa}	4,86±0,09 ^{Aa}	4,80±0,13 ^{Aa}	4,95±0,04 ^{Aa}	4,87±0,13 ^{Aa}	4,93±0,09 ^{Aa}
17:0 – Margárico	0,26±0,00	0,26±0,01	0,27±0,00	0,24±0,01	0,24±0,00	0,24±0,00
18:0 – Esteárico	4,04±0,29 ^{Aa}	3,57±0,19 ^{Aa}	3,93±0,09 ^{Aa}	3,68±0,24 ^{Aa}	3,84±0,15 ^{Aa}	3,58±0,09 ^{Aa}
14:1 – Miristoléico	0,23±0,01	0,27±0,01	0,19±0,03	0,16±0,05	0,19±0,02	0,24±0,02
16:1 – Palmitoléico	0,49±0,02 ^{Aa}	0,64±0,12 ^{Aa}	0,58±0,05 ^{Aa}	0,48±0,06 ^{Aa}	0,44±0,04 ^{Ab}	0,50±0,02 ^{Aa}
17:1 – Heptadecenóico	0,15±0,02	0,15±0,01	0,13±0,00	0,13±0,00	0,14±0,00	0,15±0,01
18:1 – Oléico	6,52±0,14 ^{Aa}	6,79±0,01 ^{Aa}	6,85±0,12 ^{Aa}	7,09±0,31 ^{Ab}	7,05±0,15 ^{Aa}	6,95±0,15 ^{Aa}
18:2 – Linoléico	0,47±0,13 ^{Aa}	0,40±0,08 ^{Aa}	0,36±0,02 ^{Aa}	0,37±0,05 ^{Aa}	0,40±0,02 ^{Aa}	0,40±0,02 ^{Aa}
18:3 – α-linolênico	0,09±0,01 ^{Aa}	0,09±0,01 ^{Aa}	0,08±0,00 ^{Aa}	0,05±0,04 ^{Aa}	0,08±0,01 ^{Aa}	0,09±0,00 ^{Aa}
20:4 – Araquidônico	0,06±0,01 ^{Aa}	0,04±0,00 ^{Ba}	0,04±0,00 ^{Ba}	0,05±0,00 ^{Aa}	0,05±0,00 ^{Aa}	0,05±0,00 ^{Aa}
22:5 - Docosapentaenóico	0,04±0,00	0,04±0,01	0,03±0,00	0,03±0,01	0,04±0,00	0,03±0,00
18:1t	0,66±0,03	0,66±0,00	0,75±0,01	0,71±0,05	0,67±0,03	0,67±0,01
18:2t	0,14±0,00	0,05±0,03	0,12±0,00	0,11±0,02	0,13±0,00	0,12±0,00
Saturados	10,21±0,34 ^{Aa}	9,92±0,26 ^{Aa}	9,95±0,07 ^{Aa}	9,86±0,18 ^{Aa}	9,88±0,11 ^{Aa}	9,85±0,18 ^{Aa}
Monoinsaturados	7,39±0,16 ^{Aa}	7,85±0,15 ^{Aa}	7,75±0,08 ^{Aa}	7,87±0,31 ^{Aa}	7,82±0,10 ^{Aa}	7,85±0,18 ^{Aa}
Polinsaturados	0,67±0,16 ^{Aa}	0,58±0,10 ^{Aa}	0,50±0,02 ^{Aa}	0,58±0,01 ^{Aa}	0,56±0,04 ^{Aa}	0,58±0,03 ^{Aa}
Trans	0,80±0,04 ^{ACa}	0,72±0,03 ^{Aa}	0,86±0,01 ^{BCa}	0,82±0,06 ^{Aa}	0,80±0,03 ^{Aa}	0,78±0,01 ^{Aa}

(*) = médias, ± desvio-padrão, (n=3)

Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% (p<0,05).

Letras maiúsculas na mesma linha indicam comparações entre as diferentes doses de irradiação dentro de um mesmo tempo de estocagem (45 dias ou 90 dias).

Letras minúsculas na mesma linha indicam comparações entre doses iguais de irradiação (0kGy; 3,5kGy e 7kGy) em tempos de estocagem diferentes.

Tabela 15: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado com Orégano irradiado com Aceleradores de Elétrons expresso em g/100g* de amostra.

Ácido Graxo	45 Dias			90 Dias		
	OkGy	3,5kGy	7kGy	OkGy	3,5kGy	7kGy
14:0 – Mirístico	0,74±0,08	0,96±0,08	0,84±0,03	0,93±0,03	0,93±0,04	0,94±0,07
15:0 - Pentadecanóico	0,14±0,01	0,15±0,01	0,14±0,00	0,16±0,00	0,15±0,00	0,16±0,00
16:0 – Palmítico	4,89±0,02 ^{Aa}	4,90±0,05 ^{Aa}	4,93±0,07 ^{Aa}	4,99±0,06 ^{Aa}	4,95±0,01 ^{Aa}	4,91±0,10 ^{Aa}
17:0 – Margárico	0,28±0,01	0,28±0,02	0,26±0,00	0,24±0,00	0,24±0,01	0,24±0,00
18:0 – Esteárico	4,79±0,12 ^{Aa}	3,58±0,09 ^{Ba}	3,99±0,10 ^{Ca}	3,71±0,14 ^{Ab}	3,68±0,15 ^{Aa}	3,46±0,15 ^{Ab}
14:1 – Miristoléico	0,17±0,03	0,24±0,03	0,21±0,01	0,25±0,03	0,23±0,03	0,25±0,01
16:1 – Palmitoléico	0,43±0,03 ^{Aa}	0,67±0,03 ^{Ba}	0,58±0,01 ^{Ba}	0,49±0,04 ^{Aa}	0,49±0,05 ^{Ab}	0,53±0,04 ^{Aa}
17:1 – Heptadecenóico	0,13±0,01	0,15±0,00	0,14±0,00	0,15±0,01	0,15±0,00	0,16±0,01
18:1 – Oléico	6,26±0,03 ^{Aa}	6,62±0,05 ^{Aa}	6,53±0,10 ^{Aa}	6,79±0,15 ^{Ab}	6,83±0,05 ^{Aa}	6,98±0,29 ^{Ab}
18:2 – Linoléico	0,37±0,01 ^{Aa}	0,44±0,01 ^{Ba}	0,39±0,01 ^{ABa}	0,44±0,02 ^{Ab}	0,45±0,02 ^{Aa}	0,45±0,03 ^{Ab}
18:3 – α-linolênico	0,08±0,01 ^{Aa}	0,10±0,00 ^{Ba}	0,09±0,00 ^{ABa}	0,09±0,00 ^{Aa}	0,09±0,00 ^{Aa}	0,08±0,00 ^{Aa}
20:4 – Araquidônico	0,05±0,00 ^{ABa}	0,06±0,01 ^{Aa}	0,04±0,01 ^{Ba}	0,06±0,00 ^{Aa}	0,06±0,01 ^{Aa}	0,05±0,01 ^{Aa}
22:5 - Docosapentaenóico	0,03±0,00	0,03±0,00	0,02±0,00	0,04±0,00	0,04±0,00	0,03±0,00
18:1t	0,55±0,01	0,69±0,02	0,81±0,02	0,61±0,02	0,66±0,02	0,68±0,01
18:2t	0,15±0,02	0,18±0,03	0,08±0,04	0,13±0,01	0,13±0,01	0,12±0,00
Saturados	10,83±0,03 ^{Aa}	9,88±0,07 ^{Ba}	10,17±0,12 ^{Ba}	10,03±0,15 ^{Ab}	9,95±0,13 ^{Aa}	9,72±0,32 ^{Aa}
Monoinsaturados	7,00±0,04 ^{Aa}	7,68±0,11 ^{Ba}	7,46±0,11 ^{ABa}	7,67±0,19 ^{Ab}	7,69±0,12 ^{Aa}	7,92±0,34 ^{Aa}
Polinsaturados	0,54±0,01 ^{Aa}	0,63±0,00 ^{Ba}	0,54±0,01 ^{Ab}	0,63±0,03 ^{Ab}	0,63±0,03 ^{Aa}	0,62±0,04 ^{Ab}
Trans	0,70±0,02 ^{Aa}	0,87±0,05 ^{Ba}	0,89±0,05 ^{Ba}	0,74±0,03 ^{Aa}	0,79±0,03 ^{Aa}	0,80±0,01 ^{Aa}

(*) = médias, ± desvio-padrão, (n=3)

Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% (p<0,05).

Letras maiúsculas na mesma linha indicam comparações entre as diferentes doses de irradiação dentro de um mesmo tempo de estocagem (45 dias ou 90 dias).

Letras minúsculas na mesma linha indicam comparações entre doses iguais de irradiação (0kGy; 3,5kGy e 7kGy) em tempos de estocagem diferentes.

Tabela 16: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado com Alecrim e Orégano irradiado com Aceleradores de Elétrons expresso em g/100g* de amostra.

