



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

**SARAH JANAINA GURGEL BECHTINGER SIMON**

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE LIPÍDICA DA CARNE DE BÚFALO**

**LIPID STABILITY ASSESSMENT OF BUFFALO MEAT**

**Campinas**

**2016**

**SARAH JANAINA GURGEL BECHTINGER SIMON**

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE LIPÍDICA DA CARNE DE BÚFALO**

**LIPID STABILITY ASSESSMENT OF BUFFALO MEAT**

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutora em Ciência de Alimentos.

Orientadora: NEURA BRAGAGNOLO

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA PELA ALUNA SARAH JANAINA GURGEL BECHTINGER SIMON, E ORIENTADA PELA PROF<sup>a</sup> DR<sup>a</sup> NEURA BRAGAGNOLO

**Campinas**

**2016**

**Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s):** Não se aplica.

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas  
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos  
Claudia Aparecida Romano - CRB 8/5816

Si53a Simon, Sarah Janaina Gurgel Bechtinger, 1983-  
Avaliação da estabilidade lipídica da carne de búfalo / Sarah Janaina Gurgel Bechtinger Simon. – Campinas, SP : [s.n.], 2016.

Orientador: Neura Bragagnolo.  
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Ácidos graxos. 2. Oxidação lipídica. 3. Óxidos de colesterol. 4. Carne de búfalo. 5. Pimenta. I. Bragagnolo, Neura. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em outro idioma:** Lipid stability assessment of buffalo meat

**Palavras-chave em inglês:**

Fatty acids

Lipid oxidation

Cholesterol oxides

Buffalo meat

Pepper

**Área de concentração:** Ciência de Alimentos

**Titulação:** Doutora em Ciência de Alimentos

**Banca examinadora:**

Neura Bragagnolo [Orientador]

Eduardo Vicente

Sérgio Bertelli Pflanzler Júnior

Mônica Roberta Mazalli

Ana Lúcia da Silva Corrêa Lemos

**Data de defesa:** 07-10-2016

**Programa de Pós-Graduação:** Ciência de Alimentos

## **BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Neura Bragagnolo  
Orientadora

---

Dr. Eduardo Vicente  
Membro Titular  
Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL)

---

Dra. Ana Lúcia da Silva Correa Lemos  
Membro Titular  
Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL)

---

Profa. Dra. Mônica Roberta Mazalli  
Membro Titular  
Universidade de São Paulo (FZEA/USP)

---

Prof. Dr. Sérgio Bertelli Pflanze Júnior  
Membro Titular  
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

---

Dra. Lilian Regina Barros Mariutti  
Membro Suplente  
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

---

Prof. Dr. Josineudson Augusto II de Vasconcelos Silva  
Membro Suplente  
Universidade Estadual Paulista (FMVZ/UNESP)

---

Dr. Renato Grimaldi  
Membro Suplente  
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

A ata da Defesa, assinada pelos membros da Comissão, consta no processo de vida acadêmica do aluno.

Dedico este trabalho  
a minha eterna mãe, amiga e incentivadora  
Dagmar Gurgel Fragoso de Lima.  
Sua essência ainda se faz presente  
em meu coração.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Campinas e à Faculdade de Engenharia de Alimentos por viabilizar a realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de Doutorado.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Neura Bragagnolo pela parceria e orientação do presente trabalho.

Ao Renato Sebastiani, proprietário do frigorífico Cowpig, pelo auxílio no fornecimento das amostras de carne de búfalo.

Ao doutorando Janclei Coutinho pela ajuda na realização de algumas análises laboratoriais.

Aos amigos do Laboratório de Química de Alimentos, especialmente, Débora Venâncio, Camila Ribeiro, Ádria Bentes, Hugo de Souza, Adones Sales, Gilsandro Alves, Rodolfo Zanin, Enrique Sentandreu, Kleidson Lobato, Bruno Chacon, Elisângela Serenato e Aline Medina, pelas ajudas técnicas e principalmente pela cumplicidade compartilhada em muitos momentos.

Às técnicas do Laboratório de Química de Alimentos, Lilian Mariutti, Rosemar Sant Anna e Regiane Palhares, pelos auxílios de diversos aspectos à execução deste trabalho.

Aos amigos de vida Franciane Lins, Vanessa Sales, Camila Ribeiro, Débora Venâncio, Michelly Paludo, Juliana Belo, Dayana Osório, Carol Potascheff, Patrícia Kassia pela companhia, carinho e muitas ajudas em horas importantes.

Aos meus queridos familiares por todo o amor, credibilidade e aconchego!

Ao meu querido e amado Rafael Barbosa Pinto, pela grata surpresa do nosso belo encontro e por todos os momentos especiais que foram, e que ainda estão por serem vividos.

## RESUMO

O búfalo vem ganhando destaque dentro do segmento pecuário devido a sua potencialidade para a produção de carne e a exploração leiteira. A carne de búfalo está sendo considerada pelos consumidores um alimento saudável por apresentar baixo teor de gordura e alto teor de ácidos graxos insaturados. Os ácidos graxos insaturados, principalmente os poli-insaturados estão correlacionados a uma série de efeitos benéficos a saúde, no entanto, são suscetíveis a oxidação lipídica. O grau de oxidação lipídica da carne de búfalo depende de vários fatores tais como a concentração e o tipo de ácidos graxos, presença de antioxidantes, condições de armazenamento e tipo de processamento. Baseado nestes fatos, os objetivos do presente trabalho foram: 1) caracterizar a carne de búfalo das raças mais comercializadas, Murrah, Jafarabadi e Mediterrâneo do corte *longissimus dorsi* através das análises de teor de lipídeos totais, colesterol, óxidos de colesterol e a composição de ácidos graxos e 2) avaliar a estabilidade oxidativa da carne de búfalo, da raça que apresentar maior teor de ácidos graxos poli-insaturados, analisando amostras com e sem adição de pimenta cumari (*C. baccatum var praetermissum*), cruas e submetidas a tratamento térmico em grill elétrico a 180 °C, durante o armazenamento (0, 15, 30, 60 e 90 dias) em freezer a -18 °C, quanto a composição de ácidos graxos, ao teor de colesterol, a formação de óxidos de colesterol e de compostos voláteis (pentanal e hexanal).

A raça Murrah apesar de ter apresentado menor teor de lipídeos totais (1,59±0,25 g/100g) seguida pelas raças Mediterrâneo (1,85±0,19 g/100g) e Jafarabadi (1,94±0,08 g/100g), as três raças não diferiram significativamente ( $p>0,05$ ). Os ácidos graxos de maior predominância nas carnes de búfalo foram: palmítico, palmitoleico, esteárico, oleico, linoleico,  $\alpha$ -linolênico e araquidônico. Os ácidos graxos saturados não diferiram ( $p>0,05$ ) entre as raças Mediterrâneo (66,82%), Jafarabadi (62,33%) e Murrah (58,21%), enquanto que os ácidos graxos monoinsaturados diferiram significativamente ( $p<0,05$ ) entre as raças Murrah (33,82%) e Jafarabadi (32,99%) com a raça Mediterrâneo (27,70%). Em relação aos ácidos graxos poli-insaturados, a raça Murrah apresentou o teor de 7,95%, mais elevado do que a Mediterrâneo (5,48%) e a Jafarabadi (4,67%), sendo portanto, a raça selecionada para avaliação da estabilidade lipídica durante o armazenamento a frio e após cocção, com e sem adição de pimenta cumari. A raça Murrah foi também a que apresentou maior teor de colesterol (80,85±0,55 mg/100g) a qual diferiu significativamente ( $p<0,05$ ) das raças Jafarabadi

(69,33±0,26 mg/100g) e Mediterrâneo (72,11±0,34 mg/100g). Os óxidos de colesterol, 7-cetocolesterol, 5,6 $\alpha$ -epoxicolesterol e 5,6 $\beta$ -epoxicolesterol, foram encontrados nas três raças em pequenas quantidades, variando de 0,10 a 0,53  $\mu$ g/g, sem diferirem estatisticamente ( $p>0,05$ ) entre as raças, com exceção do teor de 5,6 $\alpha$ -epóxido nas amostras de Mediterrâneo (0,39  $\mu$ g/g) que foi significativamente maior que nas demais raças.

Para avaliar a estabilidade oxidativa da carne de búfalo, foi utilizado o *longissimus dorsi* da raça Murrah sendo que após a retirada da gordura externa, a carne foi homogeneizada e dividida em duas porções. Uma porção foi adicionada de 0,2% de pimenta cumari liofilizada e a outra porção foi considerada como controle, sem adição de pimenta. A concentração de 0,2% de pimenta cumari liofilizada foi estabelecida através do teste de aceitabilidade. Foi realizada também a caracterização da pimenta através da quantificação dos compostos fenólicos totais (49,84±0,33 mg/g), capsaicinoides totais (85,04±1,76  $\mu$ g/g), capsaicina (57,41±1,05  $\mu$ g/g) e dihidrocapsaicina (27,63±0,94  $\mu$ g/g) e clorofila total (5,68±0,46  $\mu$ g/g), clorofila *a* (3,81±0,67  $\mu$ g/g) e clorofila *b* (1,87±0,31  $\mu$ g/g). Hambúrgueres de 80 ± 2 g foram moldados e armazenados crus em freezer horizontal a -18°C durante 0, 15, 30, 60 e 90 dias. Em cada tempo de estocagem, os hambúrgueres foram analisados crus e grelhados em grill elétrico a 180°C por 3 minutos de cada lado, atingindo a temperatura interna de aproximadamente 78°C. O armazenamento e o tratamento térmico não alteraram o teor de lipídeos totais e de ácidos graxos saturados, no entanto, ocasionaram redução dos ácidos graxos mono e poli-insaturados e do colesterol e elevação dos óxidos de colesterol e dos compostos voláteis. A adição de pimenta cumari não causou efeito significativo nos teores de lipídeos totais, ácidos graxos saturados, colesterol e óxidos de colesterol. Por outro lado, as perdas dos ácidos graxos da família n-9, especificamente, dos ácidos graxos oleico (18:1 n-9) e gondoico (20:1 n-9), foram reduzidas pela adição da pimenta, assim como o total de compostos voláteis que também sofreu redução no tempo final de armazenamento.

Com os resultados obtidos foi possível constatar que a carne de búfalo é um alimento saudável, com baixo teor de gordura e de colesterol e que a adição de pimenta cumari poderia atuar na estabilidade da fração lipídica.

## ABSTRACT

Buffalo has been gaining attention in the livestock sector due to its potential for the production of meat and dairy farm. The buffalo meat is being considered by consumers a healthy food to present low fat and high content of unsaturated fatty acids. Unsaturated fatty acids, especially polyunsaturated are related to a number of beneficial health effects, however, they are susceptible to lipid oxidation. The degree of lipid oxidation in buffalo meat depends on various factors such as the concentration and type of fatty acids, presence of antioxidants, storage conditions and type of processing. Based on these facts, the goals of this study were: 1) characterize the buffalo meat of the most marketed breeds Murrah, Jaffarabadi and Mediterranean from *longissimus dorsi* muscle through the total lipid content analysis, cholesterol and cholesterol oxides and fatty acid composition and 2) assessing the oxidative stability of buffalo meat, the breed that have a higher content of polyunsaturated fatty acids, analyzing samples with and without added cumari pepper (*C. baccatum var praetermissum*), raw and heat treated in an electric grill 180 ° C during the storage (0, 15, 30, 60 and 90 days) at -18 ° C, as the composition of fatty acids, cholesterol content, formation of cholesterol oxides and volatile compounds (pentanal and hexanal).

The Murrah breed was the one with lower content of total lipids ( $1.59 \pm 0.25$  g/100g) followed by the Mediterranean breed ( $1.85 \pm 0.19$  g/100g) and Jaffarabadi ( $1.94 \pm 0.08$  g/100g), which did not differ significantly ( $p > 0.05$ ). The predominance of fatty acids in buffalo meat were: palmitic, palmitoleic, stearic, oleic, linoleic,  $\alpha$ -linolenic and arachidonic. The saturated fatty acids do not differ ( $p > 0.05$ ) between the Mediterranean breed (66.82%), Jaffarabadi (62.33%) and Murrah (58.21%), while monounsaturated fatty acids differed significantly ( $p < 0.05$ ) between the Murrah (33.82%) and Jafarabadi (32.99%) with the Mediterranean breed (27.70%). With regard to polyunsaturated fatty acids, the Murrah presented content of 7.95%, higher than the Mediterranean (5.48%) and Jaffarabadi (4.67%) being selected breed to evaluate the stability of the lipid buffalo meat during cold storage and after cooking with or without addition of pepper cumari. The Murrah was also the one with higher cholesterol content ( $80.85 \pm 0.55$  mg/100g) which differed significantly ( $p < 0.05$ ) of the Jaffarabadi ( $69.33 \pm 0.26$  mg/100g) and Mediterranean ( $72.11 \pm 0.34$  mg/100g) breeds. Cholesterol oxides, 7-ketocholesterol, 5,6 $\alpha$ -epoxy and 5,6 $\beta$ -epoxy were found in three breeds in small amounts ranging from 0.10 to 0.53  $\mu$ g/g without differ statistically ( $p > 0.05$ ) between

the breeds, except 5,6 $\alpha$ - epoxy content in the samples of the Mediterranean (0.39  $\mu\text{g/g}$ ) which was significantly higher than in other breeds.

To assess the oxidative stability of buffalo meat it was used the *longissimus dorsi* muscle from Murrah breed that after removal of the external fat meat was homogenized and divided into two portions. One portion was added 0.2% of lyophilized cumari pepper and the other portion was regarded as a control, without addition of pepper. The concentration of 0.2% lyophilized cumari pepper was established through the test of acceptability. It was also carried out to characterize the pepper by quantification of total phenolics (49.84  $\pm$  0.33 mg/g), total capsaicinoids (85.04  $\pm$  1.76  $\mu\text{g/g}$ ), capsaicin (57.41  $\pm$  1.05  $\mu\text{g/g}$ ) and dihydrocapsaicin (27.63  $\pm$  0.94  $\mu\text{g/g}$ ) and total chlorophyll (5.68  $\pm$  0.46  $\mu\text{g/g}$ ), *a* (3.81  $\pm$  0.67  $\mu\text{g/g}$ ) and *b* (1.87  $\pm$  0.31  $\mu\text{g/g}$ ). Hamburgers with 80  $\pm$  2g were molded and stored in a horizontal freezer at -18  $^{\circ}\text{C}$  during 0, 15, 30, 60 and 90 days. At each storage time, the burgers were analyzed in raw and grilled electric grill 180  $^{\circ}\text{C}$  for 3 minutes on each side, reaching an internal temperature of about 78  $^{\circ}\text{C}$ . The storage and heat treatment does not change the total lipid content and saturated fatty acids, however, led to reduced mono and polyunsaturated fatty acids and cholesterol and elevated cholesterol oxides and volatile compounds. The presence of cumari pepper had no significant effect on total lipid content, saturated fatty acids, cholesterol and cholesterol oxides. On the other hand, the losses of the fatty acids of the n-9 family, specifically, of oleic (18: 1 n-9) and gondoic (20: 1 n-9) acids were reduced by adding pepper, as well as the total volatile compounds was also reduced at the end of storage time.

With the results it was found that buffalo meat is a healthy food, low in fat and cholesterol content and that adding cumari pepper could act on the stability of the lipid fraction.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> As quatro raças criadas no Brasil.....	16
<b>Figura 2.</b> Oxidação lipídica e suas etapas.....	19
<b>Figura 3.</b> Metabolismo do colesterol.....	21
<b>Figura 4.</b> Estrutura do colesterol .....	21
<b>Figura 5.</b> Estrutura dos principais óxidos de colesterol presentes em alimentos .....	22
<b>Figura 6.</b> Esquematização dos procedimentos de preparação das amostras.....	30
<b>Figura 7.</b> Modelo da ficha de avaliação entregue aos participantes da análise sensorial .....	37
<b>Figura 8.</b> Cromatograma dos ácidos graxos encontrados na carne de búfalo da raça Murrah. ....	39
<b>Figura 9.</b> Cromatogramas de íons extraídos em m/z 385 (A) e m/z 401 (B), obtidos por HPLC-MS, dos padrões de óxidos de colesterol .....	45
<b>Figura 10.</b> Cromatogramas de íons extraídos em m/z 385 (A) e m/z 401 (B), obtidos por HPLC-MS, dos óxidos de colesterol presentes na carne de búfalo da raça Murrah.....	46
<b>Figura 11.</b> Estruturas químicas de dihidrocapsaicina (A), capsaicina (B), clorofilas a e b (C).....	49
<b>Figura 12.</b> Cromatograma dos compostos voláteis obtidos por HS-SPME-GC-MS presentes na carne de búfalo da raça Murrah a partir do 15 <sup>o</sup> dia de armazenamento.....	61

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Composição lipídica do músculo Longissimus dorsi de bubalinos.....	17
<b>Tabela 2.</b> Limites de detecção e de quantificação dos óxidos de colesterol.....	33
<b>Tabela 3.</b> Teor de umidade e de lipídeos totais do músculo Longissimus dorsi de búfalo de 3 raças diferentes .....	38
<b>Tabela 4.</b> Perfil de ácidos graxos expressos em mg/100g, base úmida e porcentagem de área do músculo Longissimus dorsi de búfalo in natura de 3 raças diferentes .....	41
<b>Tabela 5.</b> Teores de colesterol (mg/100g, base úmida) e óxidos de colesterol ( $\mu\text{g/g}$ , base úmida) do músculo Longissimus dorsi de búfalo in natura de 3 raças diferentes .....	44
<b>Tabela 6.</b> Características cromatográficas e de espectrometria de massas de óxidos de colesterol obtidas por HPLC-MS/MS .....	46
<b>Tabela 7.</b> Teor de fenólicos, capsaicinoides e clorofila.....	47
<b>Tabela 8.</b> Resultados do teste de aceitabilidade.....	50
<b>Tabela 9.</b> Teor de umidade (g/100g) do músculo Longissimus dorsi de carne de búfalo (raça Murrah) crua e grelhada, armazenada a $-18^{\circ}\text{C}$ durante 90 dias .....	51
<b>Tabela 10.</b> Teores de lipídeos totais (g/100g) do músculo Longissimus dorsi de carne de búfalo (raça Murrah) crua e grelhada, armazenada a $-18^{\circ}\text{C}$ durante 90 dias .....	52
<b>Tabela 11.</b> Perfil de ácidos graxos (mg/100g, base seca) do músculo Longissimus dorsi de carne de búfalo (raça Murrah), crua e grelhada, armazenada a $-18^{\circ}\text{C}$ durante 90 dias .....	54
<b>Tabela 12.</b> Teores de colesterol (mg/100g) e óxidos de colesterol ( $\mu\text{g/g}$ ) em base seca do músculo Longissimus dorsi de carne de búfalo (raça Murrah), crua e grelhada, armazenada a $-18^{\circ}\text{C}$ durante 90 dias .....	59
<b>Tabela 13.</b> Padrões, índices de retenção e fragmentos usados para quantificar os compostos voláteis das amostras .....	62
<b>Tabela 14.</b> Teores de compostos voláteis (ng/g) em base seca da pimenta cumari in natura e do músculo Longissimus dorsi de carne de búfalo (raça Murrah), crua e grelhada, nos diferentes tempos de estocagem .....	63

## SUMÁRIO

<b>1-INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2-REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	15
2.1 .Búfalos no Brasil .....	15
2.2.Oxidação lipídica.....	17
2.2.1 .Oxidação do colesterol .....	20
2.3.Tratamento térmico.....	23
2.4.Estocagem.....	24
2.5.Antioxidantes no organismo e em alimentos.....	25
2.6.Pimenta cumari.....	26
<b>3-OBJETIVOS</b> .....	27
3.1 .Objetivo geral.....	27
3.2.Objetivos específicos .....	28
<b>4-MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	28
4.1 .Reagentes e Materiais .....	28
4.2.Amostragem .....	29
4.3.Métodos .....	31
4.3.1 . Determinação de ácidos graxos .....	31
4.3.2. Colesterol e óxidos de colesterol .....	32
4.3.3.Determinação de voláteis.....	33
4.3.4.Quantificação de fenólicos totais.....	34
4.3.5.Quantificação de capsaicinoides.....	35
4.3.6. Extração e quantificação de clorofila .....	35
4.3.7.Análise sensorial.....	36
4.3.8.Análise estatística .....	37
<b>5-RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	37
5.1 . Composição lipídica da carne de búfalo de 3 diferentes raças .....	37
5.2. Caracterização da pimenta cumari.....	47
5.3. Efeito da adição de pimenta cumari na estabilidade lipídica da carne de búfalo congelada durante 90 dias a -18°C e após tratamento térmico.....	50
<b>6-CONCLUSÃO</b> .....	65
<b>7-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	66

## 1. INTRODUÇÃO

Os búfalos são animais da família dos bovídeos, classificados na sub-família *Bovinae* pertencentes ao gênero *Bubalus*, e foram trazidos para o Brasil no final do século XIX em pequenos lotes provenientes da Ásia, Europa e do Caribe, e se instalaram na Ilha de Marajó, no estado do Pará (Bernardes, 2007).