Ácido Graxo	45 Dias			90 Dias		
	OkGy	3,5kGy	7kGy	OkGy	3,5kGy	7kGy
14:0 – Mirístico	0,91±0,04	1,08±0,06	0,79±0,04	0,89±0,03	0,90±0,03	0,75±0,19
15:0 - Pentadecanóico	0,16±0,03	0,17±0,00	0,14±0,01	0,15±0,00	0,15±0,00	0,13±0,02
16:0 – Palmítico	4,82±0,14 ^{Aa}	5,04±0,11 ^{Aa}	4,79±0,05 ^{Aa}	4,91±0,02 ^{Aa}	4,89±0,03 ^{Aa}	4,73±0,26 ^{Aa}
17:0 – Margárico	0,27±0,01	0,26±0,01	0,27±0,01	0,25±0,01	0,26±0,00	0,27±0,00
18:0 – Esteárico	4,53±0,16 ^{Aa}	3,62±0,15 ^{Bb}	4,52±0,16 ^{Aa}	4,37±0,07 ^{Aa}	4,36±0,05 ^{Ab}	4,78±0,57 ^{Aa}
14:1 – Miristoléico	0,19±0,02	0,22±0,02	0,14±0,01	0,17±0,01	0,17±0,01	0,13±0,05
16:1 – Palmitoléico	0,63±0,06 ^{Aa}	0,64±0,03 ^{Aa}	0,47±0,02 ^{Ba}	0,38±0,00 ^{Ab}	0,36±0,00 ^{Ab}	0,32±0,08 ^{Ab}
17:1 – Heptadecenóico	0,14±0,02	0,14±0,00	0,12±0,00	0,12±0,00	0,12±0,01	0,11±0,01
18:1 – Oléico	5,91±0,24 ^{Aa}	6,30±0,04 ^{Ba}	6,41±0,06 ^{Ba}	6,36±0,04 ^{Ab}	6,29±0,06 ^{Aa}	6,33±0,03 ^{Aa}
18:2 – Linoléico	0,46±0,13 ^{Aa}	0,52±0,03 ^{Aa}	0,38±0,03 ^{Aa}	0,38±0,02 ^{Aa}	0,42±0,02 ^{Aa}	0,35±0,04 ^{Aa}
18:3 – α-linolênico	0,10±0,01 ^{Aa}	0,11±0,00 ^{Aa}	0,08±0,00 ^{Ba}	0,08±0,00 ^{Ab}	0,08±0,00 ^{Ab}	0,07±0,01 ^{Aa}
20:4 – Araquidônico	0,06±0,01 ^{ABa}	0,08±0,02 ^{Aa}	0,04±0,01 ^{Ba}	0,05±0,01 ^{Aa}	0,05±0,00 ^{Ab}	0,03±0,00 ^{Aa}
22:5 - Docosapentaenóico	0,04±0,00	0,05±0,00	0,04±0,00	0,05±0,00	0,05±0,00	0,03±0,00
18:1t	0,69±0,01	0,75±0,02	0,84±0,07	0,75±0,01	0,81±0,01	0,93±0,07
18:2t	0,16±0,04	0,09±0,03	0,03±0,02	0,14±0,00	0,14±0,01	0,10±0,00
Saturados	10,70±0,31 ^{Aa}	10,16±0,06 ^{Ba}	10,52±0,09 ^{ABa}	10,57±0,03 ^{Aa}	10,57±0,03 ^{Ab}	10,66±0,10 ^{Aa}
Monoinsaturados	6,86±0,31 ^{Aa}	7,30±0,06 ^{Ba}	7,14±0,10 ^{ABa}	7,03±0,05 ^{Aa}	6,94±0,05 ^{Aa}	6,89±0,11 ^{Aa}
Polinsaturados	0,66±0,15 ^{ABa}	0,76±0,05 ^{Aa}	0,54±0,04 ^{Ba}	0,56±0,04 ^{Aa}	0,60±0,03 ^{Aa}	0,48±0,06 ^{Aa}
Trans	0,85±0,06 ^{Aa}	0,84±0,04 ^{Aa}	0,87±0,07 ^{Aa}	0,89±0,01 ^{Aa}	0,95±0,01 ^{Aa}	1,03±0,07 ^{Bb}

(*) = médias, ± desvio-padrão, (n=3)

Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% (p<0,05).

Letras maiúsculas na mesma linha indicam comparações entre as diferentes doses de irradiação dentro de um mesmo tempo de estocagem (45 dias ou 90 dias).

Letras minúsculas na mesma linha indicam comparações entre doses iguais de irradiação (0kGy; 3,5kGy e 7kGy) em tempos de estocagem diferentes.

Tabela 17: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado com BHT/BHA e Alecrim irradiado com Aceleradores de Elétrons expresso em g/100g* de amostra.

Ácido Graxo	45 Dias			90 Dias		
	OkGy	3,5kGy	7kGy	OkGy	3,5kGy	7kGy
14:0 – Mirístico	0,84±0,01	1,03±0,04	0,78±0,02	0,85±0,01	0,90±0,01	0,86±0,16
15:0 - Pentadecanóico	0,14±0,01	0,15±0,01	0,13±0,00	0,14±0,00	0,14±0,00	0,14±0,02
16:0 – Palmítico	4,77±0,11 ^{Aa}	4,82±0,08 ^{Aa}	4,73±0,05 ^{Aa}	4,74±0,04 ^{Aa}	4,84±0,01 ^{Aa}	4,80±0,16 ^{Aa}
17:0 – Margárico	0,29±0,03	0,27±0,01	0,27±0,00	0,26±0,00	0,25±0,00	0,26±0,01
18:0 – Esteárico	4,24±0,34 ^{Aa}	3,73±0,09 ^{Aa}	4,06±0,07 ^{Aa}	4,15±0,05 ^{Aa}	4,07±0,03 ^{Aa}	4,19±0,45 ^{Aa}
14:1 – Miristoléico	0,18±0,01	0,21±0,02	0,16±0,01	0,17±0,00	0,19±0,01	0,17±0,03
16:1 – Palmitoléico	0,51±0,02 ^{Aa}	0,62±0,03 ^{Ba}	0,52±0,01 ^{Aa}	0,40±0,01 ^{Ab}	0,39±0,01 ^{Ab}	0,38±0,06 ^{Ab}
17:1 – Heptadecenóico	0,14±0,02	0,14±0,00	0,13±0,00	0,14±0,00	0,13±0,01	0,13±0,01
18:1 – Oléico	6,40±0,41 ^{Aa}	6,51±0,08 ^{ABa}	6,92±0,02 ^{Ba}	6,79±0,13 ^{Aa}	6,73±0,02 ^{Aa}	6,72±0,07 ^{Aa}
18:2 – Linoléico	0,45±0,08 ^{ABa}	0,52±0,04 ^{Aa}	0,37±0,01 ^{Ba}	0,41±0,02 ^{Aa}	0,40±0,00 ^{Ab}	0,40±0,03 ^{Aa}
18:3 – α-linolênico	0,10±0,00 ^{Aa}	0,11±0,00 ^{Ab}	0,08±0,00 ^{Ba}	0,08±0,00 ^{Ab}	0,08±0,00 ^{Ab}	0,08±0,01 ^{Aa}
20:4 – Araquidônico	0,06±0,01 ^{Aa}	0,08±0,01 ^{Ba}	0,04±0,00 ^{Ca}	0,05±0,00 ^{Aa}	0,04±0,00 ^{Ab}	0,05±0,01 ^{Aa}
22:5 - Docosapentaenóico	0,04±0,00	0,05±0,00	0,03±0,00	0,04±0,00	0,04±0,00	0,04±0,00
18:1t	0,72±0,02	0,72±0,02	0,74±0,00	0,73±0,01	0,73±0,01	0,75±0,02
18:2t	0,18±0,06	0,10±0,05	0,10±0,04	0,12±0,00	0,14±0,01	0,12±0,01
Saturados	10,29±0,47 ^{Aa}	10,00±0,18 ^{Aa}	9,96±0,02 ^{Aa}	10,15±0,10 ^{Aa}	10,20±0,04 ^{Aa}	10,24±0,12 ^{Aa}
Monoinsaturados	7,23±0,45 ^{Aa}	7,49±0,10 ^{Aa}	7,74±0,04 ^{Aa}	7,50±0,13 ^{Aa}	7,44±0,02 ^{Aa}	7,40±0,11 ^{Aa}
Polinsaturados	0,65±0,08 ^{Aa}	0,75±0,06 ^{Aa}	0,52±0,02 ^{Aa}	0,57±0,03 ^{Aa}	0,56±0,01 ^{Ab}	0,56±0,05 ^{Aa}
Trans	0,90±0,06 ^{Aa}	0,83±0,06 ^{Aa}	0,84±0,04 ^{Aa}	0,85±0,00 ^{Aa}	0,86±0,01 ^{Aa}	0,86±0,01 ^{Aa}

(*) = médias, ± desvio-padrão, (n=3)

Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% (p<0,05).

Letras maiúsculas na mesma linha indicam comparações entre as diferentes doses de irradiação dentro de um mesmo tempo de estocagem (45 dias ou 90 dias).

Letras minúsculas na mesma linha indicam comparações entre doses iguais de irradiação (0kGy; 3,5kGy e 7kGy) em tempos de estocagem diferentes.

Tabela 18: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado com BHT/BHA e Orégano irradiado com Aceleradores de Elétrons expresso em g/100g* de amostra.

Ácido Graxo	45 Dias			90 Dias		
	OkGy	3,5kGy	7kGy	OkGy	3,5kGy	7kGy
14:0 – Mirístico	0,92±0,00	0,89±0,10	0,78±0,05	0,82±0,09	0,93±0,01	0,98±0,04
15:0 - Pentadecanóico	0,17±0,00	0,15±0,01	0,14±0,01	0,15±0,01	0,15±0,00	0,16±0,00
16:0 – Palmítico	4,96±0,00 ^{Aa}	4,82±0,19 ^{Aa}	4,79±0,05 ^{Aa}	4,71±0,24 ^{Aa}	4,95±0,05 ^{Aa}	4,94±0,07 ^{Aa}
17:0 – Margárico	0,31±0,00	0,26±0,00	0,26±0,01	0,25±0,01	0,24±0,01	0,25±0,00
18:0 – Esteárico	3,92±0,00 ^{Aa}	3,36±0,28 ^{Ba}	3,86±0,30 ^{ABa}	3,48±0,11 ^{Aa}	3,55±0,11 ^{Aa}	3,48±0,10 ^{Aa}
14:1 – Miristoléico	0,24±0,00	0,25±0,02	0,20±0,02	0,21±0,02	0,24±0,00	0,26±0,01
16:1 – Palmitoléico	0,64±0,00 ^{ABa}	0,69±0,05 ^{Aa}	0,59±0,04 ^{Ba}	0,48±0,05 ^{Ab}	0,49±0,02 ^{Ab}	0,52±0,02 ^{Ab}
17:1 – Heptadecenóico	0,14±0,00	0,15±0,01	0,15±0,01	0,16±0,01	0,15±0,00	0,15±0,00
18:1 – Oléico	6,38±0,00 ^{Aa}	6,96±0,17 ^{Aa}	6,83±0,17 ^{Aa}	7,34±0,47 ^{Ab}	6,91±0,07 ^{Aa}	6,89±0,05 ^{Aa}
18:2 – Linoléico	0,44±0,00 ^{Aa}	0,59±0,10 ^{Ba}	0,46±0,04 ^{Aa}	0,46±0,04 ^{Aa}	0,47±0,01 ^{Aa}	0,47±0,01 ^{Aa}
18:3 – α-linolênico	0,11±0,00 ^{Aa}	0,11±0,01 ^{Aa}	0,10±0,01 ^{Aa}	0,09±0,01 ^{Ab}	0,09±0,00 ^{Ab}	0,10±0,00 ^{Aa}
20:4 – Araquidônico	0,07±0,00 ^{Aa}	0,07±0,01 ^{Aa}	0,06±0,01 ^{Aa}	0,06±0,01 ^{Aa}	0,06±0,00 ^{Aa}	0,06±0,00 ^{Aa}
22:5 - Docosapentaenóico	0,05±0,00	0,04±0,01	0,04±0,00	0,04±0,01	0,04±0,00	0,04±0,00
18:1t	0,54±0,00	0,64±0,03	0,74±0,06	0,67±0,02	0,65±0,03	0,66±0,01
18:2t	0,17±0,00	0,09±0,03	0,06±0,03	0,13±0,01	0,14±0,01	0,12±0,01
Saturados	10,28±0,00 ^{Aa}	9,48±0,19 ^{Ba}	9,84±0,25 ^{ABa}	9,41±0,37 ^{Ab}	9,82±0,05 ^{Aa}	9,79±0,01 ^{Aa}
Monoinsaturados	7,40±0,00 ^{Aa}	8,05±0,11 ^{Ba}	7,76±0,24 ^{ABa}	8,20±0,42 ^{Ab}	7,79±0,09 ^{Aa}	7,82±0,03 ^{Aa}
Polinsaturados	0,68±0,00 ^{Aa}	0,81±0,12 ^{Aa}	0,66±0,06 ^{Aa}	0,65±0,07 ^{Aa}	0,66±0,02 ^{Aa}	0,67±0,02 ^{Aa}
Trans	0,70±0,00 ^{Aa}	0,73±0,05 ^{ABa}	0,81±0,06 ^{Ba}	0,80±0,03 ^{Aa}	0,79±0,03 ^{Aa}	0,78±0,02 ^{Aa}