A alta capacidade de adaptação aos mais variados ambientes possibilitou a disseminação do rebanho de bubalinos pelas regiões brasileiras. Segundo o IBGE (2014), o efetivo de bubalinos era 1.319.478 cabeças, com maior população encontrada na região Norte (66,5%), seguido da Sudeste (11,3%), Nordeste (9,1%), Sul (8,1%) e Centro-Oeste (5,0%). Na região Sudeste destaca-se o estado de São Paulo com o maior contingente de bubalinos (6,2%).

A composição nutricional da carne de búfalo no que se refere à umidade, proteínas e minerais é semelhante à carne bovina, entretanto, contém menor teor de gordura e perfil lipídico com teores de ácidos graxos da família n-3 e n-6 mais elevados (Andrighetto *et al.*, 2008). Sendo assim, a carne bubalina apresenta características nutricionais favoráveis à manutenção de uma dieta saudável, podendo auxiliar na prevenção do desenvolvimento de doenças cardiovasculares (Lira *et al.*, 2005).

A conservação da carne pode ser feita por: refrigeração, congelamento, salga, defumação, maturação, irradiação, pasteurização, fermentação e apertização (Lima, 2010). O congelamento auxilia na manutenção de características semelhantes às da carne fresca, impedindo o crescimento microbiano e sendo empregado, quando se pretende armazená-la por longo período para atender as exigências da comercialização nacional e/ou internacional (Ziauddin *et al.*, 1994).

Mudanças físico-químicas, no entanto, podem ocorrer durante o congelamento ocasionando alterações na qualidade organoléptica da carne, incluindo descoloração, desenvolvimento de *off-flavours* e mudanças na textura. Além disto, os processos oxidativos são os principais fatores não-microbiológicos envolvidos na deterioração da carne durante o armazenamento a frio. A oxidação provoca modificações nas estruturas químicas dos lipídeos e proteínas presentes nos músculos o que afeta as propriedades sensoriais e nutricionais da carne e de seus produtos, resultando em perdas financeiras e problemas de saúde (Insani *et al.*, 2008).

Os antioxidantes têm sido adicionados aos alimentos para prevenir sua oxidação lipídica, em contrapartida, o uso de antioxidantes sintéticos tem sido questionado, inclusive por consumidores, quanto à segurança alimentar e se estes compostos apresentam alguma toxicidade (Brewer, 2011). Desta forma, várias ervas e especiarias empregadas na culinária, como sálvia, alecrim, orégano, manjeriço, tomilho, pimenta, noz-moscada, cravo e canela, foram citadas em estudos por apresentarem capacidade antioxidante (Yanishlieva *et al.*, 2006; Viuda-Martos *et al.*, 2010; Mariutti e Bragagnolo, 2012).

As pimentas do gênero *Capsicum* são fontes de antioxidantes naturais como vitamina E, vitamina C e carotenoides, encontradas em todas as regiões do Brasil, principalmente no Sudeste e Centro-Oeste, sendo consumidas e comercializadas *in natura* ou na forma de conservas (Costa *et al.*, 2010).

Com a crescente procura por alimentação saudável que atenda às necessidades nutricionais dos indivíduos e ainda forneça benefícios na prevenção de doenças, estudos devem ser desenvolvidos a fim de esclarecer as propriedades dos alimentos. Sendo assim, o conhecimento acerca do perfil lipídico da carne de búfalo, bem como da ocorrência de oxidação lipídica da carne estocada sob congelamento, acrescida de pimenta como antioxidante e submetida posteriormente a tratamento térmico, motivou o desenvolvimento desse estudo, objetivando fornecer informações que estimulem o consumo e a comercialização de bubalinos no país.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Búfalos no Brasil

Dentre as 20 raças de búfalos existentes no mundo, apenas quatro são criadas no Brasil com registro genealógico junto a Associação Brasileira dos Criadores de Búfalos (ABCB), as quais são Murrah, Mediterrâneo, Jafarabadi e Carabao (**Figura 1**). As raças Murrah e a Jafarabadi são de origem indiana, a primeira apresenta animais de porte médio, cabeças leves e chifres curtos, e a segunda é menos compacta e de maior porte, apresentando chifres longos e de espessura fina, com uma curvatura longa. Os animais da raça Mediterrâneo têm origem italiana e possuem aptidão tanto para produção de carne quanto de leite. A raça Carabao é a única adaptada às regiões pantanosas e está concentrada na ilha de Marajó, apresenta

pelagem mais clara, cabeça triangular, chifres grandes e pontiagudos, voltados para cima, porte médio e capacidade para produção de carne e leite, além de serem bastante utilizados como força motriz (Oliveira, 2005).



**Figura 1.** As quatro raças criadas no Brasil. Adaptado do site da Associação Brasileira de Criadores de Búfalos.

As raças Murrah e Jafarabadi são de grande importância para a bubalinocultura brasileira, visto que foram as primeiras reconhecidas como “raças puras” e se constituíram na base para os futuros cruzamentos (Bernardes, 2007).

Os búfalos da raça Murrah e Mediterrâneo são considerados excelentes produtores de leite, mas também apresentam alto desempenho na produção de carne, devido ao seu elevado ganho de peso em confinamento, sendo, portanto, as raças predominantes no rebanho bubalino brasileiro (Nascimento *et al.*, 1993).

O efetivo de bubalinos no Brasil vem expandindo ao longo dos anos, em 2000, o contingente era 1.102.551 e em 2014 aumentou para 1.319.478 (IBGE, 2014). Em relação à composição lipídica do músculo *Longissimus dorsi* de bubalinos de raças distintas, que foram avaliados por diferentes autores, observa-se que existem variações entre os teores totais de

lipídeos e de ácidos graxos (**Tabela 1**), demonstrando que a natureza e a quantidade dos lipídeos armazenados no músculo são dependentes da alimentação, da digestão, da absorção intestinal, do metabolismo hepático e do sistema de transporte desses lipídeos, assim como do sexo, da idade de abate, da raça e se o animal é castrado ou não (Geay *et al.*, 2001).

**Tabela 1.** Composição lipídica do músculo *Longissimus dorsi* de bubalinos.

Composição lipídica		Luz (2014) Raça Murrah	Lira <i>et al.</i> (2005) Raça Mestiça Murrah x Jafarabadi	Juárez <i>et al.</i> (2010) Raça Mediterrâneo	Rodrigues <i>et al.</i> (2004) Raça Mediterrâneo
Lipídeos Totais	(g/100g)	1,15	1,83	1,72	2,86
Ácidos Graxos	(%)				
16:0		28,04	16,90	23,30	23,70
18:0		32,79	16,99	29,10	18,00
18:1n-9		30,58	24,73	33,61	34,70
18:2n-6		0,57	8,99	5,82	6,85
20:4n-6		0,06	3,75	0,38	1,11
AGS		62,17	40,21	54,64	42,70
AGM		34,29	29,51	37,35	47,80
AGP		2,51	21,75	7,95	9,55

## 2.2. Oxidação lipídica

A oxidação lipídica compreende uma sequência complexa de alterações químicas e bioquímicas provenientes da relação entre lipídios e oxigênio, podendo ocorrer por meio de três mecanismos: autooxidação não-enzimática mediada por radicais livres, foto-oxidação não-enzimática e não-radicalar e oxidação enzimática (Ratnam *et al.*, 2006).

No mecanismo de foto-oxidação, o oxigênio molecular ou triplete ( $^3\text{O}_2$ ) é convertido a oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ), mais comumente formado por fotossensibilização na presença de fotossensibilizadores (clorofila, riboflavina e mioglobina) que irão absorver a

energia da luz e ao retornar ao seu estado fundamental emitem luz ou calor que poderá ser absorvido pelo oxigênio molecular convertendo-o para o estado excitado, o qual é mais eletrofílico e reage diretamente com as ligações duplas dos ácidos graxos insaturados, produzindo hidroperóxidos numa maior velocidade (Kim e Min, 2008).

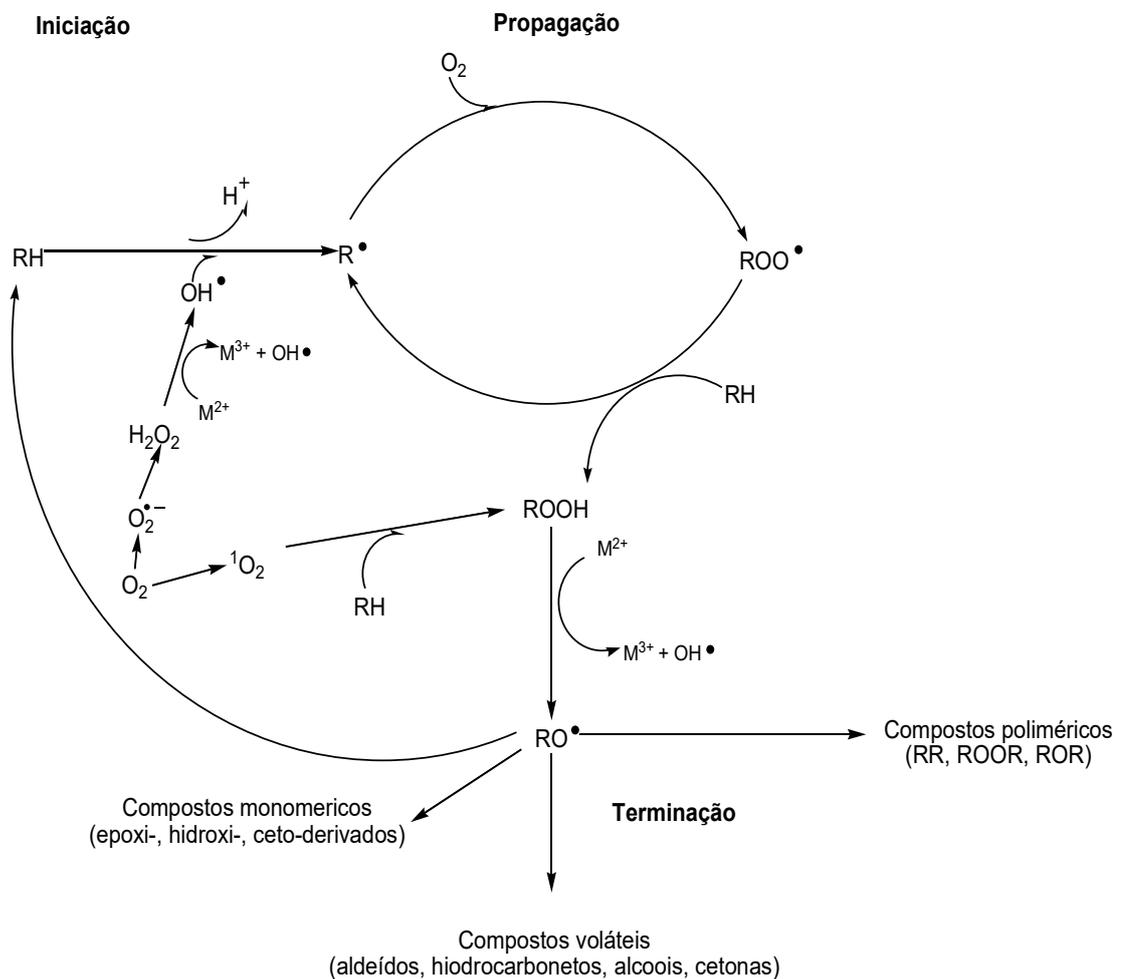
O processo de autoxidação é um mecanismo fundamental na oxidação lipídica, dividido em 3 fases (**Figura 2**): iniciação, propagação e terminação (Ferrari, 1998).

A etapa de iniciação decorre da ação de um iniciador (calor, radiação UV, metais de transição, espécies reativas de oxigênio-ROS e espécies reativas de nitrogênio-RNS) que irá retirar um átomo de hidrogênio do carbono metilênico adjacente à ligação dupla do ácido graxo insaturado (RH), formando radicais livres ( $R^\bullet$ ). A abstração do hidrogênio irá ocorrer no carbono que necessita de menor quantidade de energia para perder o hidrogênio, assim quanto maior o número de ligações duplas mais facilmente o ácido graxo será oxidado (Kim e Min, 2008).

A etapa de propagação, que ocorre em seguida, é caracterizada pela reação do radical livre com o oxigênio molecular formando um radical peroxila ( $ROO^\bullet$ ) que é altamente reativo e abstrai com facilidade um hidrogênio de outro ácido graxo insaturado gerando hidroperóxidos (ROOH) e novos radicais livres ( $R^\bullet$ ). Os hidroperóxidos formados em presença de metais ou calor, podem se decompor em radicais alcóxila e peroxila, realimentando a cadeia oxidativa e aumentando a velocidade das reações de propagação (Kim e Min, 2008).

Devido ao esgotamento dos substratos, as reações de propagação vão cessando para dar início às reações de terminação que irão formar espécies não radicalares por meio da combinação de dois radicais. Os principais produtos finais da oxidação lipídica são derivados da decomposição dos hidroperóxidos como álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres e hidrocarbonetos que apresentam baixo peso molecular sendo, portanto, compostos voláteis (Laguerre *et al.*, 2007).

Os compostos voláteis que podem ser formados nos alimentos irão depender, dentre outros fatores, dos ácidos graxos presentes em sua composição, visto que a degradação dos ácidos graxos da família n-9 pode produzir hexanal, heptenol, decanal, octanal, heptanal, nonanal, a oxidação dos ácidos graxos n-3 dará origem a 1-penten-3-ol, propanal e a degradação dos ácidos graxos n-6 irá formar hexanal, pentanal, pentilfurano, pentanol, hexanol, 1-octenol e 2-octenol (Volden *et al.*, 2011).



**Figura 2.** Oxidação lipídica e suas etapas. Adaptado de Sancho (2010) e Souza (2014).

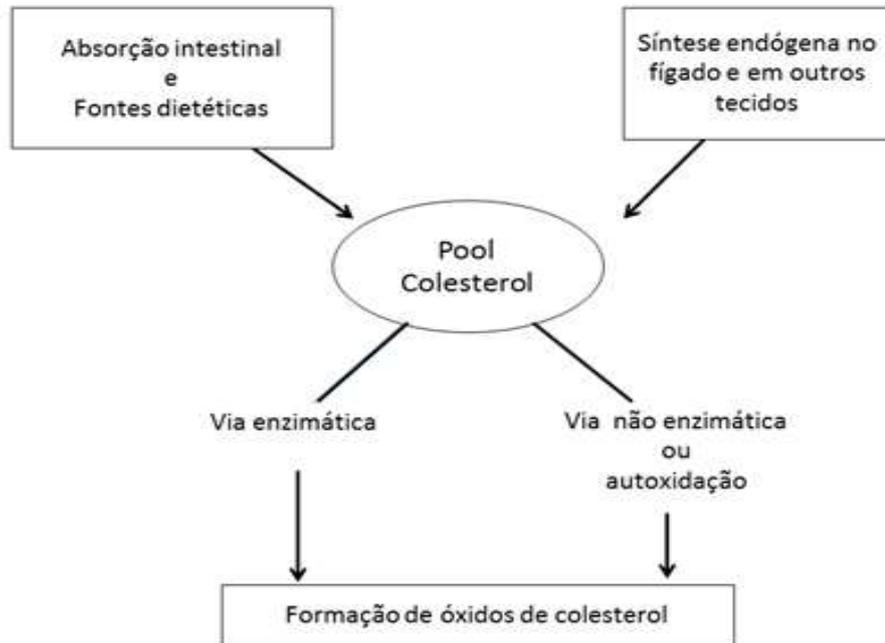
Na pesquisa de Domínguez *et al.* (2014a), com carne de potro crua, foram encontrados os seguintes voláteis: benzaldeídos, hidrocarbonetos aromáticos, cetonas, ésteres e após a carne ter sido grelhada foram detectados ainda, 1-penten-3-ol, pentanal, heptanal, octanal e nonanal. Os compostos voláteis do grupo dos aldeídos (pentanal, hexanal, hexenal, heptanal, nonanal, octenal, octanal) são os principais encontrados nas amostras de carnes submetidas à cocção, dentre eles destaca-se o hexanal, representando cerca de 90% do total dos aldeídos, e pode ser produzido a partir da oxidação dos ácidos graxos oleico, linoleico e araquidônico, e também da degradação de outros aldeídos, como do 2,4-decadienal (Nieto *et al.*, 2011). Segundo Elmore *et al.* (2004), a dieta dos ruminantes a base de pastagem e de ração enriquecida com óleos vegetais, pode elevar o teor de ácido linolênico presente nas carnes e a oxidação deste ácido graxo, resultará na formação de 1-penten-3-ol.

### 2.2.1. Oxidação do colesterol

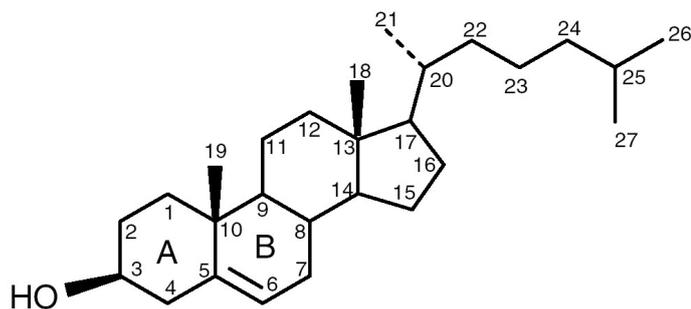
O colesterol é um composto lipídico estrutural essencial das membranas celulares responsável por manter a permeabilidade e a fluidez, também é precursor da biossíntese de hormônios esteroides, ácidos biliares e vitamina D. É sintetizado predominantemente no fígado dos animais (**Figura 3**), produzido em pequenas quantidades por plantas nas quais predominam esteróis da classe dos fitosteróis e praticamente ausente nos seres procarióticos. Foi primeiramente isolado no início do século XVIII, tendo sua estrutura química elucidada e confirmada em 1930 por meio de difração de raio X e em 1951 sua via sintética foi elucidada (Morzycki, 2014).