(*) = médias, ± desvio-padrão, (n=3)

Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% (p<0,05).

Letras maiúsculas na mesma linha indicam comparações entre as diferentes doses de irradiação dentro de um mesmo tempo de estocagem (45 dias ou 90 dias).

Letras minúsculas na mesma linha indicam comparações entre doses iguais de irradiação (0kGy; 3,5kGy e 7kGy) em tempos de estocagem diferentes.

Tabela 19: Perfil dos ácidos graxos de hambúrgueres de carne bovina formulado sem antioxidantes irradiado com Aceleradores de Elétrons expresso em g/100g* de amostra.

Ácido Graxo	45 Dias			90 Dias		
	OkGy	3,5kGy	7kGy	OkGy	3,5kGy	7kGy
14:0 – Mirístico	0,88±0,04	1,00±0,05	0,83±0,06	0,85±0,01	0,84±0,10	0,95±0,01
15:0 - Pentadecanóico	0,14±0,01	0,16±0,00	0,15±0,00	0,15±0,00	0,15±0,00	0,16±0,00
16:0 – Palmítico	4,91±0,03 ^{Aa}	5,15±0,03 ^{Aa}	4,99±0,03 ^{Aa}	4,91±0,04 ^{Aa}	5,32±0,59 ^{Aa}	4,96±0,04 ^{Aa}
17:0 – Margárico	0,26±0,00	0,24±0,00	0,27±0,01	0,26±0,00	0,26±0,04	0,24±0,01
18:0 – Esteárico	3,87±0,03 ^{Aa}	3,35±0,03 ^{Aa}	3,83±0,13 ^{Aa}	3,87±0,11 ^{Aa}	4,06±0,73 ^{Aa}	3,39±0,07 ^{Aa}
14:1 – Miristoléico	0,25±0,03	0,27±0,03	0,21±0,02	0,21±0,01	0,21±0,05	0,25±0,01
16:1 – Palmitoléico	0,53±0,02 ^{Aa}	0,56±0,03 ^{Aa}	0,47±0,04 ^{Aa}	0,46±0,01 ^{Aa}	0,43±0,08 ^{Ab}	0,53±0,01 ^{Aa}
17:1 – Heptadecenóico	0,15±0,00	0,15±0,01	0,15±0,00	0,14±0,01	0,14±0,03	0,16±0,00
18:1 – Oléico	6,73±0,03 ^{Aa}	6,83±0,09 ^{Aa}	6,82±0,06 ^{Aa}	6,84±0,11 ^{Aa}	6,40±0,95 ^{Aa}	6,99±0,05 ^{Aa}
18:2 – Linoléico	0,42±0,01 ^{Aa}	0,47±0,03 ^{Aa}	0,43±0,07 ^{Aa}	0,41±0,02 ^{Aa}	0,35±0,07 ^{Aa}	0,44±0,04 ^{Aa}
18:3 – α-linolênico	0,10±0,00 ^{Aa}	0,10±0,01 ^{Aa}	0,08±0,01 ^{Aa}	0,08±0,00 ^{Aa}	0,07±0,01 ^{Aa}	0,09±0,00 ^{Aa}
20:4 – Araquidônico	0,06±0,01 ^{Aa}	0,06±0,00 ^{Aa}	0,05±0,01 ^{Aa}	0,04±0,00 ^{Aa}	0,04±0,01 ^{Aa}	0,06±0,01 ^{Aa}
22:5 - Docosapentaenóico	0,04±0,00	0,04±0,00	0,03±0,00	0,03±0,00	0,03±0,01	0,03±0,00
18:1t	0,63±0,03	0,65±0,01	0,67±0,07	0,69±0,01	0,64±0,06	0,68±0,01
18:2t	0,10±0,01	0,08±0,00	0,08±0,01	0,12±0,01	0,13±0,01	0,13±0,01
Saturados	10,06±0,03 ^{Aa}	9,90±0,01 ^{Aa}	10,07±0,08 ^{Aa}	10,03±0,12 ^{Aa}	10,64±1,26 ^{Aa}	9,70±0,04 ^{Aa}
Monoinsaturados	7,66±0,02 ^{Aa}	7,82±0,02 ^{Aa}	7,64±0,04 ^{Aa}	7,66±0,13 ^{Aa}	7,18±1,10 ^{Aa}	7,94±0,04 ^{Bb}
Polinsaturados	0,62±0,00 ^{Aa}	0,68±0,04 ^{Aa}	0,60±0,09 ^{Aa}	0,56±0,02 ^{Aa}	0,49±0,09 ^{Ab}	0,62±0,05 ^{Aa}
Trans	0,73±0,04 ^{Aa}	0,73±0,01 ^{Aa}	0,75±0,06 ^{Aa}	0,81±0,02 ^{Aa}	0,76±0,08 ^{Aa}	0,81±0,02 ^{Aa}

(*) = médias, ± desvio-padrão, (n=3)

Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% (p<0,05).

Letras maiúsculas na mesma linha indicam comparações entre as diferentes doses de irradiação dentro de um mesmo tempo de estocagem (45 dias ou 90 dias).

Letras minúsculas na mesma linha indicam comparações entre doses iguais de irradiação (0kGy; 3,5kGy e 7kGy) em tempos de estocagem diferentes.

Nas demais amostras não houve diferença significativa entre os grupos analisados. À exceção das amostras com valores atípicos citadas anteriormente, pode-se observar também uma linearidade entre a dose e a quantidade de AGT, ou seja, conforme aumentou a dose também aumentou a quantidade de ácidos graxos *trans*, mas convém lembrar que este aumento não é significativo do ponto de vista da estatística, ou pelo menos não se mostrou reprodutivo em todas as amostras neste experimento.

A concentração total de ácidos graxos saturados (SFA's), monoinsaturados (MUFA's) e polinsaturados (PUFA's) não diferiram significativamente ($p < 0,05$) nas amostras formuladas com BHT/BHA, alecrim e também formuladas com BHT/BHA+alecrim (**Tab. 13 e 14**).

Nas amostras formuladas com orégano, houve redução significativa ($p < 0,05$) na concentração total dos ácidos graxos saturados nos primeiros 45 dias de estocagem entre as amostras não-irradiadas e irradiadas com ambas doses. Comparando os dois tempos de estocagem ocorreu uma redução significativa ($p < 0,05$) na concentração dos SFA's apenas nas amostras não-irradiadas (**Tab. 15**). Em relação aos ácidos graxos monoinsaturados, houve um aumento significativo ($p < 0,05$) entre as amostras não-irradiadas e irradiadas com 3,5kGy após 45 dias de estocagem. Nas amostras não-irradiadas, o aumento da concentração dos MUFA's foi contínuo e com 90 dias de estocagem a diferença entre os dois tempos de estocagem se tornou significativo ($p < 0,05$). Os PUFA's se mostraram significativamente reduzidos ($p < 0,05$) nestas amostras quando irradiados com 7kGy e comparados com 3,5kGy, mas os valores foram semelhantes às amostras não-irradiadas, fato que tornou essa diferença sem importância para o contexto do experimento.

Nas amostras formuladas com alecrim+orégano observou-se um aumento significativo ($p < 0,05$) na quantidade dos MUFA's nos primeiros 45 dias de estocagem entre as amostras não-irradiadas e irradiadas com 3,5kGy e 7kGy, após 90 dias de estocagem a concentração total destes ácidos graxos aumentou também nas amostras não-irradiadas e então não foi mais percebida esta diferença. Em ambos tempos de estocagem foi notada uma redução na quantidade de PUFA's, mas essa redução só foi significativa nos primeiros 45 dias de estocagem (**Tab. 16**).

Nas amostras formuladas com BHT/BHA+orégano foi notada uma redução na concentração dos SFA's, mas essa redução somente foi significativa ($p<0,05$) entre as amostras não-irradiadas e irradiadas com 3,5kGy após 45 dias de estocagem (**Tab. 18**). A concentração dos PUFA's não diferiu, nem pela irradiação nem pelo tempo de estocagem. A concentração dos MUFA's aumentou significativamente ($p<0,05$) nas amostras não-irradiadas comparando os dois tempos de estocagem, e também aumentou significativamente ($p<0,05$) nos primeiros 45 dias de estocagem comparando as amostras não-irradiadas e irradiadas com 3,5kGy.

Ocorreu um aumento significativo ($p<0,05$) na concentração total dos MUFA's nas amostras formuladas sem antioxidantes após 90 dias de estocagem entre as amostras não-irradiadas e irradiadas com 7kGy e também uma redução significativa ($p<0,05$) nas amostras irradiadas com 3,5kGy entre os tempos 45 e 90 dias de estocagem (**Tab. 19**).