O colesterol apresenta uma ligação dupla entre os carbonos 5 e 6 do anel B (**Figura 4**), tornando-o susceptível à oxidação. Os principais produtos de oxidação do colesterol (COPs) presentes em alimentos são (**Figura 5**):  $7\alpha$ -hidroxicolesterol ( $7\alpha$ -OH),  $7\beta$ -hidroxicolesterol ( $7\beta$ -OH), 7-cetocolesterol (7-ceto), 5,6 $\alpha$ -epoxicolesterol (5,6 $\alpha$ -EP), 5,6 $\beta$ -epoxicolesterol (5,6 $\beta$ -EP), 25-hidroxicolesterol (25-OH), 20-hidroxicolesterol (20-OH) e colestanoetriol (triol) (Bragagnolo, 2009).

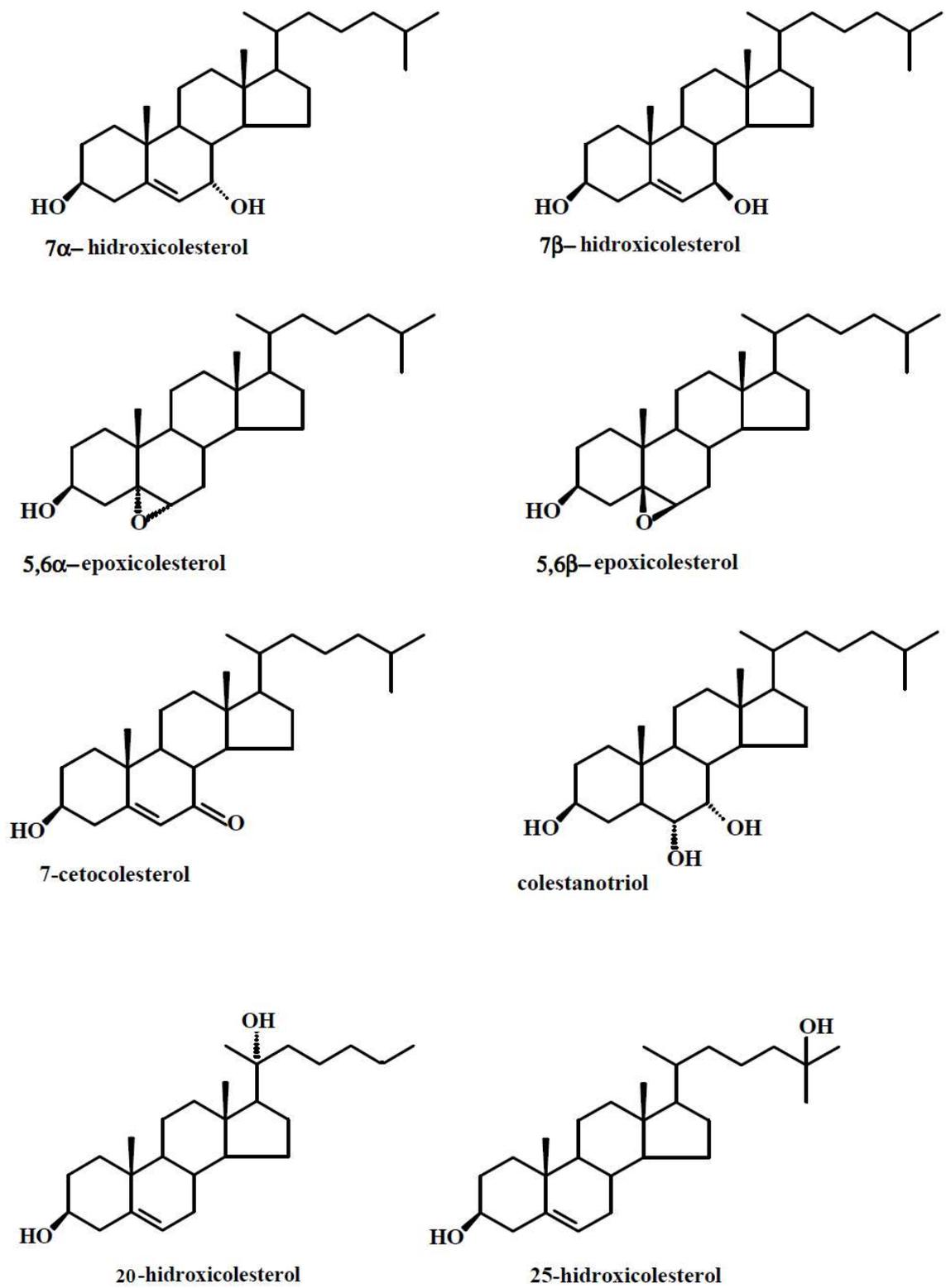
Esses óxidos podem ser formados devido às reações de oxidação causadas pela interação do colesterol com oxigênio, exposição à luz, armazenamento prolongado, tratamentos térmicos, além de serem gerados no organismo humano por diferentes processos oxidativos e enzimáticos. São biologicamente ativos e atuam na inibição da síntese de colesterol, causam distúrbio no metabolismo do ácido araquidônico e estão envolvidos no desenvolvimento das principais doenças crônicas, incluindo aterosclerose, processos neurodegenerativos, diabetes, falência renal, e ainda apresentam efeitos citotóxicos, aterogênicos, mutagênicos e carcinogênicos (Osada *et al.*, 1993). Os COPs possuem grupos funcionais álcool, cetona e epóxi inseridos na molécula do colesterol, conferindo-lhes maior polaridade e definindo o tipo e a intensidade de seus efeitos biológicos (Peng *et al.*, 1991).



**Figura 3.** Metabolismo do colesterol. Adaptado de Iuliano (2011).



**Figura 4.** Estrutura do colesterol. Bragagnolo (2009).



**Figura 5.** Estrutura dos principais óxidos de colesterol presentes em alimentos.

O perfil e a quantidade de óxidos produzidos durante o processamento e o armazenamento de alimentos são muito dependentes de suas características, sendo assim, a oxidação lipídica precede a oxidação do colesterol e quanto maior for o grau de insaturação dos triacilgliceróis, maior será a formação de óxidos de colesterol (Sampaio *et al.*, 2006).

Os COPs produzidos pelo organismo humano ou consumidos pela dieta podem participar ativamente de várias rotas metabólicas como reguladores de expressão gênica e mediadores do transporte de esteróis e apesar de sua importância para a saúde, ainda não foram estabelecidos teores seguros para sua ingestão (Vicente *et al.*, 2012).

### **2.3.Tratamento térmico**

A cocção causa vários efeitos positivos na carne, melhorando sua palatabilidade e características sensoriais, aumentando a vida de prateleira através da redução da carga microbiana e da inativação enzimática, além de facilitar o processo digestivo de quem a consome. Por outro lado, causa alguns efeitos negativos como a produção de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e perdas nutricionais de vitaminas e minerais (Broncano *et al.*, 2009).

De acordo com Ornelas (2001), a cocção pode ser feita por dois processos básicos: calor úmido ou calor seco. No primeiro utiliza-se a água como meio de cocção, podendo entrar em contato direto com o alimento ou através do vapor, hidratando-o e possibilitando a dissolução de seus nutrientes hidrossolúveis na água de cozimento. Enquanto que o calor seco provoca a desidratação dos alimentos, concentrando seus nutrientes e favorecendo seu sabor, os métodos mais usados são grelhar, assar em forno ou micro-ondas e fritar.

Os métodos de cocção mencionados podem levar a ocorrência de reações físico-químicas que modificam a aparência, o sabor, a cor, a textura e o valor nutricional das carnes, resultantes da evaporação ou absorção de água, incorporação de óleo, contato direto com a chapa de aquecimento, duração e temperatura utilizados no cozimento, formação de crosta na superfície do alimento, desnaturação proteica, oxidação lipídica, reação de Maillard (Serrano *et al.*, 2007).

Em relação ao perfil lipídico, na maioria dos estudos que avaliaram carnes após terem sido submetidas a diferentes tratamentos térmicos, constataram alterações nos teores de ácidos graxos. Nas amostras de carne de coelho (Dal Bosco *et al.*, 2001), de porco (Haak *et al.*, 2007) e de potro (Domínguez *et al.*, 2015) que foram fritas em azeite de oliva e acabaram tendo seus teores de ácidos graxos saturados e poli-insaturados reduzidos e os monoinsaturados

aumentados, devido à absorção do tipo de gordura utilizada para fritar. A carne bovina (Gerber *et al.*, 2009; Alfaia *et al.*, 2010) e a de cordeiro (Maranesi *et al.*, 2005) quando foram grelhadas e assadas também apresentaram diminuição no teor de ácidos graxos poli-insaturados. Segundo Miranda *et al.* (2010), vários fatores podem influenciar nestas modificações, tais como a duração e a temperatura da cocção, a espessura do corte da carne, resultando em maior ou menor área de superfície e a composição química.

Vários trabalhos que utilizaram condições semelhantes durante o processo de grelhar, também evidenciaram a ocorrência de oxidação lipídica em diferentes tipos de carnes, através do aumento das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Juaréz *et al.*, 2010; Janiszewski *et al.*, 2016), do teor dos óxidos de colesterol (Broncano *et al.*, 2009), bem como da elevação nas concentrações dos compostos voláteis (Domínguez *et al.*, 2014a).

## 2.4. Estocagem

Dentre os métodos de conservação de alimentos, o congelamento tem sido o mais empregado em produtos cárneos com o objetivo de preservá-los por longos períodos de tempo, podendo variar de meses a anos de conservação (Pietrasik e Janz, 2009).

Dependendo das condições de como é feito o congelamento, em relação à temperatura, exposição à luz e ao ar, tipo de embalagem utilizada e ao tempo de estocagem, poderá acarretar em alterações de algumas características sensoriais da carne, como a cor, a textura e o sabor (Muela *et al.*, 2012). Isso pode ser explicado através da quantidade, do tamanho e da morfologia dos cristais de gelo formados principalmente durante o congelamento lento e em situações de flutuação da temperatura de congelamento (Ballin e Lametsch, 2008).

No congelamento de carnes, o aumento da força iônica intracelular seguido da migração de água para os espaços extracelulares pode resultar em desnaturação proteica. A ruptura das fibras musculares ocasiona diminuição da capacidade das proteínas em reter água, permitindo que seja lixiviada na forma de exsudato (Lui *et al.*, 2010).

A oxidação lipídica pode ser favorecida pelo congelamento que aumentará a produção de radicais livres e tornará a mioglobina mais susceptível à oxidação, dando início a uma reação em cadeia, na qual todos os processos oxidativos estão associados (Leygonie *et al.*, 2012). Segundo Botsoglou *et al.* (2014), a concentração de ácidos graxos poli-insaturados nas membranas fosfolipídicas das carnes de diferentes espécies associada às condições de congelamento irão determinar a ocorrência das reações de oxidação lipídica. Além disso, a

presença de enzimas lipolíticas (lipases, fosfolipases e lipoxigenases) também podem estar envolvidas nos processos oxidativos, sendo que algumas delas são capazes de atuar em temperaturas de congelamento, em torno de  $-20^{\circ}\text{C}$  (Zaritzky, 2012).

Huang *et al.* (2013) analisaram amostras de carne suína congeladas à  $-18^{\circ}\text{C}$ , após 90 dias e 180 dias de armazenamento e revelaram que houve diminuição nos teores dos ácidos graxos mono e poli-insaturados, decorrentes da hidrólise lipídica, comprovando a ocorrência tanto das reações de lipólises quanto das oxidativas durante o congelamento. Nos estudos de Lima (2012) com carne caprina e Muela *et al.* (2012) com carne de cordeiro, ambas armazenadas a  $-18^{\circ}\text{C}$  por 120 dias, foi constatado que ocorreu a redução no teor dos ácidos graxos poli-insaturados e aumento dos TBARS. Essas evidências revelam que o congelamento pode ocasionar alterações lipídicas resultantes dos processos oxidativos.

## 2.5. Antioxidantes no organismo e em alimentos

De acordo com Halliwell e Gutteridge (2007), antioxidante é definido como sendo qualquer substância que quando presente em baixas concentrações, comparada a do substrato oxidável, é capaz de atrasar ou inibir a oxidação deste substrato de forma eficaz.

Os antioxidantes podem ser classificados em dois principais sistemas: enzimático e não-enzimático. O sistema enzimático é formado pelas enzimas antioxidantes: superóxido dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx) e catalase (Cat) que constituem a primeira defesa endógena aos ataques das espécies reativas de oxigênio, impedindo sua formação ou simplesmente sequestrando-as para bloquear a etapa de iniciação da cadeia radicalar (Ratnam *et al.*, 2006).

Essas três enzimas atuam por mecanismos sinérgicos para garantir a proteção celular que só será assegurada se houver a manutenção de um equilíbrio na sua atividade, podendo ser afetado pela presença de espécies reativas de oxigênio (Michiels *et al.*, 1994). O desequilíbrio entre os fatores pró-oxidantes e antioxidantes caracteriza o estresse oxidativo que dependendo das biomoléculas afetadas, poderá resultar no desenvolvimento de doenças cardiovasculares, neurodegenerativas e até mesmo os cânceres (Ansolini *et al.*, 2006).

Fazem parte do sistema não-enzimático alguns minerais (zinco, cobre, selênio), carotenoides (beta-caroteno, licopeno, luteína), flavonoides, compostos fenólicos, vitaminas

(ácido ascórbico, vitaminas E e A, riboflavina), todos provenientes de fontes alimentares que na maioria dos casos são de origem vegetal (Barbosa *et al.*, 2006).

Os antioxidantes adicionados aos alimentos podem atuar por diferentes mecanismos, como os antioxidantes primários (compostos fenólicos, tocoferóis) que atuam inibindo as fases de iniciação, propagação e as reações de  $\beta$ -clivagem através da doação de elétrons ou hidrogênio aos radicais livres, e os antioxidantes secundários (ácido ascórbico, ácido cítrico, carotenoides) que podem funcionar como quelantes de metais pró-oxidantes, bloqueadores de oxigênio singlete e na conversão de hidroperóxidos a espécies não-radicalares, retardando a auto-oxidação (Brewer, 2011).

Grande importância tem sido dada à identificação, purificação e utilização de novos compostos, oriundos de fontes naturais, que apresentam atividade antioxidante a fim de aumentar o consumo na dieta diária da população. Segundo Halliwell (2012), o sistema de defesa antioxidante endógeno é inadequado para prevenir completamente os danos oxidativos, sendo assim, dietas ricas em frutas, grãos e vegetais se tornam de grande relevância para manter a saúde humana, já que as plantas estão repletas de compostos antioxidantes porque estão sujeitas a severo estresse oxidativo decorrente da produção de oxigênio durante a fotossíntese.

De acordo com os trabalhos encontrados na literatura vários condimentos e ervas aromáticas por apresentarem potencial antioxidante poderiam ser empregadas em alimentos, aumentando o consumo de produtos naturais pela população. Dentre eles destacam-se orégano (Kosar *et al.*, 2008), alecrim (Fernández-Lopez *et al.*, 2003; Bragagnolo *et al.*, 2005), manjeriço (Lee e Scagel, 2009), cúrcuma (Anand *et al.*, 2008), sálvia (McCarthy *et al.*, 2001; Mariutti *et al.*, 2011), tomilho (Teissedre e Waterhouse, 2000), gengibre (El-Ghorab *et al.*, 2010) pimentas (Costa *et al.*, 2010), alho (Okada *et al.*, 2005), urucum (Sancho *et al.*, 2011; Chisté *et al.*, 2011; Castro *et al.*, 2011; Figueirêdo *et al.*, 2014 e 2015) e coentro (Sancho *et al.*, 2011).

## 2.6. Pimenta cumari

As espécies de pimentas e pimentões do gênero *Capsicum* (do grego Kopto, que significa morder, picar) pertencem à família *Solanacea* e são amplamente produzidas no Brasil, o qual se destaca por ser grande centro de diversidade genética desse gênero (Costa *et al.*, 2010).

Dentre as 26 espécies do gênero *Capsicum*, cinco são domesticadas e largamente cultivadas e utilizadas pelo homem: *C. annuum*; *C. baccatum*; *C. chinense*; *C. frutescens* e *C. pubescens*. A espécie *C. baccatum* apresenta como uma de suas variedades botânicas a *C. baccatum var praetermissum* comumente chamada de pimenta cumari, espécie endêmica do Brasil, bem popular na região Sudeste do país sendo encontrada também em estado silvestre, crescendo sob árvores diversas, inclusive próximas às plantações de café (Pereira e Santos, 2013). Estas características foram relevantes para a escolha da pimenta cumari ser utilizada no presente trabalho.

O mercado de pimentas é bastante diversificado, indo desde a comercialização *in natura* e as formas processadas, como molhos, conservas, flocos desidratados e pó (Furtado *et al.*, 2006). A comercialização de pimentas apresenta grande importância socioeconômica, visto que incentiva a agricultura familiar, diversificando a produção e aumentando a geração de empregos e a renda do setor agrícola brasileiro (Vilela, 2004).

A composição química das pimentas é bem diversa e entre os principais componentes, estão: capsaicinoides, ácidos fenólicos, carotenoides, tocoferóis e o ácido ascórbico, variando seus teores de acordo com o genótipo e o grau de maturação (Dutra *et al.*, 2010). Segundo Rosa *et al.* (2002), a capacidade antioxidante dos capsaicinoides inibe a peroxidação de lipídios com desempenho semelhante ao tocoferol.

O estudo de Costa *et al.* (2010) que analisou as pimentas *C. frutescens* (malagueta), *C. baccatum var pendulum* (cambuci) e *C. baccatum var praetermissum* (cumari), constatou que poderiam ser utilizadas como antioxidantes naturais em alimentos, por apresentarem elevadas concentrações de capsaicinoides e fenólicos totais. O trabalho de Oliveira (2011) com pimenta malagueta, dedo de moça e pimenta de cheiro, revelou que por conterem altos teores de fenólicos totais e carotenoides totais resultaram em elevada atividade antioxidante *in vitro*.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo Geral**

Analisar a composição de ácidos graxos da carne de búfalo e avaliar sua estabilidade lipídica durante o armazenamento a frio e após cocção, com e sem adição de pimenta cumari.

### 3.2. Objetivos Específicos

- a) Determinar a composição de ácidos graxos, o teor de colesterol, óxidos de colesterol, lipídeos totais e umidade da carne bubalina das raças Murrah, Jafarabadi e Mediterrâneo;
- b) Avaliar a estabilidade oxidativa da carne de búfalo, da raça que apresentou maior teor de ácidos graxos poli-insaturados, analisando amostras com e sem adição de pimenta cumari, cruas e submetidas a tratamento térmico em grill elétrico a 180 °C, após os tempos de estocagem (0, 15, 30, 60 e 90 dias) em freezer a -18 °C quanto a composição de ácidos graxos, ao teor de colesterol, a formação de óxidos de colesterol e de compostos voláteis (pentanal e hexanal);
- c) Caracterizar a pimenta cumari por meio da determinação de fenólicos totais, clorofila total e quantificação de capsaicinoides;
- d) Estabelecer o teor de adição da pimenta cumari em carne de búfalo submetida a tratamento térmico em grill elétrico a 180 °C, por meio do teste de aceitabilidade;

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Reagentes e materiais

Na identificação dos ácidos graxos foi utilizada mistura de padrões contendo ésteres metílicos dos ácidos graxos (EMAG) de 4:0 a 24:0 (FAME Mix C4-C24, Supelco, Bellefonte, Pensilvânia, EUA e FAME 22:4n-6, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). Os padrões internos utilizados para a quantificação foram os ésteres metílicos dos ácidos undecanóico (11:0) e nonadecanóico (19:0) da marca Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA.