Os resultados obtidos neste estudo diferem de alguns trabalhos anteriores que buscaram analisar se a irradiação induziria a formação de ácidos graxos *trans* em carnes, mas algumas observações deverão ser consideradas. Brito (2002) analisou diversas doses de radiação de 0 à 7kGy e verificou que o tempo de estocagem não alterava a quantidade de ácidos graxos *trans* nos hambúrgueres, porém observou que com uma dose de 1kGy já era possível dobrar a quantidade de ácidos graxos *trans* nas amostras em relação a amostra controle não-irradiada, convém ressaltar que no referido estudo as amostras foram irradiadas em temperatura ambiente (25°C), considerando a taxa de dose empregada pelo irradiador de ^{60}CO que era de 5,8kGy/h, pode-se concluir que as amostras estavam descongeladas durante parte do processo, e a temperatura exerce uma função crítica, visto que quanto maior a atividade de água presente no alimento, maior será a produção de produtos radiolíticos, mais efetiva será a ação direta da irradiação, mais susceptíveis estarão as moléculas de ácidos graxos à irradiação.

As doses de 6, 7 e 8kGy também não se mostraram diferentes entre si, mas a amostra controle não irradiada apresentou uma quantidade muito menor de ácidos graxos *trans*. Em um estudo mais recente, Yilmaz (2006) irradiou carne moída com doses de 1, 3, 5 e 7kGy, e também observou aumento na quantidade

dos ácidos graxos *trans* presentes nas amostras, e esse aumento foi proporcional a dose empregada. No referido trabalho também as amostras estavam em temperatura de resfriamento (2 - 4°C), sendo que a temperatura interna do aparelho era de 18 – 20°C, mantendo uma atividade de água maior nas amostras. No presente trabalho a temperatura foi monitorada durante todo o processo de irradiação, sendo mantida entre –18 e –20°C e este fator pode ter sido a causa pela qual os resultados encontrados foram bastante diferentes. A quantidade de ácidos graxos *trans* nas amostras controles não foi significativamente menor que as amostras irradiadas. Estes resultados nos sugerem correlacionar a formação dos *trans* diretamente à temperatura empregada no processo e não tanto à dose de irradiação empregada no processo (para doses de até 10kGy), visto que outros estudos já demonstraram que uma mudança na conformação das estruturas das macromoléculas só é favorável quando se emprega doses bastante altas de irradiação.

Chen *et al.* (2006) também não observou alterações significativas na quantidade de ácidos graxos *trans* em seu estudo sobre os efeitos da irradiação na composição dos lipídios intramuscular bovino, encontrando algumas vezes valores até mesmo menores do que a amostra controle. No caso do ácido graxo *trans* linolelaídico (18:2 *t*) na amostra controle não-irradiada foi observada uma concentração de 0,22%, após a irradiação com 3,17kGy os valores encontrados foram bem menores (0,07%). Não é relatada no trabalho qual a temperatura exata que ocorreu a irradiação, porém é citado que as amostras foram mantidas a 0°C até o momento da irradiação, e depois foi mantida a 7°C pelo tempo do estudo. Estes resultados e outros encontrados por Chen *et al.* (2006) estão em plena concordância com os resultados que foram vistos neste presente estudo, onde não se consegue estabelecer uma relação de dependência dose específica ou tempo de estocagem para as alterações nas frações *trans*, sendo que em algumas formulações a concentração do ácido linolelaídico (18:2*t*) diminuiu por efeito da irradiação (**Tab. 8, 9, 10, 11, 15, 16, 17 e 18**).

No trabalho de Yilmaz & Geçgel (2006) e também no presente trabalho foi notada uma maior susceptibilidade aos efeitos da irradiação do ácido elaídico (18:1*t*), que foi a fração que mais contribuiu para o aumento expressivo no total de *trans* encontrado. No presente estudo as formulações nas quais o ácido elaídico

(18:1 ω) se mostrou mais susceptível ao aumento causado pela irradiação foram as que continham orégano (**Tab. 8, 9, 10, 11, 15, 16, 17 e 18**), essa susceptibilidade foi maior até mesmo que as amostras formuladas sem antioxidantes, mas isso não significa que a concentração total dos ácidos graxos *trans* tenham sido estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

Geibler *et al.* (2003) analisou o efeito da irradiação gama na isomerização *cis-trans* nos ácidos graxos presentes nas sementes de gergelim e verificou que realmente houve uma formação de *trans* nas sementes, porém do ponto de vista nutricional, não concluiu que fosse significativa. Este trabalho foi conduzido com doses de até 50kGy, e a irradiação somente tornou o alimento inadequado nutricionalmente quando foram empregadas doses acima de 100kGy.

Os valores dos ácidos graxos *trans* encontrados neste estudo, ou seja, 3 - 4% do teor de gordura total das amostras estão de acordo com o que já foi relatado na literatura. Georgantelis *et al.* (2007) analisou a composição de ácidos graxos *trans* presentes em hambúrgueres, e encontrou valores próximos a 3,76% do total de ácidos graxos, sendo que o ácido elaídico (18:1 *trans*) isômero do ácido oléico (18:1) foi o de maior contribuição na quantidade total dos *trans*, estes valores também podem ser observados no presente estudo.

O ácido graxo monoinsaturado de maior quantidade encontrado nas amostras deste trabalho foi o ácido oléico (18:1), esses resultados também foram encontrados por Kim *et al.* (2002), que inclusive verificou que entre as carnes de aves, suínas e bovinas, a maior concentração deste ácido graxo foi visto na carne bovina. Em contra partida neste tipo de carne há uma quantidade muito pequena do ácido araquidônico (20:4), resultado também observado no presente estudo.

No trabalho de Moura (2004) que analisou a composição de ácidos graxos em amostras de hambúrgueres irradiadas para correlacionar com a formação de óxidos de colesterol, preparadas sem adição de antioxidantes, também não observou diferenças estatisticamente significativas entre a quantidade de ácidos graxos em amostras irradiadas e não-irradiadas, mantidas sob vácuo ou aerobiose. No presente trabalho, também não foram observadas alterações drásticas no perfil de ácidos graxos das amostras, inclusive na amostra formulada sem antioxidantes.

De modo geral, as diferenças significativas observadas neste trabalho foram encontradas nos primeiros 45 dias de estocagem, sempre comparando as amostras irradiadas com as não-irradiadas, observa-se que quando se atinge 90 dias de estocagem, geralmente a diferença não se manteve e os valores encontrados se estabilizaram. Resultados semelhantes foram visto por Chen (2006) que comparou a composição dos ácidos graxos saturados em carne bovina irradiada com 0 e 10 dias de estocagem, no trabalho foi observado que a percentagem do ácido palmítico (16:0) aumentou cerca de 12% após a irradiação no dia 0, mas quando analisadas no 10º dia, não se observou mais essa diferença. A percentagem do ácido oléico (18:1) também aumentou pela ação da irradiação, mas não aumentou pela ação da estocagem, o mesmo foi observado em algumas amostras do presente estudo, como as formuladas com extratos naturais, como o alecrim e o orégano.

Kanatt *et al.* (2006) avaliou os efeitos da irradiação com doses de 2,5kGy e 5kGy sobre o perfil lipídico da carne de cordeiro e também não observou diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras estudadas. Entretanto, ressalta que a composição lipídica da carne varia dependendo da região do animal da qual ela é retirada, e a dose limite de radiação também depende deste fator.

Gruis & Kiss (1987) avaliando os efeitos da irradiação em carne de frango congelada, relataram que apenas doses muito altas de irradiação provocaram mudanças significativas no perfil de ácidos graxos, ou seja, dose de 50kGy aumentaram as concentrações do ácido oléico (18:1) e reduziram as concentrações dos ácidos saturados, principalmente dos ácidos palmítico (16:0) e esteárico (18:0).

De forma geral, embora tenham sido observadas algumas diferenças significativas ($p < 0,05$) relatadas ao longo do trabalho, não foi possível estabelecer uma linearidade nestas diferenças de modo que fosse possível analisar a ação dos antioxidantes empregados, sejam naturais ou sintéticos, na proteção contra as alterações na composição dos ácidos graxos nas formulações estudadas, principalmente por que as amostras formuladas sem antioxidantes também não sofreram alterações significativas. Mas a relação dos ácidos graxos saturados, mono e polinsaturados presentes se manteve em todas as formulações e doses de irradiação empregadas. Além disso, a composição dos ácidos graxos em amostras

de carnes bovinas pode variar, não somente pelo processo de preservação pelo qual o material venha a ser submetido, mas também pelo tipo de ração que esses animais recebem, pelo tipo de abate ao qual é submetido, e até mesmo dependente da região do animal da qual é retirada a carne (Valsta *et al.*, 2005; Wood *et al.*, 2003).

Baggio & Bragagnolo (2006) estudou os efeitos de diferentes tempo de estocagem sobre o perfil lipídico de produtos de carnes processados, tais como carne seca, salame suíno, mortadela de frango e chester. Em seus resultados observou que a composição de ácidos graxos durante o tempo de estocagem não diferiu significativamente, e atribui esses resultados aos antioxidantes utilizados nas amostras, tais como o eritorbato de sódio, especiarias e condimentos naturais. Ressalta ainda que as discrepâncias encontradas nos valores de lipídios totais são em virtude das variações das próprias amostras estudadas e não do efeito da estocagem.

As alterações químicas em moléculas específicas decorrentes da irradiação, tais como os ácidos graxos, não têm sido relatadas com frequência. As maiores alterações ocorrem pela oxidação dos ácidos graxos insaturados, e quanto maior o número de oxidação mais sensível se torna o ácido graxo à oxidação, visto que o local mais susceptível ao ataque dos radicais livres é a dupla ligação. A ação dos radicais livres varia em função da quantidade de gordura presente na amostra e da composição desta gordura, bem como da atividade de água do produto, fatores sobre os quais a temperatura e a dose de irradiação empregada exercem uma importante influência (Giroux & Lacroix, 1998).

Poucos trabalhos têm relatado a influência da irradiação sobre compostos bioquímicos específicos presentes nos alimentos, tais como os ácidos graxos *trans*. Maior ênfase tem sido dada a dose requerida para se eliminar determinado microorganismo ou a dose que não comprometa a qualidade sensorial do alimento, porém com as novas descobertas das propriedades nutricionais ou prejudiciais de compostos alimentares, toda tecnologia empregada na conservação ou no melhoramento de um determinado tipo de alimento deve ser acompanhada de estudos paralelos onde se possa averiguar se este processo poderá alterar

significativamente alguma propriedade nutricional deste alimento, de modo que essa alteração seja prejudicial ao consumidor.

5.5. Análise Sensorial (30 dias e 90 dias de estocagem)

A aceitação global das amostras na análise sensorial apresentou comportamento similar em ambos os períodos de estocagem, ou seja, 20 e 90 dias (**Tab. 20**).

Campo *et al.* (2006) tem relatado em seu trabalho que é muito difícil estabelecer um ponto no qual um alimento deve ser rejeitado em razão da oxidação lipídica baseado em percepções sensoriais, pois esta percepção depende do limite pessoal e individual que pode variar em função da experiência, entre outros fatores. Neste trabalho buscou-se avaliar as amostras enquanto ainda estavam dentro de um limite de oxidação, de modo que os provadores conseguissem perceber as diferenças entre os antioxidantes utilizados e também entre uma amostra irradiada e não-irradiada se caso ocorresse.

Tabela 20: Notas atribuídas à aceitação geral na análise sensorial.

Amostras	20 dias	90 dias
BHT/BHA 200ppm – 0kGy	6,73a	5,85ac
BHT/BHA 200ppm – 8kGy	6,55a	6,59a
Orégano 400ppm – 0kGy	6,36a	5,79ad
Orégano 400ppm – 8kGy	6,03ab	5,06cd
Alecrim 400 ppm – 0kGy	3,82c	3,76b
Alecrim 400ppm – 8kGy	5,00bc	5,00cd

Nota: Letras diferentes apresentam valores com diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$).

Percebeu-se, entretanto, que com 20 dias de estocagem, ou seja, logo após sua produção a amostra formulada com BHT/BHA não irradiada recebeu nota maior (6,73) do que a mesma formulação irradiada (6,55). Com 90 dias de estocagem a amostra formulada com BHT/BHA irradiada teve uma melhor nota de aceitação (6,59) do que a não irradiada (5,85), mas ambas diferenças não foram significativas ($p < 0,05$).

Apesar da amostra formulada com extrato aquoso do orégano apresentar uma taxa de oxidação maior entre as amostras testadas, esta amostra teve uma aceitação sensorial melhor do que a amostra formulada com extrato de alecrim e essa diferença foi significativa em ambos períodos de estocagem. Esta menor

aceitação da amostra com extrato de alecrim, em parte se deve ao forte gosto residual da especiaria. Este fato se confirma, ao observarmos, que em ambos períodos a amostra formulada com alecrim irradiada teve melhor aceitação do que a não irradiada, na 1ª análise a diferença entre essas duas amostras não foi significativa, porém na 2ª análise esta diferença foi mais acentuada ($p < 0.05$).

Embora de forma geral as notas dadas pelos provadores aos hambúrgueres tenham sido baixas, isso é explicado pela utilização de provadores não treinados para simular a atitude do consumidor frente ao produto, porém deve ser levado em consideração que o produto em questão, hambúrguer bovino, muito raramente é consumido sozinho, seu consumo é sempre acompanhado por molhos e outros condimentos que alteram e melhoram o sabor do produto (Chirinos *et al.*, 2002). Neste estudo não foi colocado nenhum condimento ou molho de acompanhamento quando o produto foi servido para que não houvesse interferência no gosto apresentado pelas amostras. Kim *et al.* (2002) ao realizar uma análise sensorial de odor com a carne bovina irradiada (3kGy) e não-irradiada, utilizou uma escala hedônica com notas que variaram de 1 a 7, sendo a nota 7 atribuída ao gostei muitíssimo, e encontrou valores baixos para ambas as amostras 2,1 e 2,6 para as não-irradiadas e irradiadas, respectivamente, não sendo significativamente diferentes.

Os resultados apresentados estão de acordo com outros estudos sensoriais envolvendo produtos derivados de carnes e com o uso de antioxidantes naturais e sintéticos. Lee *et al.*, (2005) comparou a adição do extrato de alecrim com o BHA e também com o controle sem antioxidantes, e observou que as amostras tiveram poucas diferenças na aceitação global, porém este estudo foi conduzido logo após a irradiação das amostras. Byun *et al.* (2000) também irradiou salsichas de carne bovina e realizou a análise sensorial destas amostras, e observou que não houve alteração perceptível entre as amostras irradiadas e não irradiadas, também este trabalho foi conduzido logo após a irradiação.

Os relatos na literatura relativos aos efeitos da irradiação sobre as características sensoriais dos alimentos são controversos. Kregel *et al.* (1986) não observou diferença nos atributos sensoriais pesquisados entre os hambúrgueres irradiados e não-irradiados. Da mesma forma, Murano *et al.* (1998) também não

observou alteração em hambúrgueres congelados e irradiados com dose de 2kGy. Já Montgomery *et al.* (2003) com esta mesma dose de irradiação observou a formação de *off-flavour* em todos os hambúrgueres irradiados em relação aos hambúrgueres controle. Mais recentemente, Moura (2004) também observou diferenças significativas ($p < 0,05$) entre amostras irradiadas com 3kGy e 7kGy quando comparadas às amostras controle.

No presente trabalho, não houve diferença significativa entre as amostras irradiadas e não-irradiadas, à exceção da amostra formulada com alecrim. Esta amostra quando irradiada com 8kGy por sua vez apresentou uma nota maior de aceitação quando comparada a mesma formulação não-irradiada.

De acordo com Esteves & Cava (2006), embora o uso de especiarias e óleos essenciais em carnes e produtos gordurosos seja comum e uma tendência na prática industrial, os efeitos destes aditivos pode ser indesejados dependendo da concentração da substância e das características do produto. De acordo com isso, a decisão de usar uma quantidade particular de extratos naturais com propósitos antioxidantes deve ser estudada cuidadosamente considerando as características peculiares de cada tipo de alimento.

Atualmente, já há disponível às indústrias extratos comerciais do alecrim desodorizado por completo, que é de grande valor para o uso em produtos que não se identificam com o gosto residual desta especiaria, porém que desejam utilizar produtos naturais como aditivos em seus produtos.

Formas alternativas de se extrair os compostos antioxidantes das especiarias a fim de otimizar sua atividade, a veiculação do extrato em substâncias resistentes aos processos de preservação e que garantam uma melhor homogeneização na massa do produto, a utilização de extratos desodorizados, estudos de outras concentrações dos extratos para a adição no produto, acompanhamento das mudanças oxidativas em intervalos mais curtos de estocagem, e comparações entre diferentes temperaturas de processo e armazenamento são algumas sugestões de trabalhos que poderão vir a ser realizados com o objetivo de se definir melhor a influência destas variantes sobre um produto.

7. CONCLUSÕES

O extrato de alecrim e o extrato de orégano demonstraram elevados potenciais antioxidantes *in vitro*, porém o alecrim apresentou um melhor desempenho quando utilizado em matriz alimentícia complexa;

A concentração do extrato aquoso de orégano utilizada (400 ppm) conseguiu manter a taxa de oxidação dentro dos níveis comercialmente aceitos (<2 mgSRATB/kg de amostra) pelo período de 90 dias de estocagem somente quando foi utilizado em sinergismo com o alecrim ou com o BHT/BHA, ou quando foi irradiado com a dose 3,5kGy em um acelerador de elétrons;

Os antioxidantes naturais apresentaram potencial antioxidante menor que o sintético. Entretanto, por se tratar de produto natural, com maior aceitação pelo consumidor poderão ser utilizados em concentrações maiores para se atingir o objetivo proposto;

Nem a radiação ionizante, nem os antioxidantes utilizados demonstraram ter alguma influência significativa sobre o perfil lipídico das amostras nem sobre a quantidade de ácidos graxos *trans*, visto que não houve diferença linear significativa dependente da dose empregada entre todas as formulações;

A estocagem exerceu importante influência nas taxas de oxidação das amostras, aumentando sua ocorrência, mas não alterou significativamente o perfil dos ácidos graxos e a quantidade de ácidos graxos *trans*;

Os hambúrgueres com BHT/BHA obtiveram melhores médias na avaliação sensorial, porém entre os formulados com antioxidantes naturais, o de melhor aceitação foi o hambúrguer com orégano. Os resultados, ou seja, a ordem de preferência dos consumidores foi similar na 1ª e 2ª análise.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEPCS. Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína. Consumo per capita das principais carnes, União Européia – 15. **Em Foco – Informativo da Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína – ABIEPCS**, n. 37, 2004.

AHN, D.U.; JO, C.; DU, M.; OLSON, D.G.; NAM, K.C. Quality characteristics of pork patties irradiated and stored in different packaging and storage conditions. **Meat Sci.** v. 56, p. 203-209, 2000.

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

ALMEIDA-DÒRIA, R.F.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B. Antioxidant activity of rosemary and oregano ethanol extracts in soybean oil under thermal oxidation. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 20, n.2, p.197-203, 2000.

AMI. American Meat Institute. **Fact Sheet: Pathogen Control in Ground Beef.** 2005. Disponível em <
[http://www.meatami.com/content/presscenter/factsheets/FSPathogenControlGrou](http://www.meatami.com/content/presscenter/factsheets/FSPathogenControlGroundBeef.pdf)
[ndBeef.pdf](http://www.meatami.com/content/presscenter/factsheets/FSPathogenControlGroundBeef.pdf)>

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Fat (Total, Saturated, and Unsaturated) in Foods. Hydrophilic Extraction Gas Chromatographic Method. **Official Method 996.06**, 2001.

ARO, A.; ANTOINE, J.M.; PIZZOFEERATO, L.; REYKDAL, O.; VAN POPPEL, G. TransFatty Acids in Dairy and Meat Products from 14 European Countries: The TRANSFAIR Study. **J. Food Compos. Anal.**, v. 11, n. 2, p. 150-160, 1998.

BADOLATO, E.S.G. **Aspectos analíticos da determinação de ácidos graxos trans em margarinas e gorduras vegetais hidrogenadas.** 2000. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

BAGGIO, S.R.; BRAGAGNOLO, N. Cholesterol oxide, total lipid and fatty acid contents in processed meat products during storage. **LWT - Food Sci. Technol.**, v. 39, p. 513-520, 2006.

BASAGA, H.; TCKKAYA, C.; ACIKEL, F. Antioxidative and free radical scavenging properties os rosemary extract. **Lebensmittle-Wissenschaft Und Technologie.** v. 30, p. 108-108, 1997.

BENDINI, A.; TOSCHI, T.G.; LERCKER, G. Antioxidant activity of oregano (*Origanum vulgare*) leaves. **Ital. J. Food Sci.** v. 14, p. 17-25, 2002 .