Os padrões usados para identificar e quantificar os compostos voláteis foram pentanal, 2-metilpentanal (padrão interno), hexanal, 1-penten-3-ol, heptanal, 2-pentilfurano, 1-pentanol, octanal, 1-hexanal, nonanal, 1-octen-3-ol, 1-heptanol, decanal 1-octanol, e 2-octen-1-ol da Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA).

Para identificar e quantificar os capsaicinoides foi empregado o padrão de capsaicina e dihidrocapsaicina da Cayman Chemical Company (Arbor, MI, USA). Os

solventes, sais, ácidos e reagentes utilizados nas diferentes análises foram de grau analítico das marcas Synth (Diadema, São Paulo). O hexano utilizado para a injeção da amostra no cromatógrafo foi de grau HPLC da Panreac (Barcelona, Espanha).

#### 4.2. Amostragem

As amostras de carne de búfalo das raças Murrah, Jafarabadi e Mediterrâneo foram fornecidas pelo frigorífico COWPIG localizado na cidade de Boituva-SP. De cada raça foram analisados 3 lotes e cada lote foi composto de  $\pm 1$  kg (500 g do lado direito e 500 g do lado esquerdo do animal) do qual foi retirada toda gordura externa, sendo a carne limpa triturada em processador até a obtenção de uma massa homogênea (**Figura 6**).

As amostras foram submetidas às análises de umidade, lipídeos totais, colesterol e óxidos de colesterol e a composição de ácidos graxos. Posteriormente a caracterização lipídica, a raça que apresentou maior teor de ácidos graxos poli-insaturados foi utilizada para avaliação da estabilidade lipídica, utilizando-se dois lotes. Cada lote foi constituído de  $\pm 1$  kg que após a retirada da gordura externa e homogeneização foi dividido em duas porções de aproximadamente 0,5 kg. Uma porção foi adicionada de 0,2% de pimenta cumari liofilizada (*C. baccatum var praetermissum*) e a outra porção foi o controle, sem adição de pimenta.

Foram adquiridos 500g de frutos inteiros de pimenta cumari in natura na Central de Abastecimento de Campinas S.A (CEASA) e logo em seguida no Laboratório de Química de Alimentos- UNICAMP, foram congelados em nitrogênio líquido e liofilizados, durante 36h em liofilizador. Após esse tempo, os frutos da pimenta foram triturados em mixer doméstico, embalados a vácuo em sacos de polietileno e armazenados em freezer a  $-36^{\circ}\text{C}$  até o momento em que as análises foram feitas. A concentração utilizada de pimenta cumari foi decorrente dos resultados do teste de aceitabilidade (Item 4.3.7.). Hambúrgueres de  $80 \pm 2$  g foram moldados, embalados em sacos plásticos transparentes e armazenados em freezer horizontal a  $-18^{\circ}\text{C}$  durante 0, 15, 30, 60 e 90 dias. Em cada tempo de estocagem foram descongelados 6 hambúrgueres sendo 3 homogeneizados novamente e analisados e 3 foram grelhados em grill elétrico a  $180^{\circ}\text{C}$  por 3 minutos de cada lado, atingindo temperatura interna de aproximadamente  $78^{\circ}\text{C}$  e em seguida homogeneizados e analisados.

MURRAH		JAFARABADI		MEDITERRÂNEO	
↓		↓		↓	
LOTE 1		LOTE 2		LOTE 3	
Lado Direito	Lado Esquerdo	Lado Direito	Lado Esquerdo	Lado Direito	Lado Esquerdo
500 g	500 g	500 g	500 g	500 g	500 g

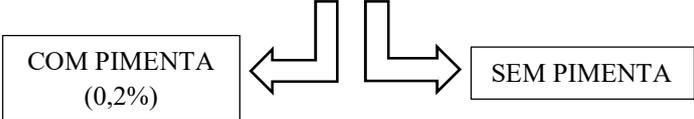
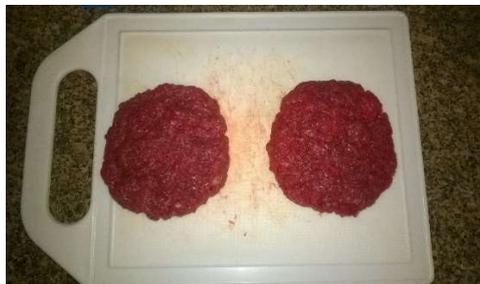


Umidade, Lipídeos Totais, Ácidos graxos, Colesterol e óxidos de colesterol

MURRAH



Lote 1	
Lado Direito	Lado Esquerdo
500 g	500g



Hambúrgueres (80 ± 2 g) congelados a -18°C por 0, 15, 30, 60 e 90 dias, analisados



Ácidos graxos, Colesterol, Óxidos de colesterol, Voláteis

**Figura 6.** Esquematização dos procedimentos de preparação das amostras.

### 4.3.Métodos

A umidade foi medida por gravimetria de acordo com a metodologia da AOAC (1997) e o teor de lipídeos totais por extração pelo método de Folch *et al.* (1957), utilizando 3 extrações com clorofórmio : metanol (2:1), seguidas de filtração simples em funil de separação, posteriormente adicionado ao filtrado solução de KCL 0,74% em H<sub>2</sub>O, para fazer a separação das fases, repetindo esse processo duas vezes. O extrato obtido foi transferido para balão de fundo redondo, previamente pesado, e foi evaporado a 40 °C em rotaevaporador. A diferença de peso encontrada foi por determinação gravimétrica.

#### 4.3.1.Determinação de ácidos graxos

Os ácidos graxos obtidos a partir do extrato lipídico, proveniente da extração pelo método de Folch *et al.*(1957), foram convertidos a EMAG de acordo com a metodologia de Joseph e Ackman (1992), os quais foram posteriormente diluídos em hexano para injeção em cromatógrafo a gás (modelo GC2010, Shimadzu, Kyoto, Japão), equipado com injetor Split (1/50) a 250° C, coluna capilar de sílica fundida (100 m comprimento, 0,25 mm d.i., 0,20 mm espessura de fase estacionária) (CP-SIL 88, Chromopack, Middleburg, Holanda); detector de ionização em chama (FID) a 260° C e workstation (GCSolution, SHIMADZU, Kyoto, Japão). A temperatura da coluna cromatográfica foi programada para iniciar a 120° C mantendo-se nessa temperatura por 8 minutos, aumentando para 160°C, com taxa de 20°C por minuto, aumentando novamente a 3°C por minuto até 195°C permanecendo por 10 minutos, aumentando a 3°C por minuto até 210°C, aumentando novamente a 35°C por minuto até 220°C, mantendo-se nesta temperatura por 3 minutos e finalmente aumentando a 20°C por minuto até 240°C e mantendo-se nesta temperatura por 5 minutos, totalizando 46 minutos de corrida. Foi utilizado o hidrogênio como gás de arraste com velocidade linear de 34 cm/s e o fluxo de nitrogênio a 30 mL/min como gás *make up*, do hidrogênio a 40 mL/min e do ar sintético a 4000 mL/min. O volume de injeção foi de 2 µL por meio da técnica de *hot needle* por 5 segundos.

A identificação dos ésteres metílicos foi realizada por comparação dos tempos de retenção dos picos dos padrões com os tempos de retenção da amostra. A quantificação dos AG foi realizada por comparação da área de cada EMAG com a área do padrão interno, utilizando os fatores de conversão de ésteres metílicos para AG e os fatores de correção de resposta do FID teórico em relação ao 16:0 (AOCS, 1997).

A determinação da concentração de cada ácido graxo foi realizada de acordo com a equação:

$$[\text{AG}] = \frac{m \text{ PI} \times \text{área EMAG} \times (\text{FIDx}/\text{FID16:0}) \times \text{Fc} \times \text{LT Amostra}}{m \text{ Amostra} \times \text{área PI}}$$

Onde:

m PI = massa do padrão interno adicionado à amostra

área EMAG = área do EMAG no cromatograma

FIDx/FID16:0 = fator de resposta de cada EMAG no FID em relação ao 16:0

Fc = fator de conversão de EMAG para AG

LT Amostra = lipídios em g/100g de amostra

m Amostra = massa da amostra em g

área PI = área do padrão interno no cromatograma

Sendo o resultado expresso em mg de AG/100 g de amostra.

#### 4.3.2. Colesterol e óxidos de colesterol

A amostra foi saponificada a frio segundo Mariutti *et al.* (2008), sendo o colesterol e os óxidos de colesterol extraídos com hexano e injetados no cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC). O HPLC utilizado (modelo LC10 Shimadzu, Kyoto, Japão) consistiu de sistema isocrático de bombas (LC 10AT VP), degaseificador a He (DGU 2A), detectores UV (LC10AV VP) a 210 nm e índice de refração (RID 10A) em série, forno (CTO 10AS VP) a 32 °C, injetor manual Rheodyne (20 µL), interface cromatógrafo-computador (SCL 10VP) e software Class VP (versão 5.05). Para a separação dos compostos foi empregada a coluna CN (Waters, Millford, MS, EUA), 30 cm x 5 mm x 4 µm de diâmetro de partícula, com fase móvel hexano + isopropanol (97:3) e vazão 1 mL/min, utilizando-se as condições cromatográficas estabelecidas por Saldanha *et al.* (2006).

Os picos foram identificados por comparação com os tempos de retenção dos padrões de colesterol e dos óxidos de colesterol: 20 $\alpha$ -OH, 22R-OH, 22S-OH, 25-OH, 5,6 $\alpha$ - e 5,6 $\beta$ -epóxido, 7-ceto e 7 $\alpha$ - e 7 $\beta$ -OH. A quantificação foi por padronização externa realizada com base na curva analítica com seis pontos, com concentrações variando de 0,5 a 100 µg/mL para os óxidos de colesterol, considerando os limites de detecção e quantificação apresentados na **Tabela 2**, e de 0,08 a 4 mg/mL para o colesterol.

**Tabela 2.** Limites de detecção e de quantificação dos óxidos de colesterol

Óxidos de colesterol	LD (µg/mL)	LQ (µg/mL)
20 $\alpha$ -OH	0,04	0,15
22R-OH	0,34	0,83
22S-OH	0,12	1,01
25-OH	0,20	1,14
5,6 $\alpha$ -epóxido	1,49	3,58
5,6 $\beta$ -epóxido	2,85	7,73
7-ceto	0,15	0,92
7 $\beta$ -OH	0,24	0,87
7 $\alpha$ -OH	0,41	1,33

LD: limite de detecção; LQ: limite de quantificação.

A identificação dos óxidos de colesterol foi confirmada pelo HPLC-APCI-MS/MS (HPLC Shimadzu, Kyoto-Japão; MS Brucker Daltonics, modelo Amazon ETD, Bremen-Alemanha) usando as condições cromatográficas descritas detalhadamente por Zardetto *et al.* (2014) e as condições do MS previamente otimizadas por Mariutti *et al.* (2008).

#### 4.3.3. Determinação de voláteis

Os compostos voláteis oriundos da oxidação lipídica foram determinados segundo a metodologia de Souza e Bragagnolo (2014) por micro-extração em fase sólida do headspace (HS-SPME) com uso da fibra (DVB/CAR/PDMS). As amostras de carne de búfalo foram homogeneizadas com auxílio do turrax e na presença de 30 mL de água destilada e posteriormente, foram transferidos 4g dessa solução para os vials próprios para serem usados no cromatógrafo. A análise cromatográfica foi realizada em GC-MS (Shimadzu, Kyoto, Japão), equipado com injetor splitless a 250°C, coluna capilar (30 m  $\times$  0,25 mm i.d., 0,20  $\mu$ m de espessura de fase estacionária – polietileno glicol) modelo RTX-Wax (Restek, Bellefonte, PA, USA); workstation (GCMSolution, Shimadzu, Kyoto, Japan); fonte de íons de ionização por elétrons (EI) em 70 eV a 250 °C, com corte de solvente em 1,1 min. O analisador de massa/carga

( $m/z$ ) foi um quadruplo operando em modo de varredura (SCAN = 35-350  $m/z$ ) para a identificação dos compostos e em modo de monitoramento seletivo de íons (SIM) para quantificação. O He será utilizado como gás de arraste no modo de controle de fluxo linear com fluxo da coluna constante a 1,22 mL/min. A programação de temperatura do forno iniciou em 30 °C por 5 min, seguida de aquecimento a 10 °C/min até 115 °C, mantida nessa temperatura por 1 min, posteriormente aquecida a 30 °C/min até 220 °C, mantida por 7 min, totalizando 25 min, com base em Souza e Bragagnolo (2014).

A identificação dos compostos voláteis foi realizada por comparação dos espectros de massas obtidos nas amostras com os espectros de massas dos padrões analíticos e com os da biblioteca de espectros (Wiley 9). Adicionalmente, utilizando uma série de alcanos (C5-C24), foi realizado o cálculo do índice de retenção (IR) para cada composto com a coluna RTX-Wax e comparado com os da literatura para colunas de mesma polaridade (Dool e Kratz, 1963; Acree e Arn, 2004; El-Sayed, 2012).

#### **4.3.4. Quantificação de fenólicos totais**

Foi adicionada 1g de pimenta cumari com metanol/água (8:2), macerados em almofariz e filtrados em funil de Bücher a vácuo. O extrato foi evaporado em evaporador rotatório em temperatura maior que 40°C, ressuspendido em água, mantido em freezer por 20 min e centrifugado a 2000 rpm por 20 min. A determinação dos compostos fenólicos totais foi realizada por meio da reação com o reagente Folin-Ciocalteu (Merck, Darmstadt, Alemanha), segundo o procedimento de Singleton e Rossi (1965), onde 1 mL de extrato foi transferido para balão volumétrico de 25 mL, contendo 9 mL de água ao qual foi adicionado 1 mL de reagente Folin-Ciocalteu. Após 5 minutos foram adicionados 10 mL de solução de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a 7% e o volume completado com água. A solução foi incubada durante 90 minutos no escuro. O mesmo procedimento foi realizado para as diferentes concentrações de padrão de ácido gálico utilizada na construção da curva analítica. A leitura da absorbância foi feita em espectrofotômetro de arranjo de diodos (Agilent modelo 8453, Palo Alto, USA) a 765 nm. A quantificação foi realizada com base na curva analítica construída com o padrão de ácido gálico em 10 concentrações, variando de 5 a 50 mg/mL. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico/100 g de amostra.

#### 4.3.5. Quantificação de capsaicinoides

A extração de capsaicinoides foi feita com 1 g de pimenta cumari liofilizada com adição de 25 mL de metanol e homogeneização em turrax por 3 minutos, posteriormente este extrato foi colocado em ultrassom Unique UC1400 (Indaiatuba, SP, Brasil) trabalhando numa frequência de 40 kHz e a temperatura de 24°C/ 10 minutos. A quantificação de capsaicinoides foi realizada baseada na metodologia de Sganzerla *et al.* (2014), usando para a análise cromatográfica um UHPLC-DAD-MS/MS Thermo LCQ Fleet system (Thermo Fisher, San Jose, CA, EUA). A separação dos capsaicinoides foi obtida com uma coluna Hypersil Gold C18 com poros de 175 Å (1.9 µm, 3 mm × 100 mm) e fase móvel composta de água (A) e acetonitrila (B) (A:B (40:60, v/v) no modo isocrático com razão de fluxo de 0,5mL min<sup>-1</sup>.

Os capsaicinoides nas amostras foram identificados pelo tempo de retenção em relação aos padrões e por comparação dos espectros de massa entre os padrões e a biblioteca dos espectros. O espectrômetro de massas foi equipado com fonte de ionização APCI no modo positivo de ionização, trabalhando com temperatura de vaporização de 300 °C, pressão do gás a 50 unidades, pressão do gás auxiliar a 5 unidades, voltagem da agulha de 6 kV e sistema operacional de detecção íon trap no modelo de seleção de varredura dos íons de massa/carga 80-310 m/z. A quantificação foi feita por curva analítica com os padrões analíticos utilizando os fragmentos alvos (*m/z*) de 306 para a capsaicina e 308 para dihidrocapsaicina.

#### 4.3.6. Extração e quantificação de clorofila

A quantificação de clorofila foi feita seguindo as etapas descritas no trabalho de Sancho (2010). As amostras de 1 g de pimenta cumari liofilizada foram misturadas em almofariz, adicionadas de 5 mL de acetona/água (8:2), em seguida, o material foi filtrado a vácuo e transferido para balão volumétrico de 25 mL, sendo o volume completado com acetona/água (8:2). A absorbância da solução foi lida em espectrofotômetro (Agilent modelo 8453, Palo Alto, USA) a 647 e 663 nm.

Os teores de clorofilas totais foram calculados de acordo com as equações propostas por Lichtenthaler (1987):

$$\text{Clorofilas totais} = 7,15 (A663) + 18,71 (A647) \text{ (Eq.1)}$$

$$\text{Clorofila a} = 12,25 (A663) - 2,79 (A647) \text{ (Eq.2)}$$

$$\text{Clorofila b} = 21,50 (A647) - 5,10 (A663) \text{ (Eq.3),}$$

onde A663 e A647 correspondem às absorvâncias a 663 e 647 nm, respectivamente. As concentrações de clorofila obtidas por meio da absorvância foram calculadas em  $\mu\text{g/mL}$  de solução de extrato de pimenta cumari.

#### 4.3.7. Análise sensorial

Após ter sido registrada na Plataforma Brasil com o número de protocolo 35519914.4.0000.5404 e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNICAMP, a análise sensorial foi realizada com aplicação de fichas de avaliação para o teste de aceitabilidade (**Figura 7**), empregando a escala hedônica de cinco pontos, com 30 participantes, utilizando-se diferentes concentrações de pimenta cumari em pó (0,05%; 0,1% e 0,2%) adicionada na preparação de hambúrgueres de carne de búfalo.

A carne de búfalo (0,3 kg) após a retirada da gordura externa foi triturada em processador doméstico até a obtenção de uma massa homogênea, dividida em três porções iguais. Em uma porção foi adicionado 0,05 g de pimenta cumari em pó em cada 100 g de carne, na segunda, 0,1 g de pimenta cumari em pó em cada 100 g de carne, e terceira porção, 0,2 g de pimenta cumari em pó em cada 100 g de carne. Não houve adição de sal ou de outro tempero além da pimenta cumari, uma vez que todos os degustadores eram aptos em experimentar amostras de carne. Hambúrgueres de  $100 \pm 2$  g foram moldados e grelhados em grill elétrico a  $180^\circ\text{C}$  por 3 minutos de cada lado, atingindo temperatura interna de aproximadamente  $78^\circ\text{C}$ .

Os participantes do teste de aceitabilidade entravam, em grupos de 5, no anfiteatro do Laboratório de carnes do Departamento de Tecnologia de Alimentos da FEA-Unicamp e recebiam, alternadamente, 3 pratos brancos, descartáveis, que continham pequenos pedaços dos hambúrgueres grelhados, sendo que em cada prato havia uma amostra com um código que

correspondia a uma determinada concentração de pimenta. Após a degustação de cada amostra, os participantes preencheram a ficha de avaliação (**Figura 7**).

Nome:	Código da amostra:
Idade:	
<b>Teste de Aceitabilidade</b>	
Avalie a amostra de carne de búfalo e use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou.	
5- Gostei muito	(    ) SABOR
4- Gostei moderadamente	
3- Nem gostei/Nem desgostei	
2- Desgostei moderadamente	
1- Desgostei muito	
Comentários:	

**Figura 7.** Modelo da ficha de avaliação entregue aos participantes da análise sensorial.

#### 4.3.8. Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando o software Statistica 7.0. Os resultados obtidos e as médias foram comparados pela análise de variância (ANOVA), com significância baseada no nível de 0,5 de probabilidade.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Composição lipídica da carne de búfalo de 3 diferentes raças

Os resultados das análises de umidade e de lipídeos totais da carne de búfalo in natura das raças Jafarabadi, Mediterrâneo e Murrah, encontram-se na **Tabela 3**.

**Tabela 3.** Teor de umidade e de lipídeos totais do músculo *Longissimus dorsi* de búfalo in natura de 3 raças diferentes.

	Jafarabadi	Mediterrâneo	Murrah
Umidade (g/100g)	75,50±2,14 <sup>a</sup>	74,33±1,17 <sup>a</sup>	76,48±1,03 <sup>a</sup>
Lipídeos totais (g/100g)	1,94±0,08 <sup>a</sup>	1,85±0,19 <sup>a</sup>	1,59±0,25 <sup>a</sup>

Médias de nove amostras analisadas em triplicata. Na mesma linha, médias seguidas por letras diferentes diferem significativamente ( $p < 0,05$ ).

Pode-se verificar, na **Tabela 3**, que em relação ao teor de umidade não houve diferença significativa entre as raças, e tais valores foram semelhantes aos referidos por Mattos *et al.* (1997) para a raça Jafarabadi (75,80 g/100g), por Lira *et al.* (2005) para a raça Murrah (76,36 g/100g), por Rodrigues *et al.* (2004) e Juárez *et al.* (2010) para a raça Mediterrâneo (73,70 g/100g) e (73,54 g/100g), respectivamente.

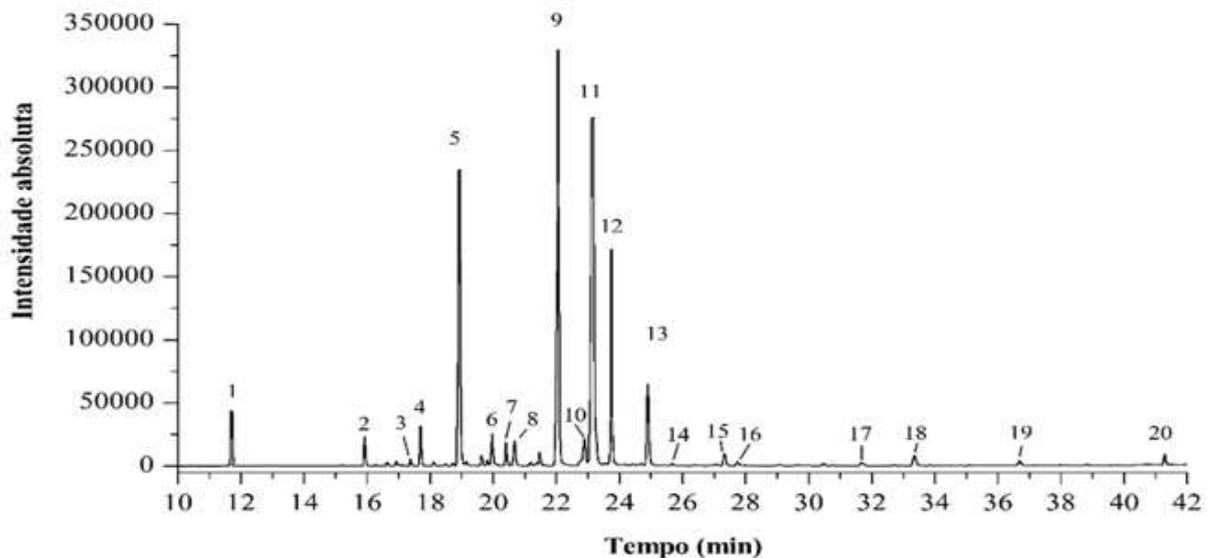
Em relação aos lipídeos totais, a raça Murrah apresentou teor de 1,59 g/100g que não diferiu significativamente das demais, sendo similar ao descrito no estudo de Nascimento *et al.* (1993) (1,98 g/100g), de Lira *et al.* (2005) (1,83 g/100g) e de Francisco *et al.* (2007) (1,92 g/100g), que também analisaram o músculo *Longissimus dorsi* da raça Murrah.

Pesquisas que analisaram carne de búfalos castrados da raça Mediterrâneo (2,28 g/100g) (Andrighetto *et al.*, 2005) e Murrah (2,08 g/100g) (Storti, 2007) apresentaram teores lipídicos superiores ao do presente estudo que utilizou amostras de animais não castrados. Segundo Purchas *et al.* (2002) e Paulino *et al.* (2009), animais castrados depositam mais gordura intramuscular que os não castrados devido à redução da taxa metabólica basal, explicando assim, a baixa quantidade de gordura encontrada.

Quando comparada a outros tipos de carne, do mesmo corte, os valores de lipídeos totais, presentes na carne de búfalo das três diferentes raças: Jafarabadi (1,94 g/100g), Mediterrâneo (1,85 g/100g) e Murrah (1,59 g/100g), encontram-se inferiores aos teores determinados por Hernández *et al.* (1998) (2,74 g/100g) e Bragagnolo e Rodriguez-Amaya (2002) (2,40 g/100g) para carne suína, Marchiori (2001) para carne de javali (2,77 g/100g), Lira *et al.* (2001) para carne bovina da raça Nelore (3,83 g/100g), Cifuni *et al.* (2004) para carne de touro (2,72 g/100g), Bragagnolo e Rodriguez-Amaya (2003) para as raças de gado Nelore (2,50 g/100g), Canchim (2,60 g/100g) e Beefalo (2,10 g/100g).

Conforme a **Tabela 3** e a **Figura 8**, 18 ácidos graxos foram identificados e quantificados nas amostras de Murrah e Jafarabadi, dos quais seis são saturados, cinco são monoinsaturados, sete são poli-insaturados e dentre os monoinsaturados, temos um ácido graxo trans. A raça Mediterrâneo se diferenciou das demais por conter apenas traços dos ácidos graxos 14:1n-9, 20:0, 20:3n-6 e 22:6n-3. No estudo de Juárez *et al.* (2010), que analisou a mesma raça, também não encontraram alguns desses ácidos, evidenciando assim, que a composição lipídica da carne é influenciada pela dieta fornecida para o animal, bem como pelo tipo de criação e pelas diferenças existentes entre as raças (Puwastien *et al.*, 1999).

Os ácidos graxos de maior predominância nas carnes de búfalo foram os seguintes: palmítico (16:0); palmitoleico (16:1n-7); esteárico (18:0); oleico (18:1n-9); linoleico (18:2n-6);  $\alpha$ -linolênico (18:3n-3) e araquidônico (20:4n-6) (**Figura 8**), os mesmos também referidos no estudo de Luz (2014) que analisou amostras de carne da raça Murrah.



**Figura 8.** Cromatograma dos ácidos graxos encontrados na carne de búfalo da raça Murrah. Picos numerados segundo à Tabela 3. Picos número 1 e 12 correspondem aos padrões internos dos ácidos undecanóico (11:0) e nonadecanóico (19:0), respectivamente.

Do ponto de vista nutricional, é de grande importância que a quantificação dos ácidos graxos seja expressa em mg/100g, por se tratar do real teor contido nos alimentos (**Tabela 4**). No entanto, os estudos presentes na literatura científica ainda apresentam seus resultados em porcentagem de área. E dessa forma, para fazer a comparação com os dados da literatura os resultados foram expressos também em porcentagem de área (**Tabela 4**).

Dentre os ácidos graxos saturados detectados, o ácido esteárico (18:0) foi o que apresentou um dos maiores teores para as raças Jafarabadi (32,86%), Mediterrâneo (36,33%) e Murrah (31,21%) próximo ao referido por Juárez *et al.* (2010) (29,10%) e por Calabro *et al.* (2014) (27,20%), superior aos relatados por Rodrigues *et al.* (2004) (18,00%) e por Lira *et al.* (2005) (19,26%). Este ácido graxo é considerado neutro por não ter efeito sobre as lipoproteínas sanguíneas (Kris-Etherton e Yu, 1997), não sendo capaz de alterar a colesterolemia, visto que, sob a ação das enzimas dessaturases e elongases, é rapidamente convertido a ácido oleico no fígado (Lottenberg, 2003).

O ácido palmítico (16:0) é considerado um dos mais abundantes na alimentação humana com capacidade de elevar os níveis de lipoproteínas de baixa densidade (LDL-colesterol) (Lima *et al.*, 2000; Lottenberg, 2003) e no presente estudo, não houve diferença estatística entre as 3 raças, Mediterrâneo (27,66%), Jafarabadi (26,15%) e Murrah (23,90%). Teores semelhantes foram relatados nas pesquisas de Luz (2014) (27,23%), Rodrigues *et al.* (2004) (23,70%) e Juárez *et al.* (2010) (23,30%).

O ácido mirístico (14:0) não é encontrado em grande quantidade em carnes, no entanto, está correlacionado com o aumento do nível de lipoproteína de alta densidade (HDL-colesterol) no plasma, podendo proteger os indivíduos do desenvolvimento e da progressão da aterosclerose (Zhu e Smart, 2005). Além disso, este ácido graxo pode estimular a enzima sintase do óxido nítrico (NOS), nas células endoteliais, resultando na produção de óxido nítrico, o qual atua na redução da pressão arterial, na prevenção da aterogênese e na formação de placas ateromatosas que são responsáveis pelo endurecimento das artérias, devido à perda da elasticidade na parede arterial (Lu *et al.*, 2014). Nas amostras analisadas, foi encontrado o menor teor de ácido mirístico na raça Mediterrâneo (1,08%) diferindo das raças Jafarabadi (1,48%) e da Murrah (1,58%), sendo similar ao referido por Calabro *et al.* (2014) também para a raça Mediterrâneo (1,06%) e por Rodrigues *et al.* (2004) para búfalos Murrah (1,51%).

**Tabela 4.** Perfil de ácidos graxos expressos em mg/100g, base úmida e porcentagem de área do músculo *Longissimus dorsi* de búfalo in natura de 3 raças diferentes.

Picos	Ácidos graxos	Jafarabadi		Mediterrâneo		Murrah	
		mg/100g	%	mg/100g	%	mg/100g	%
2	14:0	20,01±0,21 <sup>a</sup>	1,48±0,13 <sup>a</sup>	13,12±0,28 <sup>b</sup>	1,08±0,04 <sup>b</sup>	20,82±0,84 <sup>a</sup>	1,58±0,33 <sup>a</sup>
3	14:1n-9	2,32±0,05 <sup>a</sup>	0,17±0,03 <sup>a</sup>	tr	tr	3,25±0,18 <sup>b</sup>	0,24±0,09 <sup>b</sup>
4	15:0	3,89±0,30 <sup>a</sup>	0,28±0,05 <sup>a</sup>	3,67±0,14 <sup>a</sup>	0,30±0,09 <sup>a</sup>	1,77±0,19 <sup>b</sup>	0,13±0,17 <sup>b</sup>
5	16:0	351,82±16,03 <sup>a</sup>	26,15±4,36 <sup>a</sup>	335,32±8,57 <sup>a</sup>	27,66±2,99 <sup>a</sup>	313,45±10,99 <sup>a</sup>	23,90±2,14 <sup>a</sup>
6	16:1n-7	17,79±0,11 <sup>a</sup>	1,32±0,28 <sup>a</sup>	20,95±0,74 <sup>b</sup>	1,72±0,16 <sup>b</sup>	18,51±1,16 <sup>a</sup>	1,41±0,34 <sup>a</sup>
7	17:0	18,49±1,34 <sup>a</sup>	1,37±0,11 <sup>a</sup>	17,42±0,24 <sup>b</sup>	1,43±0,12 <sup>b</sup>	16,09±0,99 <sup>a</sup>	1,22±0,20 <sup>a</sup>
8	17:1 n-7	5,84±0,03 <sup>a</sup>	0,43±0,10 <sup>a</sup>	6,48±0,20 <sup>b</sup>	0,53±0,02 <sup>b</sup>	7,32±0,22 <sup>b</sup>	0,55±0,13 <sup>b</sup>
9	18:0	442,02±29,72 <sup>a</sup>	32,86±3,68 <sup>a</sup>	440,35±6,65 <sup>a</sup>	36,33±3,61 <sup>a</sup>	409,33±13,61 <sup>a</sup>	31,21±2,33 <sup>a</sup>
10	18:1(9t)	14,83±0,64 <sup>a</sup>	1,10±0,55 <sup>a</sup>	13,04±0,43 <sup>a</sup>	1,07±0,08 <sup>a</sup>	21,94±2,02 <sup>b</sup>	1,67±0,31 <sup>b</sup>
11	18:1n-9	402,98±16,07 <sup>a</sup>	29,96±5,21 <sup>a</sup>	295,32±11,93 <sup>b</sup>	24,36±3,22 <sup>b</sup>	392,53±17,49 <sup>a</sup>	29,93±2,27 <sup>a</sup>
13	18:2n-6	35,88±2,62 <sup>a</sup>	2,66±0,49 <sup>a</sup>	32,30±1,54 <sup>a</sup>	2,66±0,53 <sup>a</sup>	52,11±2,67 <sup>b</sup>	3,97±1,09 <sup>b</sup>
14	20:0	2,05±0,03 <sup>a</sup>	0,04±0,01 <sup>a</sup>	tr	tr	1,94±0,10 <sup>a</sup>	0,14±0,01 <sup>a</sup>
15	18:3n-3	9,86±0,61 <sup>a</sup>	0,73±0,17 <sup>a</sup>	12,76±0,40 <sup>b</sup>	1,05±0,15 <sup>b</sup>	17,39±0,49 <sup>c</sup>	1,32±0,35 <sup>c</sup>
16	18:2n-6 (9c,11t)	1,55±0,01 <sup>a</sup>	0,11±0,02 <sup>a</sup>	2,02±0,05 <sup>b</sup>	0,16±0,07 <sup>b</sup>	3,97±0,17 <sup>b</sup>	0,30±0,09 <sup>c</sup>
17	20:3n-6	1,66±0,05 <sup>a</sup>	0,12±0,06 <sup>a</sup>	tr	tr	3,92±0,06 <sup>b</sup>	0,29±0,05 <sup>b</sup>
18	20:4n-6	10,15±0,42 <sup>a</sup>	0,75±0,14 <sup>a</sup>	15,25±0,24 <sup>b</sup>	1,25±0,11 <sup>b</sup>	21,05±0,36 <sup>c</sup>	1,60±0,42 <sup>c</sup>
19	20:5n-3	4,70±0,05 <sup>a</sup>	0,34±0,08 <sup>a</sup>	6,11±0,17 <sup>b</sup>	0,50±0,18 <sup>b</sup>	9,21±0,16 <sup>c</sup>	0,70±0,16 <sup>c</sup>
20	22:6n-3	0,59±0,02 <sup>a</sup>	0,04±0,0 <sup>a</sup>	tr	tr	0,61±0,08 <sup>a</sup>	0,04±0,0 <sup>a</sup>
	<b>ΣAGS</b>	838,28±8,72 <sup>a</sup>	62,33±2,05 <sup>a</sup>	809,88±4,50 <sup>a</sup>	66,82±3,11 <sup>a</sup>	763,40±5,68 <sup>a</sup>	58,21±3,05 <sup>a</sup>
	<b>ΣAGM</b>	443,76±4,60 <sup>a</sup>	32,99±1,44 <sup>a</sup>	335,79±3,01 <sup>b</sup>	27,70±2,09 <sup>b</sup>	443,55±2,57 <sup>a</sup>	33,82±1,04 <sup>a</sup>
	<b>ΣAGP</b>	62,84±2,91 <sup>a</sup>	4,67±1,37 <sup>a</sup>	66,42±1,88 <sup>b</sup>	5,48±0,97 <sup>b</sup>	112,23±3,53 <sup>c</sup>	7,95±0,72 <sup>c</sup>
	<b>AGTotais</b>	1344,88 <sup>a</sup>		1212,02 <sup>b</sup>		1311,24 <sup>a</sup>	
	<b>AGP/AGS</b>	0,07 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,14 <sup>b</sup>	0,13 <sup>b</sup>
	<b>n6</b>	47,69 <sup>a</sup>	3,53 <sup>a</sup>	47,55 <sup>a</sup>	3,91 <sup>a</sup>	77,08 <sup>b</sup>	5,86 <sup>b</sup>
	<b>n3</b>	15,15 <sup>a</sup>	1,11 <sup>a</sup>	18,87 <sup>b</sup>	1,55 <sup>b</sup>	27,21 <sup>c</sup>	2,06 <sup>b</sup>
	<b>n6/n3</b>	3,14 <sup>a</sup>	3,18 <sup>a</sup>	2,51 <sup>b</sup>	2,52 <sup>b</sup>	2,83 <sup>b</sup>	2,84 <sup>b</sup>

Médias de nove amostras analisadas em triplicata. Na mesma linha, médias seguidas por letras diferentes diferem significativamente ( $p < 0,05$ ). tr = traços ( $< 0,1$  mg/100g).

O consumo de gordura saturada é classicamente relacionado com a elevação do LDL-colesterol plasmático e com o aumento de risco cardiovascular, sendo aconselhado a retirada de alimentos de origem animal da dieta. Segundo vários estudos epidemiológicos, a relação entre a ingestão de ácidos graxos saturados e o desenvolvimento de doenças cardiovasculares tem sido algumas vezes contraditória e inconclusiva (Siurana e Calsamiglia, 2016; Chiavarro *et al.*, 2009; Wood *et al.*, 2004), já que estas doenças, tem origem decorrente da associação de vários fatores como idade, herança genética, sexo, peso, sedentarismo, uso de álcool e/ou tabaco, estresse, além da dieta (Elwood *et al.*, 2010).

Em relação aos ácidos graxos monoinsaturados, o predominante na carne de búfalo foi o oleico (18:1n-9), com percentual de 29,96 para a raça Jafarabadi e de 29,93 para a Murrah, significativamente maiores que o encontrado para a raça Mediterrâneo (24,36%). Rodrigues *et al.* (2004) encontraram valores mais elevados (34,70%) em bubalinos da raça Murrah, bem como Juárez *et al.* (2010) (33,60%) e Calabro *et al.* (2014) (31,20%), ambos na raça Mediterrâneo.

O ácido graxo oleico, em alguns estudos epidemiológicos, apresentou um potencial efeito protetor contra os tumores presentes na mama (Chajes *et al.*, 2008), no cólon (Bautista *et al.*, 1997) e na próstata (Hughes-Fulford *et al.*, 2001). Além disso, conseguiu atuar de forma sinérgica com os fármacos citotóxicos empregados no tratamento de neoplasias malignas, aumentando assim seu efeito antitumoral (Schwartz *et al.*, 2004; Menendez *et al.*, 2001). Mas ainda é necessário que mais pesquisas sejam realizadas, para que sejam elucidados os mecanismos pelos quais o ácido oleico atua na redução do risco de câncer (Carrillo *et al.*, 2012).