BOBBIO, P.A.; BOBBIO, F.O. **Química do processamento de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2001, 144p.

BOTSOGLIOU, 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 Sci.**, v. 62, n. 2, p. 259-265, 2002.

BOTSOGLIOU, N.A.; FLETOURIS, D.J.; FLOROU-PANERI, P.; CHRISTAKI, E.; SPAIS, A.B. Inhibition of lipid oxidation in long-term frozen stored chicken meat by dietary oregano essential oil and α -tocopheryl acetate supplementation. **Food Res. Int.**, v. 36, n. 3, p. 207-213, 2003a.

BOTSOGLIOU, N.A.; GRIGOROPOULOU, S.H.; BOTSOGLIOU, E.; GOVARIS, A.; PAPAGEORGIOU, G. The effects of dietary oregano essential oil and α -tocopheryl acetate on lipid oxidation in raw and cooked turkey during refrigerated storage. **Meat Sci.**, v. 65, n. 3, p. 1193-1200, 2003b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Normas gerais sobre irradiação de alimentos**. Decreto nº 72718, de 29/08/1973. Brasília: ANVISA, 1973.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Regulamento técnico de identidade e qualidade de hambúrguer**. Instrução Normativa n. 20, de 31/07/00. Brasília: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 2000.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos**. Resolução RDC nº 21, de 26/01/2001. Brasília: ANVISA, 2001.

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

BRITO, M.S.; VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; MANCINI-FILHO, J. Effects of irradiation on *trans* fatty acids formation in ground beef. **Rad. Phys. Chem.**, v. 63, p. 337-340, 2002.

BYUN, M.W.; LEE, J.W.; YOON, H.S.; LEE, K.H.; KIM, S.; KIM, W.J.; KIM, K.S. Effect of gamma irradiation on the raw meat in Bologna sausage production. **Int. J. Food Sci. Technol.**, v. 35, p. 599-601, 2000.

CAC. Codex General Standard for Irradiated Foods. **CODEX STAN 106**. FAO/ WHO Food Standards Programme. United Nations Food and Agriculture Organization/World Health Organization/Codex Alimentarius Commission, Italy, 1983.

CAC. Revised Codex General Standard for Irradiated Foods. **CODEX STAN 106**, Rev. 1-2003. Codex Alimentarius Commission, Italy, 2003.

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

CARVALHO-JUNIOR, R.N.; MOURA, L.S.; ROSA, P.T.V.; MEIRELES, M.A.A. Supercritical fluid extraction from rosemary (*Rosmarinus officinalis*): Kinetic data, extract's global yield, composition, and antioxidant activity. **The J. of Supercrit. Fluids**, v. 35, p. 197-204, 2005.

CAVERO, S.; GARCIA-RISCO, M.R.; MARIN, F.R.; JAIME, L.; SANTOYO, S.; SENORANS, F.J.; REGLERO, G.; IBANEZ, E. Supercritical fluid extraction of antioxidant compounds from oregano chemical and functional characterization via LC-MS and *in vitro* assays. **The J. of Supercrit. Fluids.**, v. 38, p. 62-69, 2006.

CDC. Preliminary FoodNet data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food — Selected sites, United States. **Morb. Mortal. Weekly Rep.**, 53(16): 338-343, 2004.

CELIKTAS, O.Y.; BEDIR, E.; VARDAR SUKAN, F. In vitro antioxidant activities of *Rosmarinus officinalis* extracts treated with supercritical carbon dioxide. **Food Chem.**, No prelo, 2006.

CERVATO, G.; CARABELLI, M.; GERVASIO, S.; CITTERA, A.; CAZZOLA, R.; CESTARO, B. Antioxidant properties of extracts of oregano (*Origanum vulgare*) leaf extracts. **J. Food Biochem.** v. 24, n. 66, p. 453-465, 2000.

CHEN, Y.J.; ZHOU, G.H.; ZHU, X.D.; XU, X.L.; TANG, X.Y.; GAO, F. Effect of low dose gamma irradiation on beef quality and fatty acid composition of beef intramuscular lipid. **Meat Sci.** No prelo, 2006.

CHIRINOS, R. R.O.; VIZEU, D.M.; FRANCO, B.D.G.M.; DESTRO, M. T.; LANDGRAF, M. Inactivation of *Escherichia coli* O157H7 in hamburger by gamma radiation. **Braz. J. Microbiol.**, v. 33, n. 1, p. 45-48, 2002.

CINTRA, R.M.G.C. **Efeito antioxidante de especiarias: avaliação da salsa (*Petroselinum sativum Hoffm*), cebolinha verde (*Allium shoenoprasum* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.) e alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.).** 1999. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

CROFT, K.D. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, v.854, p.435-442, 1998.

DEL-MASTRO, N.L. Development of food irradiation in Brazil. **Prog. Nucl. Energy**, Amsterdam, v.35, n. 3, p. 229-248, 1999.

DIEHL, J.F. Food Irradiation – past, present and future. **Rad. Phys. Chem.**, v. 63, p. 211-215, 2002.

EC. Revision of the opinion of the Scientific Committee on Food on the irradiation of food. **European Commission**, Russels, 2003.

ESTEVEES, M.; CAVA, R. Effectiveness of rosemary essential oil as an inhibitor of lipid and protein oxidation: Contradictory effects in different types of frankfurters. **Meat Sci.**, v. 72, p. 348-355, 2006.

ESTÉVES, M.; RAMIREZ, R.; VENTANAS, S.; CAVA, R. Sage and rosemary essential oils versus BHT for the inhibition of lipid oxidative reactions in liver pâté. **LWT - Food Sci. Technol.**, v. 40, n. 1, p. 58-65, 2007.

FARKAS, J. Irradiation as a method for decontaminating food: a review. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 44, p. 189-204, 1998.

FARKAS, J. Irradiation for better foods. **Trends in Food Sci. & Technol.**, v. 17, n. 4, p. 148-152, 2006.

FDA. Irradiation in the production, processing and handling of food. **Fed. Reg.** v. 51, n. 75, p. 13376-13399, 1986.

FDA. Irradiation in the production, processing and Handling of Food. **Fed. Reg.** v. 62, n. 232, p. 64107-64121, 1997.

FENNEMA, O.R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K.. **Fennema's Food chemistry**, 4.ed. Boca Raton: CRC Press, 2007. 1100p.

FORMANEK, Z.; KERRY, J.P.; HIGGINS, F.M.; BUCKLEY, D.J.; MORRISSEY, P.A.; FARKAS, J. Addition of synthetic and natural antioxidants to α -tocopheryl acetate supplemented beef patties: effects of antioxidants and packaging on lipid oxidation. **Meat Sci.**, v. 58, n. 4, p. 337-341, 2001.

FSIS. Food Safety and Inspection Service. **Food irradiation of meat food products**. Federal Register, n. 64. p. 72149-72166, 1999.

GAO. Food Irradiation: Available Research Indicates that Benefits Outweigh Risks. GAO/RCED-00-217. U.S. **General Accounting Office**. Washington, D.C, 2000.

GEIBLER, C.; BREDE, O.; REINHARDT, J. *cis – trans* – Isomerization of unsaturated fatty acids during γ -irradiation of barley grains. **Rad. Phys. Chem.**, v. 67, p. 105-113, 2003.

GEORGANTELIS, D.; BLEKAS, G.; KATIKOU, P.; AMBROSIADIS, I.; FLETOURIS, D.J. Effect os rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on lipid oxidation and colour stability during storage of beef burgers. **Meat Sci.**, v. 75, p. 266-274, 2007.

GHOTRA, B.S.; DYAL, S.D.; NARINE, S.S. Lipid shortenings: a review. **Food Res. Int.**, v. 35, n. 10, p. 1015-1048, 2002.

GIROUX, M.; LACROIX, M. Nutritional adequacy of irradiated meat: a review. **Food Res. Int.**, v.31, n.4, p. 257-264, 1998.

GOULAS, A.E.; KONTOMINAS, M.G.; Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. **Food Chem.**, v. 100, n.1, p. 287-296, 2007.

GOVARIS, A.; BOTSOGLOU, N.; PAPAGEORGIOU, G.; BOTSOGLOU, E.; AMBROSIADIS, I. Dietary versus post-mortem use of oregano oil and/or alpha-tocopherol in turkeys to inhibit development of lipid oxidation in meat during refrigerated storage. **Intl. J. Food Sci. Nutr.**, v. 55, n. 2, p. 115-123, 2004.

GRECZ, N.; ROWLEY, D.B.; MATSUYAMA, A. The action of radiation on bacteria and viruses. In: JOSEPHSON, E.S.; PETERSON, M.S. (Ed.). **Preservation of Foods by Ionizing Radiation**. Boca Raton: CRC Press, 1983. v. 2, p. 167-218.

GREENBERG, R.A. **Irradiated foods**. 4.ed. New York: American Council on Science and Health, 1996. 32p.

GREENE, B.E.; CUMUZE, T.H. Relationship between TBA numbers and inexperienced panellists' assessments of oxidized flavor in cooked beef. **J. Food Sci.** v. 47, p. 52-54, 1981.

GRUIS, K.; KISS, I. Effect of ionizing radiation on the lipid in frozen poultry. **Acta Aliment.**, v. 16, n. 2, p. 111-127, 1987.

GRÜN, I.U.; AHN, J.; CLARKE, A.D.; LORENZEN, C.L.; Reducing Oxidation of Meat. **Food Technol.**, v. 60, n. 01, p. 37-43, 2006.

GUILLÉN-SANS, R.; GUZMÁN-CHOZAS, M. The Thiobarbituric Acid (TBA) Reaction in Foods: A Review. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 38, n. 4, p. 315-330, 1998.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. **Nut. Reviews**, v.52, n.8, p.253-265, 1994.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. The chemistry of free radicals and, related 'reactive species'. In: **Free radicals in biology and medicine**. 3. ed. Oxford: Clarenton Press; 1999. p.36-104.

HEALTH CANADA. Evaluation of the significance of 2-dodecylcyclobutanone and other alkylcyclobutanones. **Ottawa**. 2003.

HOCMAN, G. Chemoprevention of cancer: phenolic antioxidants (BHT. BHA). **Int. J. Biochem. Cell Biol.** v. 20, p. 639-651, 1988.

HUNTER, J.E.; Dietary levels of *trans*-fatty acids: basis for health concerns and industry efforts to limit use. **Nutr. Res.** v.25, p. 499-513, 2005.

IAEA. Food Irradiation. **Proceedings of a Symposium**, Karlsruhe, International Atomic Energy Agency, Vienna, 1966.

ITO, N.; HIROSE, M.; FUKUSHIMA, S.; TSUDA, H.; SHIRAI, T.; TATEMATSU, M. Studies on antioxidants: their carcinogenic and modifying effects on chemical carcinogenesis. **Food Chem. Toxicol.**, v. 24, p. 1071-1082, 1986.

JANZ, J. A.M.; MOREL, P.C.H.; WILKINSON, B.H.P.; PURCHAS, R.W. Preliminary investigation of the effects of low-level dietary inclusion of fragrant essential oils and oleoresins on pig performance and pork quality. **Meat Sci.**, v. 75, n. 2, p. 360-365, 2007.

KANATT, S.R.; CHANDER, R.; SHARMA, A. Effect of radiation processing of lamb meat on its lipids. **Food Chem.** v. 97, p. 80-86, 2006.

KASAVA-RAO, V.; KOWALE, B.N.; BABU, N.P.; BISHT, G.S. Effect of cooking and storage on lipid oxidation and development of cholesterol oxidation products in water buffalo meat. **Meat Sci.** v. 43, n. 2, p. 179-185, 1996.

KILCAST, D. Effect of irradiation on vitamins. **Food Chem.**, v. 49, n. 2, p. 157-164, 1994.

KIM, Y.H.; NAM, K.C.; AHN, D.U. Volatile profiles, lipid oxidation and sensory characteristics of irradiated meat from different animal species. **Meat Sci.**, v. 61, p. 257-265, 2002.

KREGEL, K.K.; PRUSA, K.J. HUGLES, K.V. Cholesterol content and sensory analysis of ground beef as influenced by fat level, heating and storage. **J. Food Sci.**, v. 51, n. 5, p. 1162-1165, 1986.

KULISIC, T.; RADONIC, A.; KATALINIC, V.; MILOS, M. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. **Food Chem.**, v. 85, n. 4, p. 633-640, 2004.

LACROIX, M.; GAGNON, M.; LATREILLE, B.; PROBST, C.; SIMARD, C.; BOILEAU, S. Effects of the dose rate of irradiation, vacuum packaging and cold storage on porcine proteins. **Microbiol. Alim. Nutr.** v. 10, p. 253-260, 1992.

LEE, P.R., 1994. Irradiation to prevent foodborne illness. From the Assistant Secretary for Health, U.S. Public Health Service. **J. Am. Med. Assoc.** v. 272, n. 4, 261p.

LEE, M.; SEBRANEK, J.G.; OLSON, D.G.; DICKSON, J.S. Irradiation and packaging of fresh meat and poultry. **J. Food Prot.**, v. 59, n.1, p. 62-72, 1995.

LEE, J.W.; PARK, K.S.; KIM, J.G.; OH, S.H.; LEE, Y.S.; KIM, J.H.; BYUN, M.W. Combined effects of gamma irradiation and rosemary extract on the shelf-life of a ready-to-eat hamburger steak. **Rad. Phys. Chem.**, v. 72, n. 1, p. 49-56, 2005.

LEFEVRE, N.; THIBAUT, C.; CHARBONNEAU, R.; PIETTE, J.P.G. Improvement of shelf-life and wholesomeness of ground beef by irradiation. Chemical analysis and sensory evaluation. **Meat Sci.** v. 36, p. 371-380, 1994.

LICHTENSTEIN, A.H.; APPEL, L.J.; BRANDS, M.; CARNETHON, M.; DANIELS, S.; FRANCH, H.A.; FRANKLIN, B.; KRIS-ETHERTON, P.; HARRIS, W.S.; HOWARD, B.; KARANJA, N.; LEFEVRE, M.; RUDEL, L.; SACKS, F.; HORN, L.V.; WINSTON, M.; WYLIE-ROSETT, J. Diet and Lifestyle Recommendations Revision 2006: A Scientific Statement From the American Heart Association Nutrition Committee. **Circulation**, v. 114, p. 82 – 96, 2006.

LIN, Y.T.; LABBE, R.G.; SHETTY, K. Inhibition of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood systems using oregano and cranberry phytochemical synergies and lactic acid. **Innov. Food Sci. Emerg. Technol.**, v. 6, n. 4, p. 453-458, 2005.

MANCINI-FILHO, J. ; CHEMIN, S. . Implicações nutricionais dos ácidos graxos trans. **Óleos e Grãos**, v. 31, p. 41-45, 1996.

MANCINI-FILHO, J. Avaliação da participação dos ácidos graxos trans em processos metabólicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, p. 212-216, 1997.

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

MARCO, G.J. A rapid method for evaluation of antioxidants. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v.45, p.594-598, 1968.

MARTIN, C.A.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N.E. Ácidos Graxos *Trans*: implicações nutriiconais e fontes na dieta. **Rev. Nutr.**, v. 17, n. 3, p. 361-368, 2004.

MILLER, H.E. A simplified method for the evaluation of antioxidants. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v.45, p.91, 1971.

MONTGOMERY, J.L.; PARRISH JR, F.C.; OLSON, D.G.; DICKSON, J.S. NIEBUHR, S. Storage and packaging effects on sensory and color characteristics of ground beef. **Meat Sci.**, v. 64, p. 357-363, 2003.

MOURA, A.F.P. **Efeito da radiação ionizante sobre a oxidação do colesterol em hambúrgueres de frango e bovino congelados**. 2004. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo – São Paulo.

MURANO, P.S.; MURANO, E.A. OLSON, D.G. Irradiated ground beef sensory and quality changes during storage under various packaging conditions. **J. Food. Sci.**, v. 63, n. 3, p. 548-551, 1998.

NAM, K.C.; AHN, D.U. Use of antioxidants to reduce lipid oxidation and off-odor volatiles of irradiated pork homogenates and patties. **Meat Sci.**, v. 63, n. 1, p. 1-8, 2003.

NASCIMENTO, M.G.F.; OLIVEIRA, C.Z.F.; NASCIMENTO, E.R. Hambúrguer: Evolução comercial e padrões microbiológicos. **B.CEPPA**, v. 23, n. 1, p. 59-74, 2005.

OLSON, D.G. Irradiation of food. **Food Technol.** v. 52, n. 1, p. 56-62, 1998.

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

PEREIRA, R.B. **Avaliação da atividade antioxidante de sementes de frutas cítricas**. São Paulo, 1996. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo – São Paulo.

PUERTAS-MEJIA, M.; HILLEBRAND, S.; STASHENKO, E.; WINTERHALTER, P. In vitro radical scavenging activity of essential oils from Columbian plants and fractions from oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil. **Flavour Frag. J.** v. 17, n. 5, p.380-384, 2002.

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

RDC. **Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados**. Resolução RDC nº 360. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 23 de Dezembro de 2003.

RHEE, K.S. Natural antioxidants for meat products. In: St. ANGELO, A.J.; BAILEY, M.E. (Ed.). **Warmed-Over Flavor of Meat**. Orlando: Academic Press, 1987. p. 267-289.

RIISPOA. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal**. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Departamento de inspeção de produtos de origem animal – DIPOA. Divisão de normas técnicas, 1952.

RODRIGUES-JÚNIOR, J.M. Mercado externo carne bovina. Mercados: consumo per capita mundial de carne bovina. **Seminário on line**, Curitiba, ago. 2003.

RODRIGUEZ-MEIZOSO, I.; MARIN, F.R.; HERRERO, M.; SEÑORANS, F.J.; REGLERO, G.; CIFUENTES, A.; IBANEZ, E. Subcritical water extraction os nutraceuticals with antioxidant activity from oregano. Chemical and functional characterization. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 41, p. 1560-1565, 2006.

ROGINSKY, V., LISSI, E.A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chem.**, v. 92, p. 235-254, 2005.

ROUSSEAU, D.; FORESTIERE, K.; HILL, A.R.; MARANGONI, A.G. Restructuring butterfat through blending and chemical interesterification. 1. Melting behavior and triacylglycerol modifications. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, Champaign, v.73, n.8, p.963-972, 1996.

SAJILATA, M.G.; SINGHAL, R.S. Effect of irradiation and storage on the antioxidative activity of cashew nuts. **Rad. Phys. Chem.**, v. 75, n. 2, p. 297-300, 2006.

SCOLLAN, N.; HOCQUETTE, J.; NUERNBERG, K.; DANNENBERGER, D.; RICHARDSON, I.; MOLONEY, A. Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. **Meat Sci.**, v. 74, p. 17-33, 2006.

SEBRANEK, J.G.; SEWALT, V.J.H.; ROBBINS, K.L.; HOUSER, T.A. Comparison of a natural rosemary extract and BHT/BHA for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. **Meat Sci.**, v. 69, p. 289-296, 2005.

SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**. 6. ed. John Wiley: New York, 2005, v. 1.

SHAHIDI, F., JANITHA, P.K., WANASUNDARA, P.D. Phenolic antioxidants. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v.32, n.1, p.67-103, 1992.

SHEKARFOROUSH, S.S.; NAZER, A.H.K.; FIROUZI, R.; ROSTAMI, M. **Effects of storage temperatures and essential oils of oregano and nutmeg on the growth and survival of *Escherichia coli* O157:H7 in barbecued chicken used in Iran.** **Food Control**, No Prelo, disponível *online* em 12 Dezembro 2006.

SMITH, J.S.; PILLAI, S. Irradiation and Food Safety. **Food Technol.**, v. 58, n. 11, p. 48-55, 2004.

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

SINK, J.D. Industrial modeling output estimates of ground beef industry. **Food Tech.**, Chicago, v. 34, n. 6, p. 58-62, 1980.

SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Rev. Nutr.**, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SUHAJ, M.; RÁCOVÁ, J.; POLOVKA, M.; BREZOVÁ, V. Effect of γ -irradiation on antioxidant activity of black pepper (*Piper nigrum* L.). **Food Chem.**, v. 97, n. 4, p. 696-704, 2006.

SWAIN, T.; HILLS, W.E. Phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. Quantitative analysis of phenolic constituents. **J. Sci. Food Agric.** v. 10, p. 63, 1959.

TAUXE, R.V. Food safety and irradiation: Protecting the public from foodborne infections. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 7, n. 3, p. 516-521, 2001.

THAKUR, B.R.; SMITH, R.K. Food Irradiation: chemistry and applications. **Food Rev. Int.**, v.10, n. 4, p. 437-473, 1994.