No grupo dos ácidos graxos poli-insaturados ocorreu diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre as amostras das três raças, tendo destaque para a raça Murrah que apresentou maior quantidade de linoleico (18:2n-6) (3,97%),  $\alpha$ -linolênico (18:3n-3) (1,32%), ácido linoleico conjugado (18:2 9c, 11t) (0,30%) e araquidônico (20:4n-6) (1,60%). Sendo o teor de ácido graxo linoleico próximo ao mencionado no trabalho de Rodrigues *et al.* (2004) de 4,70% e superior aos do ácido  $\alpha$ -linolênico (0,45%) e araquidônico (0,25%).

Dentre os ácidos graxos poli-insaturados destacam-se os das famílias n-6 e n-3 que podem ser obtidos através da dieta ou sintetizados pelo organismo a partir dos ácidos linoleico (18:2n-6) e  $\alpha$ -linolênico (18:3n-3), pela ação de enzimas alongases e dessaturases, sendo importantes para a manutenção das membranas celulares, da transmissão dos impulsos

nervosos, das funções cerebrais, da síntese de hemoglobina e da divisão celular (Martin *et al.*, 2006).

O ácido graxo  $\alpha$ -linolênico é precursor dos ácidos docosahexaenóico (DHA) 22:6n-3 e eicosapentaenóico (EPA) 20:5n-3 ambos com importante participação na formação, desenvolvimento e funcionamento do cérebro e da retina (Siegel e Ermilov, 2012). Enquanto que o ácido linoleico participa da síntese do ácido araquidônico (20:4n-6) que irá produzir os eicosanoides (prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos e leucotrienos) com características pró-inflamatórias e o EPA irá sintetizar os eicosanoides com ação anti-inflamatórias (Russo, 2009).

É importante que haja um equilíbrio na relação entre n-6/n-3 presente nos alimentos a serem consumidos, assim como no teor dos outros ácidos graxos poli-insaturados, para que cada um possa desempenhar suas funções benéficas à saúde (Hunter *et al.*, 2010). No presente trabalho, a relação n-6/n-3 para a carne de búfalo das raças Jafarabadi, Mediterrâneo e Murrah ficou em torno de 3:1, dentro do preconizado pela Sociedade Brasileira de Cardiologia que definiu na I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular (2013), que o ideal seria uma razão n-6/n-3 de até 4:1.

O ácido linoleico conjugado, CLA (18:2n 9c, 11t) variou no presente trabalho de 1,55 mg/100g na raça Jafarabadi a 3,97 mg/100g na raça Murrah. Este ácido está presente em carnes e seus derivados, devido à biohidrogenação dos ácidos graxos poli-insaturados linoleico e  $\alpha$ -linolênico que ocorre no rúmen dos animais (Griinari e Bauman, 1999). De acordo com Luciano *et al.* (2013), a dieta desses animais sendo enriquecida com os ácidos linoleico e  $\alpha$ -linolênico, presentes em óleos vegetais e na pastagem natural, promove um aumento na síntese endógena de CLA, o que pode resultar em elevação no teor desse ácido graxo nos produtos alimentícios derivados dos ruminantes.

O CLA compreende um conjunto de isômeros posicionais e geométricos do ácido linoleico (18:2 9c, 12c), dentre eles destacam-se o 18:2 (9c, 11t) e o 18:2 (10t, 12c), devido aos seus efeitos biológicos benéficos à saúde, tais como: inibição da carcinogênese, redução da colesterolemia, da aterosclerose, dos sintomas do diabetes mellitus tipo II e do tecido adiposo, modulação das respostas imuno-inflamatórias, promoção da síntese óssea e proteção contra o estágio final do lúpus eritematoso sistêmico (Yang *et al.*, 2000a; Pariza *et al.*, 2001; Roche *et al.*, 2002).

A **Tabela 5** apresenta os resultados de teores de colesterol e óxidos de colesterol obtidos nas carnes de búfalo.

**Tabela 5.** Teores de colesterol (mg/100g, base úmida) e óxidos de colesterol ( $\mu\text{g/g}$ , base úmida) do músculo *Longissimus dorsi* de búfalo in natura de 3 raças diferentes.

	Jafarabadi	Mediterrâneo	Murrah
Colesterol	69,33 $\pm$ 0,26 <sup>b</sup>	72,11 $\pm$ 0,34 <sup>b</sup>	80,85 $\pm$ 0,55 <sup>a</sup>
Óxidos de colesterol			
7-ceto	0,98 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	0,95 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	1,07 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>
5,6 $\alpha$ -EP	3,60 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>	5,44 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	3,66 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>
5,6 $\beta$ -EP	6,73 $\pm$ 0,16 <sup>a</sup>	6,67 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	6,70 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>
Total	11,31 <sup>a</sup>	12,96 <sup>a</sup>	11,43 <sup>a</sup>

Médias de nove amostras analisadas em triplicata. Na mesma linha, médias seguidas por letras diferentes diferem significativamente ( $p < 0,05$ ). 7-cetocolesterol (7-ceto), 5,6 $\alpha$ -epoxicolesterol (5,6 $\alpha$ -EP), 5,6 $\beta$ -epoxicolesterol (5,6 $\beta$ -EP).

O teor de colesterol da raça Mediterrâneo (72,11 mg/100g) foi inferior ao encontrado por Rodrigues *et al.* (2004) (109,6 mg/100g) que estudaram a mesma raça. Enquanto que para a raça Murrah, o teor de colesterol (80,85 mg/100g) foi semelhante ao referido na pesquisa de Lira *et al.* (2005) (86,70 mg/100g) e maior do que Luz (2014) (57,42 mg/100g). Os valores de colesterol do presente estudo foram próximos também aos relatados por Lira *et al.* (2001) na carne bovina (89,30 mg/100g) e por Marchiori *et al.* (2001) na carne de javali (65,87 mg/100g). No entanto, foram maiores que os relatados por Bragagnolo e Rodriguez-Amaya (2003) em carne bovina das raças Nelore (40 mg/100g), Beefalo (40 mg/100g) e Canchim (43 mg/100g).

Os níveis de colesterol detectados na carne de búfalo das 3 raças estão abaixo dos limites de ingestão diária recomendado pelo *National Cholesterol Education Program (NCEP)* (2002), dos Estados Unidos e pela V Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemia (2013), que recomendam ingestão diária de colesterol inferior a 200 mg/100g. De acordo com Lottenberg (2003), o consumo de alimentos com baixo teor de colesterol representa um fator dietético importante na saúde humana, relacionado à prevenção de doença coronariana aterosclerótica.

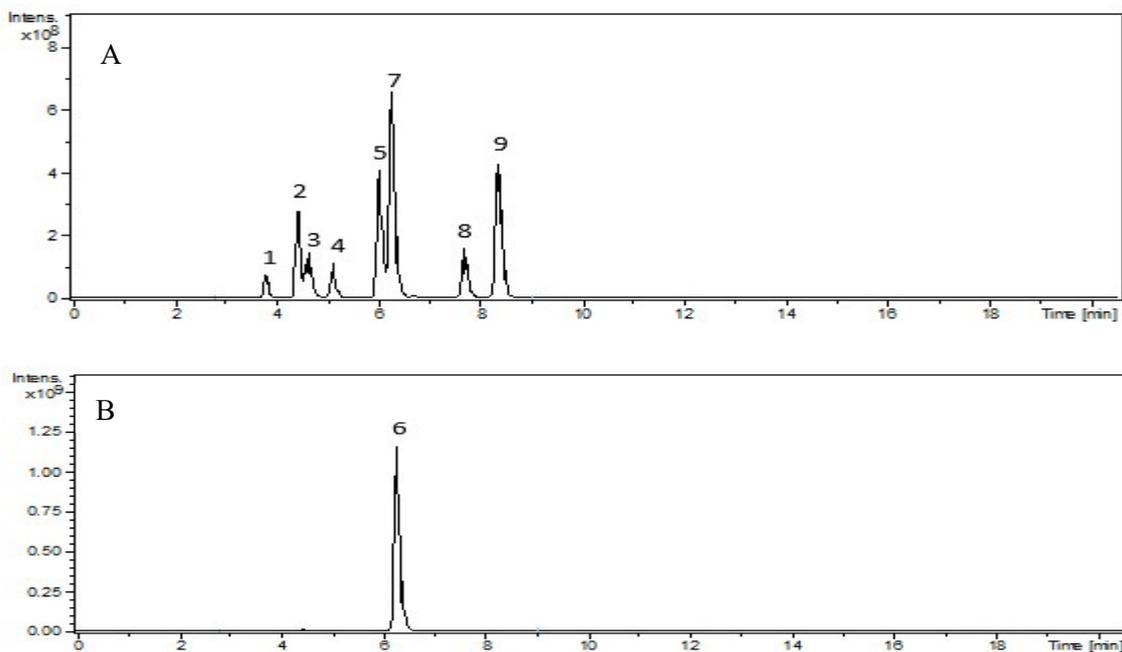
Dentre os óxidos de colesterol, mais de 80 produtos foram relatados na literatura científica, sendo os mais frequentemente encontrados em alimentos: 7-cetocolesterol (7-ceto), 20-hidroxicolesterol (20-OH), 25-hidroxicolesterol (25-OH), 7 $\alpha$ -hidroxicolesterol (7 $\alpha$ -OH),

7 $\beta$ -hidroxicolesterol (7 $\beta$ -OH), 5,6 $\alpha$ -epoxicolesterol (5,6 $\alpha$ -EP), 5,6 $\beta$ -epoxicolesterol (5,6 $\beta$ -EP) e o colestanoetriol (triol) (Tai *et al.*, 1999).

Na carne de búfalo das três raças foram encontrados apenas 3 óxidos de colesterol: 7-ceto, 5,6 $\alpha$ -EP e 5,6 $\beta$ -EP, que não diferiram estatisticamente ( $p > 0,05$ ), exceto no teor de 5,6 $\alpha$ -EP nas amostras de Mediterrâneo (**Tabela 5**). Os teores de 7-ceto das raças analisadas (0,95  $\mu\text{g/g}$  em Mediterrâneo, 0,98  $\mu\text{g/g}$  em Jafarabadi e 1,07  $\mu\text{g/g}$  em Murrah) foram inferiores aos citados por Rao *et al.* (1996) também em carne bubalina (3,77  $\mu\text{g/g}$ ) e por Nam *et al.* (2001) em carne de peru (1,80  $\mu\text{g/g}$ ) e de porco (8,40  $\mu\text{g/g}$ ) ambas cruas.

As **Figuras 9 e 10** apresentam os cromatogramas de íons extraídos dos padrões de óxidos de colesterol e da amostra de carne de búfalo da raça Murrah, respectivamente, obtidos por HPLC-MS.

A **Tabela 6** mostra as características cromatográficas e de espectrometria de massas de óxidos de colesterol obtidas por HPLC-MS/MS.

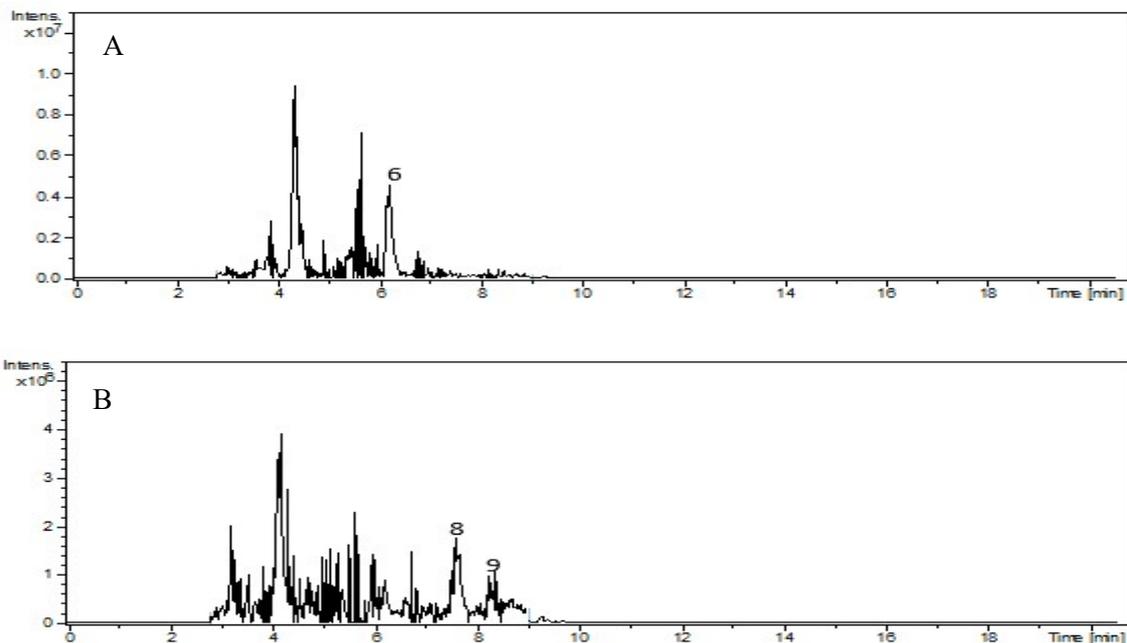


**Figura 9.** Cromatogramas de íons extraídos em  $m/z$  385 (A) e  $m/z$  401 (B), obtidos por HPLC-MS, dos padrões de óxidos de colesterol. Picos numerados de acordo com a Tabela 6 (Barriuso *et al.*, 2015).

**Tabela 6.** Características cromatográficas e de espectrometria de massas de óxidos de colesterol obtidas por HPLC-MS/MS.

Picos	Óxidos de colesterol	Tempo de retenção <sup>a</sup> (min)	[M+H] <sup>+</sup> ( <i>m/z</i> )	Fragmentos ( <i>m/z</i> )
1	22R-hidroxicolesterol	3.8	nd <sup>b</sup>	385 <sup>c</sup> [M+H-18] <sup>+</sup> , 367 [M+H-18-18] <sup>+</sup>
2	22S-hidroxicolesterol	4.5	nd	385 <sup>c</sup> [M+H-18] <sup>+</sup> , 367 [M+H-18-18] <sup>+</sup>
3	20 $\alpha$ -hidroxicolesterol	4.7	nd	385 <sup>c</sup> [M+H-18] <sup>+</sup> , 367 [M+H-18-18] <sup>+</sup>
4	25-hidroxicolesterol	5.1	nd	385 <sup>c</sup> [M+H-18] <sup>+</sup> , 367 [M+H-18-18] <sup>+</sup>
5	7 $\alpha$ -hidroxicolesterol	6.1	nd	385 <sup>c</sup> [M+H-18] <sup>+</sup> , 367 [M+H-18-18] <sup>+</sup>
6	7-cetocolesterol	6.3	401	383 [M+H-18] <sup>+</sup> , 365 [M+H-18-18] <sup>+</sup>
7	7 $\beta$ -hidroxicolesterol	6.3	nd	385 <sup>c</sup> [M+H-18] <sup>+</sup> , 367 [M+H-18-18] <sup>+</sup>
8	5,6 $\beta$ -epoxicolesterol	7.8	403	385 [M+H-18] <sup>+</sup> , 367 [M+H-18-18] <sup>+</sup>
9	5,6 $\alpha$ -epoxicolesterol	8.4	403	385 [M+H-18] <sup>+</sup> , 367 [M+H-18-18] <sup>+</sup>

<sup>a</sup>Tempo de retenção na coluna C<sub>30</sub>. <sup>b</sup>Não detectado. <sup>c</sup>Fragmentação na fonte.



**Figura 10.** Cromatogramas de íons extraídos em  $m/z$  385 (A) e  $m/z$  401 (B), obtidos por HPLC-MS, dos óxidos de colesterol presentes na carne de búfalo da raça Murrah. Picos numerados de acordo com a Tabela 6.

Após a avaliação da composição lipídica da carne de búfalo de raças diferentes, foi possível constatar que a raça Murrah apresentou perfil lipídico com maior teor de ácidos graxos poli-insaturados, além de ser a mais rentável economicamente por seu alto desempenho na produção de carne (Silva *et al.*, 2012). Sendo assim, foi selecionada para ser utilizada na avaliação da estabilidade oxidativa da carne de búfalo.

## 5.2. Caracterização da pimenta cumari

A caracterização da pimenta foi realizada por meio da quantificação dos compostos fenólicos totais, capsaicinoides totais, capsaicina e dihidrocapsaicina e clorofila total, *a* e *b*. Os resultados são apresentados na **Tabela 7**.

**Tabela 7.** Teor de fenólicos, capsaicinoides e clorofila

Composto	Pimenta cumari
Fenólicos totais (mg/g)	49,84±0,33
Capsaicinoides totais (µg/g)	85,04±1,76
Capsaicina (µg/g)	57,41±1,05
Dihidrocapsaicina (µg/g)	27,63±0,94
Clorofila total (µg/g)	5,68±0,46
Clorofila <i>a</i> (µg/g)	3,81±0,67
Clorofila <i>b</i> (µg/g)	1,87±0,31

Médias de duas amostras analisadas em triplicata.

As pimentas do gênero *Capsicum* apresentam diversidade de compostos em sua composição química. Entre os principais componentes destacam-se os capsaicinoides, um grupo de alcaloides responsáveis pelo sabor picante que apresentam propriedades analgésicas, anti-inflamatórias, antimicrobianas, antioxidantes e efeitos fisiológicos e farmacológicos no sistema cardiovascular e respiratório, devido a sua ação termogênica (Marín *et al.*, 2004; Otham *et al.*, 2011).

Dentre os capsaicinoides os mais relevantes seriam a capsaicina e a dihidrocapsaicina (**Figura 11**) que foram identificadas e quantificadas nas amostras de pimenta cumari, com teores de 57,41 µg/100g e 27,63 µg/100g, respectivamente (**Tabela 7**). Teores

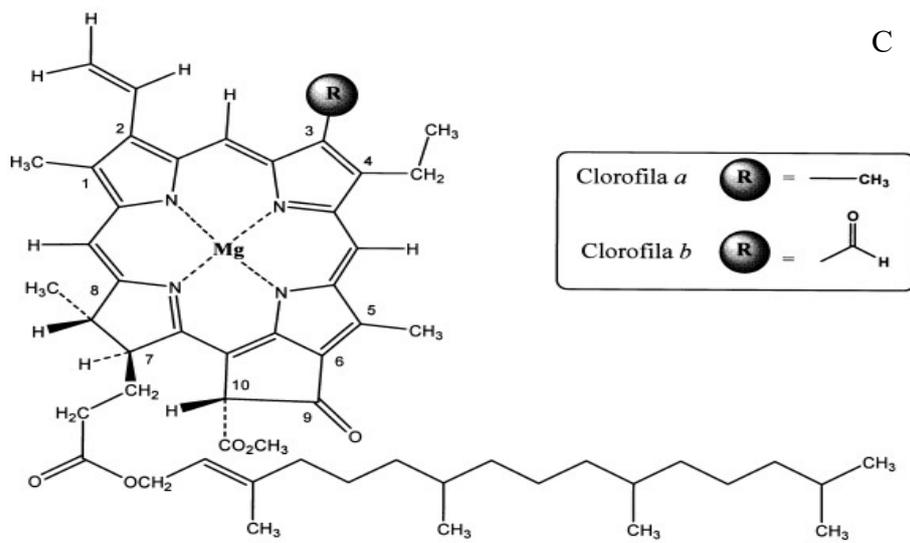
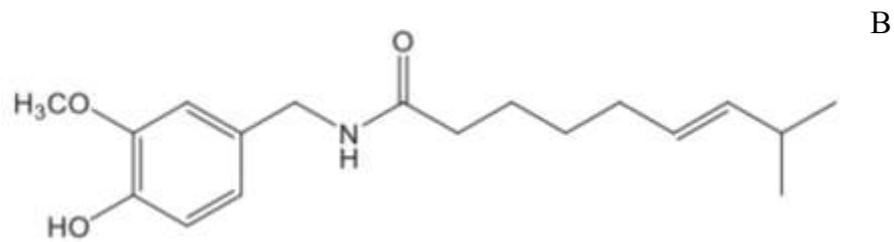
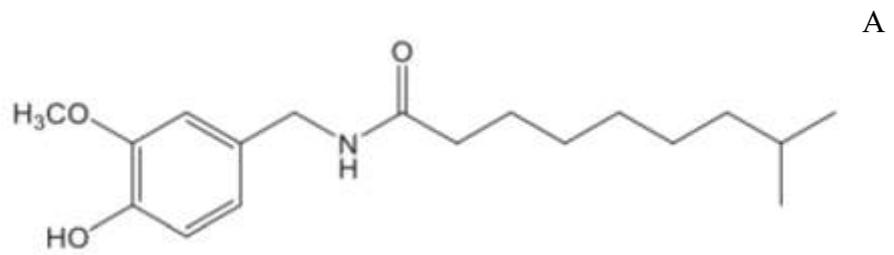
variados de capsaicina e de dihidrocapsaicina foram encontrados nos estudos de Cázares-Sánchez *et al.* (2005) (55,97  $\mu\text{g}/100\text{g}$  e 36,27  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ) em pimenta verde da espécie *C. annuum* da região sudeste do México, Barbero *et al.* (2006) (44,84  $\mu\text{g}/100\text{g}$  e 25,30  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ) em pimenta caiena da espécie *C. annuum* da Espanha, Morán-Banuelos *et al.* (2008) (43,55  $\mu\text{g}/100\text{g}$  e 35,84  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ) em pimenta madura da espécie *C. annuum* da região centro-oeste do México, comprovando que a concentração desses capsaicinoides diferenciam segundo o genótipo, o grau de maturação e as condições de cultivo (Zewdie e Bosland, 2001).

A capsaicina e a dihidrocapsaicina são responsáveis por mais de 90% do ardor provocado pelas pimentas do gênero *Capsicum* e podem atuar na redução da agregação plaquetária, importante para a prevenção de doenças cardiovasculares, especialmente a aterosclerose (Ornelas-Paz *et al.*, 2010).

Em relação aos fenólicos totais, o teor de 49,84 mg/g encontrado na pimenta cumari foi próximo ao referido por Costa *et al.* (2010), 51,52 mg/g também em pimenta cumari, sendo maior do que na pimenta de cheiro (*Capsicum chinense*) e inferior aos teores na pimenta dedo-de-moça (*Capsicum var pendulum*) (65,61 mg/g) e na malagueta (*Capsicum frutescens*) (55,80 mg/g), demonstrando que a espécie vegetal analisada, além do estágio de maturação e do tipo de processo extrativo empregado, influenciam decisivamente na quantidade obtida de fenólicos (Oliveira, 2011).

Comparando o teor de fenólicos totais da pimenta cumari com frutos usualmente consumidos, como goiaba (*Psidium guayava*), com 83,1 mg/100g; abacaxi (*Ananas sativa*), com 21,7 mg/100g e graviola (*Anona muricata*), com 84,3 mg/100g), (Kuskoski *et al.*, 2005), pode-se afirmar que as pimentas são boas fontes de compostos fenólicos totais, o que é sugestivo de possuir atividade antioxidante.

O teor de clorofila total foi de 5,86  $\mu\text{g}/\text{g}$ , obtida a partir da soma das concentrações das clorofilas *a* e *b* (**Figura 11**). Este resultado é próximo aos valores apresentados, também em frutos colhidos verdes, para as pimentas malagueta (*C. chinense*) (5,19  $\mu\text{g}/\text{g}$ ) e jalapeño (*C. annuum*) (4,20  $\mu\text{g}/\text{g}$ ) e inferior ao encontrado na pimenta dedo-de-moça (*C. baccatum*), presentes no estudo de Pereira *et al.* (2008).



**Figura 11.** Estruturas químicas da dihidrocapsaicina (A), capsaicina (B), clorofilas *a* e *b* (C).

### 5.3. Efeito da adição de pimenta cumari na estabilidade lipídica da carne de búfalo congelada durante 90 dias a -18 °C e após tratamento térmico

A estocagem das carnes sob congelamento e o tratamento térmico são fatores que favorecem a ocorrência de oxidação lipídica, assim, é necessário o emprego de compostos com atividade antioxidante que sejam capazes de evitar ou reduzir o processo oxidativo.

No presente estudo foi utilizada a pimenta cumari liofilizada e para conhecer a quantidade a ser acrescida na carne de búfalo, foi realizada análise sensorial por meio da aplicação de fichas de avaliação para o teste de aceitabilidade, empregando a escala hedônica de cinco pontos, com 30 participantes, utilizando-se diferentes concentrações de pimenta cumari em pó (0,05%; 0,1% e 0,2%) adicionada na preparação de hambúrgueres de carne de búfalo.

Aplicando o teste F foi possível perceber que não ocorreu diferença significativa entre as amostras quanto às médias de aceitação: 5,25%, 5,39% e 5,30%, respectivamente para amostras com concentração de pimenta em pó de 0,05%, 0,1% e 0,2%. Dessa forma, optou-se por usar a pimenta cumari em pó na concentração de 0,2% (**Tabela 8**).

**Tabela 8.** Resultados do teste de aceitabilidade.

Fontes de variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F calculado	F <sub>(2,29)</sub> tabelado
Amostras	2	13,86	6,93	2,97	3,35
Provadores	29	232,76	8,02	3,24	
Resíduo	58	135,48	2,33		
Total	89	382,1			

Como F calculado < F tabelado, conclui-se que não existe diferença significativa entre as amostras quanto à aceitação, a 5% de probabilidade pelo teste F.

Verifica-se que os teores de umidade na carne de búfalo crua não sofreram modificações durante o tempo de armazenamento e nem com o acréscimo de pimenta (**Tabela 9**). A carne de búfalo crua apresentou teor de umidade de 77,28 g/100g semelhante aos valores

relatados por Ziauddin *et al.* (1994), Rodrigues *et al.* (2004), Lira *et al.* (2005) e Juárez *et al.* (2010) cujos valores variaram de 73,54 a 77,75 g/100g.

Em relação à umidade da carne grelhada (58,00 g/100g), esta sofreu redução significativa ( $p < 0,05$ ) quando comparada com carne crua. Visto que o processo de grelhar é caracterizado pela migração da água da porção central do alimento para suas paredes externas que a eliminam mais rapidamente como vapor (Blumenthal, 1991; Almeida *et al.*, 2006).

**Tabela 9.** Teor de umidade (g/100g) do músculo *Longissimus dorsi* de carne de búfalo (raça Murrah) crua e grelhada armazenada a  $-18^{\circ}\text{C}$  durante 90 dias.

Amostras	Umidade				
	0 dia	15 dias	30 dias	60 dias	90 dias
Crua sem pimenta	77,28 ± 0,35 <sup>a</sup>	75,75 ± 0,07 <sup>a</sup>	76,60 ± 0,13 <sup>a</sup>	74,90 ± 0,22 <sup>a</sup>	75,05 ± 0,15 <sup>a</sup>
Grelhada sem pimenta	58,00 ± 0,08 <sup>b</sup>	57,52 ± 0,09 <sup>b</sup>	58,13 ± 0,07 <sup>b</sup>	56,34 ± 0,07 <sup>b</sup>	57,15 ± 0,17 <sup>b</sup>
Crua com pimenta	77,10 ± 0,11 <sup>a</sup>	76,10 ± 0,05 <sup>a</sup>	75,27 ± 0,35 <sup>a</sup>	74,63 ± 0,08 <sup>a</sup>	76,41 ± 0,23 <sup>a</sup>
Grelhada com pimenta	57,90 ± 0,05 <sup>b</sup>	58,15 ± 0,10 <sup>b</sup>	57,89 ± 0,15 <sup>b</sup>	55,26 ± 0,10 <sup>b</sup>	56,48 ± 0,05 <sup>b</sup>

Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ).

Os teores de lipídeos da carne de búfalo permaneceram constantes ao longo do tempo de estocagem e a adição de pimenta cumari não causou nenhuma alteração. Enquanto que, após as amostras terem sido grelhadas houve aumento significativo ( $p < 0,05$ ) na quantidade dos lipídeos totais em base úmida (**Tabela 10**) passando de 1,53 para 2,75 g/100g. Resultados semelhantes foram obtidos por Sheard *et al.* (1998) que relatam 2,65 g/100g para a carne crua e 3,37 g/100g para a carne grelhada e por Juárez *et al.* (2010) que obteve 1,72 g/100g para a carne crua e 3,44 g/100g para a carne grelhada. Na **Tabela 10** pode-se observar também que os teores de lipídeos, em base seca, presentes na carne crua (6,73 g/100g) e na carne grelhada (6,54 g/100g) não diferiram significativamente, demonstrando que nesse aspecto o tratamento térmico não afetou o teor de lipídeos totais.

Muitas transformações físico-químicas ocorrem durante o cozimento, tais como: perda de água, concentração dos nutrientes, oxidação lipídica, o que resultará em mudanças relativas de alguns ácidos graxos (Alfaia *et al.*, 2010).

**Tabela 10.** Teores de lipídeos totais (g/100g) do músculo *Longissimus dorsi* de carne de búfalo (raça Murrah) crua e grelhada, armazenada a -18°C durante 90 dias.

Amostras	Lipídeos									
	0 dia		15 dias		30 dias		60 dias		90 dias	
	BU	BS								
Crua sem pimenta	1,53 ± 0,05 <sup>a</sup>	6,73 ± 0,15 <sup>a</sup>	1,55 ± 0,07 <sup>a</sup>	6,39 ± 0,11 <sup>a</sup>	1,50 ± 0,14 <sup>a</sup>	6,41 ± 0,10 <sup>a</sup>	1,50 ± 0,10 <sup>a</sup>	5,69 ± 0,10 <sup>a</sup>	1,51 ± 0,06 <sup>a</sup>	6,05 ± 0,23 <sup>a</sup>
Grelhada sem pimenta	2,75 ± 0,02 <sup>b</sup>	6,54 ± 0,13 <sup>a</sup>	2,72 ± 0,09 <sup>b</sup>	6,40 ± 0,05 <sup>a</sup>	2,74 ± 0,07 <sup>b</sup>	6,54 ± 0,09 <sup>a</sup>	2,55 ± 0,05 <sup>b</sup>	5,84 ± 0,12 <sup>a</sup>	2,60 ± 0,10 <sup>b</sup>	6,06 ± 0,13 <sup>a</sup>
Crua com pimenta	1,54 ± 0,11 <sup>a</sup>	6,80 ± 0,08 <sup>a</sup>	1,53 ± 0,17 <sup>a</sup>	6,40 ± 0,21 <sup>a</sup>	1,56 ± 0,05 <sup>a</sup>	6,30 ± 0,13 <sup>a</sup>	1,52 ± 0,11 <sup>a</sup>	5,99 ± 0,08 <sup>a</sup>	1,50 ± 0,09 <sup>a</sup>	6,35 ± 0,17 <sup>a</sup>
Grelhada com pimenta	2,70 ± 0,10 <sup>b</sup>	6,41 ± 0,10 <sup>a</sup>	2,77 ± 0,04 <sup>b</sup>	6,61 ± 0,04 <sup>a</sup>	2,75 ± 0,13 <sup>b</sup>	6,53 ± 0,07 <sup>a</sup>	2,58 ± 0,05 <sup>b</sup>	5,76 ± 0,11 <sup>a</sup>	2,54 ± 0,08 <sup>b</sup>	5,83 ± 0,06 <sup>a</sup>

BU = Base úmida, BS = Base seca. Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ). Médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, comparando os dados em BU e BS ao longo da estocagem, não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ).

Em relação aos ácidos graxos foi possível constatar que os saturados foram os que menos sofreram alterações em seus teores, tanto após as amostras terem sido grelhadas, quanto ao longo do tempo de armazenamento sob congelamento (**Tabela 11**). O mesmo foi constatado em outros estudos com carne de touros (Alfaia *et al.*, 2010) e de cordeiros (Campo *et al.*, 2013) que analisaram amostras cruas e grelhadas.

Dentre os insaturados, o ácido graxo linoleico conjugado (18:2 9c, 11t) apresentou no tempo inicial níveis de 28,52 mg/100g na carne crua e 29,95 mg/100g após ter sido grelhada, e no tempo final de 90 dias de armazenamento, os níveis foram de 29,04 mg/100g na carne crua e 30,79 mg/100g na carne grelhada, não havendo diferença significativa ( $p > 0,05$ ), devido ao tratamento térmico bem como pelo armazenamento.

Segundo Alfaia *et al.* (2010), que avaliou em sua pesquisa o efeito de diferentes métodos de cocção (cozimento em água, em micro-ondas e grelhar) sobre o ácido linoleico conjugado de carne bovina, constatou que esse ácido graxo possui boa estabilidade aos referidos processos térmicos. A estabilidade dos isômeros do ácido graxo linoleico conjugado depende da configuração, sendo que os isômeros *cis/cis* são mais suscetíveis à degradação oxidativa do que os isômeros *cis/trans* ou *trans/trans*, devido à alta vulnerabilidade do oxigênio atacar mais as ligações duplas de configuração *cis* do que as *trans* (Yang *et al.*, 2000b).

De acordo com a **Tabela 11**, observou-se que a adição da pimenta cumari teve pouco efeito no que se refere a minimizar as perdas de ácidos graxos insaturados durante o armazenamento e a cocção. Em se tratando da família n-9, as perdas dos ácidos graxos 18:1n-9 e 20:1n-9, foram reduzidas pela presença da pimenta cumari, uma vez que o teor inicial de 1573,0 mg/100g e de 9,24 mg/100g, respectivamente diminuiu após os 90 dias de armazenamento sob congelamento para 1036,18 mg/100g (34,12% de perda) e 4,21 mg/100g (54,43% de perda) nas amostras cruas sem pimenta, e para 1145,82 mg/100g (27,15% de perda) e 5,13 mg/100g (44,48% de perda) nas amostras cruas que continham pimenta.

**Tabela 11.** Perfil de ácidos graxos (mg/100g, base seca) do músculo *Longissimus dorsi* de carne de búfalo (raça Murrah), crua e grelhada, armazenada a -18 °C durante 90 dias.