TOZER, K.N. **Qualin improvement and shelf-life extension of fish filets from three aquaculture species**. 2001. Dissertação (Mestrado). University of Guelph – Ontario - Canadá.

TURNER, E.W., PAYNTER, W.D., MONTIE, E.J., BESSERT, M.W., STOUCK, G.M. AND OLSON, F.C. Use of 2-thiobarbituric acid reagent to measure rancidity in frozen pork. **Food Tech.**, v. 8, p. 326-330, 1954.

VALSTA, L.M.; TAPANAINEN, H.; MANNISTO, S. Meat fats in nutrition. **Meat Sci.**, v. 70, p. 525-530, 2005.

VILLAVICENCIO, A.L. **Avaliação dos efeitos da radiação ionizante de ^{60}Co em propriedades Físicas, Químicas e Nutricionais dos Feijões *Phaseolus vulgaris* L. e *Vigna unguiculata* (L.) Walp.** 1998. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo – São Paulo.

VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; MANCINI-FILHO, J.; DELINCÉE, H.; GREINER, R. Effect of irradiation on anti-nutrients (total phenolics, tannins and phytate) in Brazilian beans. **Rad. Phys. Chem.**, v. 57, n. 3-6, p. 289-293, 2000.

WAHRBURG, U. What are the health effects of fat?. **Eur. J. Nutr.**, v.43, p.1/6-1/11, 2004. Suplemento 1.

WASZKOWIAK, K.; DOLATA, W. The application of collagen preparations as carriers of rosemary extract in the production of processed meat. **Meat Sci.** v. 75, p.178-183, 2007).

WHO. Wholesomeness of Irradiated Food. **Technical Report Series 659**, Geneva, 1981.

WHO. **Safety and nutritional adequacy of irradiated food.** Genebra, 1994.

WHO/FAO. Food Irradiation. **A technique for Preserving and Improving the Safety of Food.** World Health Organization in collaboration with the Food And Agriculture Organization, 1988.

WHO. High-Dose Irradiation: Wholesomeness of Food Irradiated with Doses above 10kGy. **WHO technical Report Series 890.** 1999.

WILLIAMS, G.M.; IATROPOULOS, M.J. Inhibition of the hepatocarcinogenicity of aflatoxin B₁ in rats by low levels of the phenolic antioxidants butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. **Cancer Letters**, v. 104, n. 1, p. 49-53, 1996.

WILLIAMS, G.M.; IATROPOULOS, M.J.; WHYSNER, J. Safety Assessment of Butylated Hydroxyanisole and Butylated Hydroxytoluene as Antioxidant Food Additives. **Food and Chem. Toxicol.**, v. 37, n. 9-10, p. 1027-1038, 1999.

WOOD, J.D.; RICHARDSON, R.I.; NUTE, G.R.; FISHER, A.V.; CAMPO, M.M.; KASAPIDOU, E.; SHEARD, P.R.; ENSER, M. Effects of fatty acids on meat quality: a review. **Meat Sci.** v. 66, p. 21-32, 2003.

YILMAZ, I.; GEÇGEL, U. Effects of gamma irradiation on *trans* fatty acids composition in ground beef. **Food Control.** No prelo, 2006.

9. ANEXOS

Anexo 1: Ficha de Análise Sensorial

Nome: _____ Data: / /					
() 15 a 20 anos () 21 a 30 anos () 31 a 40 anos () 41 a 50 anos () + 50 anos					
Você está recebendo 6 amostras de hambúrgueres, algumas foram tratadas pelo processo de irradiação. Por favor, indique na escala o quanto você gostou ou desgostou de cada uma das amostras.					
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th style="padding: 5px;">AMOSTRA _____</th> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;"> () Desgostei muitíssimo () Desgostei muito () Desgostei moderadamente () Desgostei ligeiramente () Nem gostei / Nem desgostei () Gostei ligeiramente () Gostei moderadamente () Gostei muito () Gostei muitíssimo </td> </tr> </table>	AMOSTRA _____	() Desgostei muitíssimo () Desgostei muito () Desgostei moderadamente () Desgostei ligeiramente () Nem gostei / Nem desgostei () Gostei ligeiramente () Gostei moderadamente () Gostei muito () Gostei muitíssimo	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th style="padding: 5px;">AMOSTRA _____</th> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;"> () Desgostei muitíssimo () Desgostei muito () Desgostei moderadamente () Desgostei ligeiramente () Nem gostei / Nem desgostei () Gostei ligeiramente () Gostei moderadamente () Gostei muito () Gostei muitíssimo </td> </tr> </table>	AMOSTRA _____	() Desgostei muitíssimo () Desgostei muito () Desgostei moderadamente () Desgostei ligeiramente () Nem gostei / Nem desgostei () Gostei ligeiramente () Gostei moderadamente () Gostei muito () Gostei muitíssimo
AMOSTRA _____					
() Desgostei muitíssimo () Desgostei muito () Desgostei moderadamente () Desgostei ligeiramente () Nem gostei / Nem desgostei () Gostei ligeiramente () Gostei moderadamente () Gostei muito () Gostei muitíssimo					
AMOSTRA _____					
() Desgostei muitíssimo () Desgostei muito () Desgostei moderadamente () Desgostei ligeiramente () Nem gostei / Nem desgostei () Gostei ligeiramente () Gostei moderadamente () Gostei muito () Gostei muitíssimo					
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th style="padding: 5px;">AMOSTRA _____</th> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;"> () Desgostei muitíssimo () Desgostei muito () Desgostei moderadamente () Desgostei ligeiramente () Nem gostei / Nem desgostei () Gostei ligeiramente () Gostei moderadamente () Gostei muito () Gostei muitíssimo </td> </tr> </table>	AMOSTRA _____	() Desgostei muitíssimo () Desgostei muito () Desgostei moderadamente () Desgostei ligeiramente () Nem gostei / Nem desgostei () Gostei ligeiramente () Gostei moderadamente () Gostei muito () Gostei muitíssimo	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th style="padding: 5px;">AMOSTRA _____</th> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;"> () Desgostei muitíssimo () Desgostei muito () Desgostei moderadamente () Desgostei ligeiramente () Nem gostei / Nem desgostei () Gostei ligeiramente () Gostei moderadamente () Gostei muito () Gostei muitíssimo </td> </tr> </table>	AMOSTRA _____	() Desgostei muitíssimo () Desgostei muito () Desgostei moderadamente () Desgostei ligeiramente () Nem gostei / Nem desgostei () Gostei ligeiramente () Gostei moderadamente () Gostei muito () Gostei muitíssimo
AMOSTRA _____					
() Desgostei muitíssimo () Desgostei muito () Desgostei moderadamente () Desgostei ligeiramente () Nem gostei / Nem desgostei () Gostei ligeiramente () Gostei moderadamente () Gostei muito () Gostei muitíssimo					
AMOSTRA _____					
() Desgostei muitíssimo () Desgostei muito () Desgostei moderadamente () Desgostei ligeiramente () Nem gostei / Nem desgostei () Gostei ligeiramente () Gostei moderadamente () Gostei muito () Gostei muitíssimo					
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th style="padding: 5px;">AMOSTRA _____</th> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;"> () Desgostei muitíssimo () Desgostei muito () Desgostei moderadamente () Desgostei ligeiramente () Nem gostei / Nem desgostei () Gostei ligeiramente () Gostei moderadamente () Gostei muito () Gostei muitíssimo </td> </tr> </table>	AMOSTRA _____	() Desgostei muitíssimo () Desgostei muito () Desgostei moderadamente () Desgostei ligeiramente () Nem gostei / Nem desgostei () Gostei ligeiramente () Gostei moderadamente () Gostei muito () Gostei muitíssimo	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th style="padding: 5px;">AMOSTRA _____</th> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;"> () Desgostei muitíssimo () Desgostei muito () Desgostei moderadamente () Desgostei ligeiramente () Nem gostei / Nem desgostei () Gostei ligeiramente () Gostei moderadamente () Gostei muito () Gostei muitíssimo </td> </tr> </table>	AMOSTRA _____	() Desgostei muitíssimo () Desgostei muito () Desgostei moderadamente () Desgostei ligeiramente () Nem gostei / Nem desgostei () Gostei ligeiramente () Gostei moderadamente () Gostei muito () Gostei muitíssimo
AMOSTRA _____					
() Desgostei muitíssimo () Desgostei muito () Desgostei moderadamente () Desgostei ligeiramente () Nem gostei / Nem desgostei () Gostei ligeiramente () Gostei moderadamente () Gostei muito () Gostei muitíssimo					
AMOSTRA _____					
() Desgostei muitíssimo () Desgostei muito () Desgostei moderadamente () Desgostei ligeiramente () Nem gostei / Nem desgostei () Gostei ligeiramente () Gostei moderadamente () Gostei muito () Gostei muitíssimo					
Termo de Consentimento de participação em Teste Sensorial: Estou ciente dos objetivos da referida avaliação sensorial, e da degustação de amostras de hambúrgueres que podem ter sido tratadas pelo processo de irradiação ionizante para controle microbiológico, sou responsável pela veracidade das informações apresentadas nesta ficha e autorizo os responsáveis pela condução dos testes a utilizar as informações na análise da aceitação das amostras provadas. São Paulo, ____/____/2006 <div style="text-align: center; margin-top: 20px;"> _____ Assinatura </div>					

Anexo 2: Parecer de aprovação do Comitê de Ética **UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Comitê de Ética em Pesquisa - CEPOfício CEP nº 87/2006

São Paulo, 27 de junho de 2006.

Ilmo(a). Sr(a).
Reginaldo Almeida da Trindade
Orientador Profa. Anna Lucia C. H. Villavicencio
FBA

Prezado(a) Senhor(a),

O Comitê de Ética em Pesquisa da FCF/USP, em reunião realizada em 26 de junho de 2006, **APROVOU** o projeto "Influência dos antioxidantes naturais sobre os níveis dos ácidos graxos trans em hambúrgueres bovinos submetidos à irradiação por ⁶⁰Co e Aceleradores de Elétrons" (Protocolo CEP nº 378) apresentado por Vossa Senhoria.

Lembramos que após a execução de 50% do cronograma do projeto, deverá ser apresentado um relatório parcial, de acordo com o Artigo 18 – item C, da Portaria FCF-111/97.

Atenciosamente,

Prof. Dra. Valentina Porta
Coordenadora do Comitê de Ética Pesquisa
FCF/USP