Ácidos graxos	0 dia				15 dias				30 dias			
	Crua sem pimenta	Grelhada sem pimenta	Crua com pimenta	Grelhada com pimenta	Crua sem pimenta	Grelhada sem pimenta	Crua com pimenta	Grelhada com pimenta	Crua sem pimenta	Grelhada sem pimenta	Crua com pimenta	Grelhada com pimenta
10:0	2,07±0,13 <sup>a</sup>	1,13±0,24 <sup>A</sup>	2,10±0,10 <sup>a</sup>	1,15±0,20 <sup>A</sup>	1,65±0,18 <sup>a</sup>	1,07±0,07 <sup>A</sup>	1,92±0,11 <sup>a</sup>	1,13±0,08 <sup>A</sup>	1,84±0,15 <sup>a</sup>	1,06±0,03 <sup>A</sup>	1,82±0,17 <sup>a</sup>	1,09±0,02 <sup>A</sup>
12:0	1,76±0,16 <sup>a</sup>	0,97±0,15 <sup>A</sup>	1,70±0,27 <sup>a</sup>	0,94±0,18 <sup>A</sup>	1,50±0,22 <sup>a</sup>	0,99±0,11 <sup>A</sup>	1,67±0,23 <sup>a</sup>	0,97±0,19 <sup>A</sup>	1,54±0,20 <sup>a</sup>	0,85±0,09 <sup>A</sup>	1,54±0,28 <sup>a</sup>	0,88±0,15 <sup>A</sup>
14:0	108,44±1,10 <sup>a</sup>	97,89±0,73 <sup>A</sup>	109,16±0,84 <sup>a</sup>	99,09±0,32 <sup>A</sup>	105,20±0,95 <sup>a</sup>	95,16±1,17 <sup>A</sup>	106,92±0,34 <sup>a</sup>	97,32±0,93 <sup>A</sup>	104,14±0,45 <sup>a</sup>	93,61±1,07 <sup>A</sup>	104,34±1,23 <sup>a</sup>	93,07±0,52 <sup>A</sup>
14:1n-9	19,37±2,39 <sup>a</sup>	12,41±1,76 <sup>A</sup>	19,87±2,11 <sup>a</sup>	12,66±0,83 <sup>A</sup>	18,12±1,22 <sup>a</sup>	12,08±1,09 <sup>A</sup>	19,78±1,04 <sup>a</sup>	12,62±0,92 <sup>A</sup>	15,35±2,15 <sup>b</sup>	10,34±1,20 <sup>B</sup>	18,41±0,93 <sup>a</sup>	12,37±1,12 <sup>A</sup>
15:0	16,64±2,35 <sup>a</sup>	8,41±0,71 <sup>A</sup>	16,68±2,08 <sup>a</sup>	8,37±1,17 <sup>A</sup>	13,55±1,22 <sup>b</sup>	8,01±1,46 <sup>B</sup>	14,39±2,31 <sup>b</sup>	7,99±1,25 <sup>B</sup>	12,44±1,80 <sup>b</sup>	7,72±0,94 <sup>B</sup>	13,18±2,11 <sup>b</sup>	8,08±1,39 <sup>B</sup>
15:1n-5	7,31±1,28 <sup>a</sup>	3,88±0,47 <sup>A</sup>	7,42±0,96 <sup>a</sup>	3,78±0,63 <sup>A</sup>	5,32±1,18 <sup>b</sup>	3,03±0,75 <sup>B</sup>	6,65±1,82 <sup>a</sup>	3,54±0,38 <sup>A</sup>	4,73±0,82 <sup>b</sup>	3,09±1,05 <sup>B</sup>	5,81±1,37 <sup>b</sup>	3,13±0,74 <sup>B</sup>
16:0	1147,37±0,2 <sup>a</sup>	1082,08±1,5 <sup>A</sup>	1145,53±1,2 <sup>a</sup>	1080,22±0,8 <sup>A</sup>	1146,34±1,9 <sup>a</sup>	1078,69±0,9 <sup>A</sup>	1143,12±1,4 <sup>a</sup>	1076,35±0,8 <sup>A</sup>	1142,90±1,2 <sup>a</sup>	1065,31±1,1 <sup>A</sup>	1141,69±0,9 <sup>a</sup>	1063,97±1,0 <sup>A</sup>
16:1n-7	57,66±4,71 <sup>a</sup>	31,22±3,68 <sup>A</sup>	57,86±3,79 <sup>a</sup>	31,15±2,58 <sup>A</sup>	47,95±3,16 <sup>b</sup>	26,91±4,51 <sup>B</sup>	53,72±4,05 <sup>a</sup>	28,07±2,40 <sup>A</sup>	46,17±3,96 <sup>b</sup>	25,20±3,24 <sup>B</sup>	48,58±2,46 <sup>b</sup>	26,85±1,67 <sup>B</sup>
17:0	31,43±2,74 <sup>a</sup>	18,11±0,92 <sup>A</sup>	31,57±1,53 <sup>a</sup>	18,08±1,72 <sup>A</sup>	25,51±3,18 <sup>b</sup>	14,92±2,48 <sup>B</sup>	29,50±3,77 <sup>a</sup>	17,40±2,21 <sup>A</sup>	22,68±2,80 <sup>b</sup>	12,97±1,37 <sup>B</sup>	26,65±2,17 <sup>b</sup>	15,18±0,33 <sup>B</sup>
17:1n-7	20,03±0,47 <sup>a</sup>	10,09±1,06 <sup>A</sup>	19,74±0,38 <sup>a</sup>	10,18±1,15 <sup>A</sup>	14,96±1,44 <sup>b</sup>	7,20±0,65 <sup>B</sup>	17,24±1,82 <sup>a</sup>	8,13±0,94 <sup>A</sup>	14,09±1,39 <sup>b</sup>	6,39±0,65 <sup>B</sup>	15,79±1,83 <sup>b</sup>	7,72±0,48 <sup>B</sup>
18:0	1626,8±10,1 <sup>a</sup>	1476,53±3,7 <sup>A</sup>	1629,82±8,1 <sup>a</sup>	1489,32±4,5 <sup>A</sup>	1610,62±3,9 <sup>a</sup>	1451,8±10,4 <sup>A</sup>	1618,35±2,9 <sup>a</sup>	1463,18±5,8 <sup>A</sup>	1597,72±3,6 <sup>a</sup>	1439,31±2,1 <sup>A</sup>	1605,08±6,2 <sup>a</sup>	1444,33±4,5 <sup>A</sup>
18:1(9t)	16,02±3,24 <sup>a</sup>	20,39±2,02 <sup>A</sup>	16,22±1,28 <sup>a</sup>	20,78±2,74 <sup>A</sup>	17,96±1,60 <sup>a</sup>	21,58±1,15 <sup>A</sup>	17,64±2,03 <sup>a</sup>	21,91±0,77 <sup>A</sup>	20,09±1,85 <sup>a</sup>	22,45±2,07 <sup>A</sup>	18,38±3,52 <sup>a</sup>	22,10±2,39 <sup>A</sup>
18:1n-9	1573,0±15,7 <sup>a</sup>	1362,8±20,1 <sup>A</sup>	1570,1±11,0 <sup>a</sup>	1360,0±22,0 <sup>A</sup>	1466,1±21,0 <sup>a</sup>	1312,4±19,1 <sup>A</sup>	1534,8±12,3 <sup>a</sup>	1338,78±22,5 <sup>A</sup>	1189,6±23,0 <sup>b</sup>	904,89±10,1 <sup>B</sup>	1470,3±18,0 <sup>a</sup>	1778,5±23,1 <sup>A</sup>
18:2n-6	282,57±19,0 <sup>a</sup>	234,05±18,2 <sup>A</sup>	284,8±10,3 <sup>a</sup>	232,44±15,2 <sup>A</sup>	279,91±29,0 <sup>a</sup>	232,17±16,0 <sup>A</sup>	282,72±24,6 <sup>a</sup>	231,08±18,0 <sup>A</sup>	191,16±10,1 <sup>b</sup>	170,63±17,0 <sup>B</sup>	273,24±15,5 <sup>a</sup>	230,55±10,0 <sup>A</sup>
20:0	3,96±0,84 <sup>a</sup>	2,15±0,55 <sup>A</sup>	4,15±1,06 <sup>a</sup>	2,20±0,37 <sup>A</sup>	3,16±0,76 <sup>a</sup>	1,96±0,33 <sup>A</sup>	3,35±0,28 <sup>a</sup>	1,86±0,22 <sup>A</sup>	3,08±0,70 <sup>a</sup>	1,59±0,23 <sup>A</sup>	3,11±0,32 <sup>a</sup>	1,72±0,49 <sup>A</sup>
20:1n-9	9,24±2,35 <sup>a</sup>	4,88±1,47 <sup>A</sup>	9,04±2,08 <sup>a</sup>	4,80±1,19 <sup>A</sup>	5,98±0,74 <sup>b</sup>	3,44±1,05 <sup>B</sup>	7,82±1,17 <sup>b</sup>	4,14±1,06 <sup>B</sup>	4,81±0,88 <sup>c</sup>	2,70±1,10 <sup>C</sup>	6,15±1,30 <sup>b</sup>	3,14±0,86 <sup>B</sup>
18:3n-3	30,81±8,02 <sup>a</sup>	24,52±3,10 <sup>A</sup>	29,78±2,59 <sup>a</sup>	24,49±2,01 <sup>A</sup>	27,39±1,17 <sup>a</sup>	22,14±1,13 <sup>A</sup>	28,15±4,08 <sup>a</sup>	23,79±2,07 <sup>A</sup>	21,79±3,02 <sup>b</sup>	18,10±1,80 <sup>B</sup>	26,00±1,89 <sup>a</sup>	23,38±2,05 <sup>A</sup>
18:2n-6												
(9c,11t)	28,52±1,45 <sup>a</sup>	29,95±2,00 <sup>A</sup>	28,17±0,72 <sup>a</sup>	29,66±1,06 <sup>A</sup>	28,88±2,01 <sup>a</sup>	30,11±0,44 <sup>A</sup>	28,43±3,59 <sup>a</sup>	30,65±2,36 <sup>A</sup>	29,07±0,30 <sup>a</sup>	30,89±1,44 <sup>A</sup>	29,25±0,70 <sup>a</sup>	30,77±1,02 <sup>A</sup>
20:3n-6	16,51±2,57 <sup>a</sup>	13,45±2,13 <sup>A</sup>	16,07±2,09 <sup>a</sup>	13,61±1,94 <sup>A</sup>	14,14±2,15 <sup>a</sup>	12,48±0,78 <sup>A</sup>	15,10±1,39 <sup>a</sup>	12,90±1,90 <sup>A</sup>	12,82±1,02 <sup>b</sup>	10,39±1,20 <sup>B</sup>	13,71±1,33 <sup>b</sup>	11,30±1,96 <sup>B</sup>
20:4n-6	33,20±0,49 <sup>a</sup>	29,27±1,14 <sup>A</sup>	33,49±0,93 <sup>a</sup>	29,42±0,37 <sup>A</sup>	32,60±1,03 <sup>a</sup>	27,84±1,10 <sup>A</sup>	33,15±0,83 <sup>a</sup>	28,24±0,75 <sup>A</sup>	30,57±0,52 <sup>a</sup>	26,86±0,27 <sup>A</sup>	31,83±1,18 <sup>a</sup>	27,46±0,41 <sup>A</sup>
24:0	18,44±2,30 <sup>a</sup>	16,39±1,22 <sup>A</sup>	18,47±1,99 <sup>a</sup>	16,45±1,71 <sup>A</sup>	18,16±0,96 <sup>a</sup>	15,83±1,63 <sup>A</sup>	18,20±1,89 <sup>a</sup>	15,96±1,12 <sup>A</sup>	16,36±2,02 <sup>a</sup>	15,02±0,75 <sup>A</sup>	17,73±1,03 <sup>a</sup>	15,64±0,90 <sup>A</sup>
22:6n-3	1,76±0,45 <sup>a</sup>	1,44±0,38 <sup>A</sup>	1,78±0,44 <sup>a</sup>	1,43±0,16 <sup>A</sup>	1,35±0,27 <sup>b</sup>	1,15±0,10 <sup>B</sup>	1,46±0,72 <sup>b</sup>	1,22±0,15 <sup>B</sup>	1,18±0,18 <sup>c</sup>	0,91±0,05 <sup>C</sup>	1,37±0,16 <sup>b</sup>	1,13±0,14 <sup>B</sup>
ΣAGS	2956,96±3,5 <sup>a</sup>	2703,66±1,3 <sup>A</sup>	2959,18±0,8 <sup>a</sup>	2715,82±2,4 <sup>A</sup>	2925,69±2,8 <sup>a</sup>	2925,44±0,8 <sup>A</sup>	2937,42±3,0 <sup>a</sup>	2682,16±0,7 <sup>A</sup>	2902,70±1,1 <sup>a</sup>	2637,44±0,5 <sup>A</sup>	2915,14±1,4 <sup>a</sup>	2643,96±2,7 <sup>A</sup>
ΣAGM	1702,69±1,8 <sup>a</sup>	1445,73±0,7 <sup>A</sup>	1700,28±1,1 <sup>a</sup>	1443,39±1,3 <sup>A</sup>	1576,42±3,5 <sup>a</sup>	1576,69±1,1 <sup>A</sup>	1657,70±0,9 <sup>a</sup>	1417,19±2,3 <sup>A</sup>	1294,93±0,8 <sup>b</sup>	975,06±1,8 <sup>B</sup>	1583,42±3,0 <sup>a</sup>	1303,83±0,8 <sup>A</sup>
ΣAGP	396,99±0,9 <sup>a</sup>	338,26±2,5 <sup>A</sup>	397,59±1,9 <sup>a</sup>	336,69±2,8 <sup>A</sup>	388,80±1,0 <sup>a</sup>	332,46±2,2 <sup>A</sup>	393,13±1,0 <sup>a</sup>	333,82±0,6 <sup>A</sup>	292,41±2,7 <sup>b</sup>	265,37±2,0 <sup>B</sup>	380,84±0,6 <sup>a</sup>	332,16±1,7 <sup>A</sup>
AGTotais	5056,64±2,2 <sup>a</sup>	4487,65±3,0 <sup>A</sup>	5057,05±0,9 <sup>a</sup>	4495,90±0,9 <sup>A</sup>	4890,91±1,7 <sup>a</sup>	4387,59±0,5 <sup>A</sup>	4888,25±1,4 <sup>a</sup>	4433,17±1,9 <sup>A</sup>	4848,04±2,0 <sup>a</sup>	4307,87±1,5 <sup>A</sup>	4879,40±2,9 <sup>a</sup>	4379,95±2,0 <sup>A</sup>
AGP/AGS	0,13 <sup>a</sup>	0,12 <sup>A</sup>	0,13 <sup>a</sup>	0,12 <sup>A</sup>	0,13 <sup>a</sup>	0,13 <sup>a</sup>	0,13 <sup>a</sup>	0,12 <sup>A</sup>	0,11 <sup>a</sup>	0,11 <sup>A</sup>	0,12 <sup>a</sup>	0,12 <sup>A</sup>
n-6	267,56 <sup>a</sup>	141,89 <sup>A</sup>	262,40 <sup>a</sup>	140,91 <sup>A</sup>	204,05 <sup>a</sup>	127,22 <sup>A</sup>	245,96 <sup>a</sup>	137,73 <sup>A</sup>	190,22 <sup>b</sup>	117,26 <sup>B</sup>	218,39 <sup>b</sup>	130,53 <sup>A</sup>
n-3	32,57 <sup>a</sup>	15,36 <sup>A</sup>	31,44 <sup>a</sup>	15,36 <sup>A</sup>	25,34 <sup>a</sup>	13,67 <sup>A</sup>	28,41 <sup>a</sup>	14,41 <sup>A</sup>	22,60 <sup>b</sup>	11,55 <sup>B</sup>	25,87 <sup>b</sup>	13,85 <sup>A</sup>
n-6/n-3	8 <sup>a</sup>	9 <sup>A</sup>	8 <sup>a</sup>	9 <sup>A</sup>	8 <sup>a</sup>	9 <sup>A</sup>	9 <sup>a</sup>	10 <sup>A</sup>	8 <sup>a</sup>	10 <sup>A</sup>	8 <sup>a</sup>	9 <sup>A</sup>

Tabela 11. Continuação

Ácidos graxos	60 dias				90 dias			
	Crua sem pimenta	Grelhada sem pimenta	Crua com pimenta	Grelhada com pimenta	Crua sem pimenta	Grelhada sem pimenta	Crua com pimenta	Grelhada com pimenta
10:0	1,59±0,77 <sup>a</sup>	0,97±0,30 <sup>A</sup>	1,69±0,73 <sup>a</sup>	1,04±0,15 <sup>A</sup>	1,56±0,54 <sup>a</sup>	0,92±0,38 <sup>A</sup>	1,74±0,49 <sup>a</sup>	0,98±0,22 <sup>A</sup>
12:0	1,31±0,93 <sup>a</sup>	0,79±0,17 <sup>A</sup>	1,42±0,84 <sup>a</sup>	0,88±0,20 <sup>A</sup>	1,12±0,43 <sup>b</sup>	0,63±0,18 <sup>B</sup>	1,36±0,25 <sup>a</sup>	0,77±0,41 <sup>A</sup>
14:0	101,11±1,02 <sup>a</sup>	91,28±0,25 <sup>A</sup>	103,92±1,15 <sup>a</sup>	92,84±0,30 <sup>A</sup>	99,95±0,39 <sup>a</sup>	90,85±1,16 <sup>A</sup>	102,79±0,72 <sup>a</sup>	1,39±0,88 <sup>A</sup>
14:1n-9	12,15±2,11 <sup>c</sup>	9,04±1,79 <sup>C</sup>	15,29±3,05 <sup>b</sup>	11,64±2,41 <sup>B</sup>	11,38±2,30 <sup>c</sup>	8,70±1,92 <sup>C</sup>	14,52±2,84 <sup>b</sup>	11,15±1,98 <sup>B</sup>
15:0	11,39±2,69 <sup>c</sup>	6,15±1,67 <sup>C</sup>	12,18±2,03 <sup>b</sup>	7,45±2,08 <sup>B</sup>	9,74±3,47 <sup>d</sup>	5,38±1,22 <sup>D</sup>	11,87±3,59 <sup>c</sup>	6,30±1,81 <sup>C</sup>
15:1n-5	4,70±1,49 <sup>c</sup>	2,75±0,92 <sup>C</sup>	5,01±1,47 <sup>b</sup>	3,01±0,95 <sup>B</sup>	4,21±1,84 <sup>c</sup>	2,20±0,77 <sup>C</sup>	5,09±1,94 <sup>b</sup>	3,10±0,93 <sup>B</sup>
16:0	1139,71±0,5 <sup>a</sup>	1058,05±1,5 <sup>A</sup>	1138,16±1,67 <sup>a</sup>	1055,29±2,09 <sup>A</sup>	1137,77±0,85 <sup>a</sup>	1053,33±1,22 <sup>A</sup>	1135,51±0,73 <sup>a</sup>	1050,28±1,97 <sup>A</sup>
16:1n-7	42,75±4,10 <sup>b</sup>	22,64±3,44 <sup>B</sup>	45,57±3,52 <sup>b</sup>	23,92±3,22 <sup>B</sup>	37,92±4,15 <sup>c</sup>	19,34±2,09 <sup>C</sup>	44,58±5,16 <sup>b</sup>	21,92±2,26 <sup>B</sup>
17:0	21,51±3,04 <sup>c</sup>	11,96±2,10 <sup>C</sup>	24,28±2,07 <sup>b</sup>	14,55±1,69 <sup>B</sup>	19,52±1,08 <sup>c</sup>	9,40±2,13 <sup>C</sup>	21,83±1,90 <sup>c</sup>	11,41±2,03 <sup>C</sup>
17:1n-7	12,27±2,50 <sup>c</sup>	5,63±1,77 <sup>C</sup>	13,60±2,10 <sup>b</sup>	6,73±1,93 <sup>B</sup>	11,02±2,05 <sup>c</sup>	4,93±1,81 <sup>C</sup>	13,18±2,67 <sup>b</sup>	5,60±1,90 <sup>B</sup>
18:0	1595,26±3,04 <sup>a</sup>	1434,42±5,10 <sup>A</sup>	1598,11±2,32 <sup>a</sup>	1441,35±3,56 <sup>A</sup>	1592,04±1,25 <sup>a</sup>	1430,57±2,03 <sup>A</sup>	1594,41±0,82 <sup>a</sup>	1438,13±1,66 <sup>A</sup>
18:1(9t)	22,76±5,33 <sup>b</sup>	24,55±3,47 <sup>B</sup>	20,56±1,80 <sup>a</sup>	22,51±3,55 <sup>A</sup>	23,81±3,89 <sup>b</sup>	25,69±3,70 <sup>B</sup>	21,97±1,38 <sup>c</sup>	23,62±2,95 <sup>C</sup>
18:1n-9	1150,08±38,12 <sup>b</sup>	900,18±27,10 <sup>B</sup>	1195,55±32,24 <sup>b</sup>	920,68±28,09 <sup>B</sup>	1036,18±17,26 <sup>c</sup>	751,65±26,18 <sup>C</sup>	1145,82±20,11 <sup>b</sup>	892,19±20,06 <sup>B</sup>
18:2n-6	108,37±12,33 <sup>c</sup>	121,20±9,06 <sup>C</sup>	212,33±10,69 <sup>b</sup>	185,22±7,81 <sup>B</sup>	140,79±4,50 <sup>c</sup>	117,65±3,87 <sup>C</sup>	160,09±8,63 <sup>c</sup>	137,88±4,20 <sup>C</sup>
20:0	2,03±0,96 <sup>b</sup>	1,23±0,34 <sup>B</sup>	2,36±0,55 <sup>b</sup>	1,35±0,80 <sup>B</sup>	1,72±0,33 <sup>c</sup>	0,97±0,26 <sup>C</sup>	2,33±0,81 <sup>b</sup>	1,26±0,09 <sup>B</sup>
20:1n-9	4,78±1,60 <sup>c</sup>	2,93±0,73 <sup>C</sup>	5,20±1,28 <sup>b</sup>	3,27±1,10 <sup>B</sup>	4,21±1,07 <sup>c</sup>	2,62±0,79 <sup>C</sup>	5,13±1,95 <sup>b</sup>	3,32±0,88 <sup>B</sup>
18:3n-3	20,60±2,09 <sup>b</sup>	17,68±1,15 <sup>B</sup>	25,44±3,05 <sup>a</sup>	22,88±2,83 <sup>A</sup>	18,72±2,15 <sup>b</sup>	16,08±1,05 <sup>B</sup>	23,89±2,51 <sup>b</sup>	20,01±2,39 <sup>B</sup>
18:2n-6 (9c,11t)	29,70±0,88 <sup>a</sup>	30,68±1,31 <sup>A</sup>	29,58±0,91 <sup>a</sup>	30,47±0,13 <sup>A</sup>	29,04±1,38 <sup>a</sup>	30,79±0,82 <sup>A</sup>	29,83±1,06 <sup>a</sup>	30,96±0,81 <sup>A</sup>
20:3n-6	11,60±2,89 <sup>c</sup>	9,84±1,10 <sup>C</sup>	12,75±1,46 <sup>b</sup>	11,06±1,95 <sup>B</sup>	10,02±2,36 <sup>c</sup>	9,10±1,95 <sup>C</sup>	12,32±2,20 <sup>b</sup>	10,67±1,34 <sup>B</sup>
20:4n-6	26,18±0,93 <sup>b</sup>	23,86±0,34 <sup>B</sup>	29,46±0,38 <sup>a</sup>	26,09±1,10 <sup>A</sup>	25,58±1,07 <sup>b</sup>	23,09±2,86 <sup>B</sup>	27,23±1,16 <sup>b</sup>	25,38±1,24 <sup>B</sup>
24:0	16,09±2,07 <sup>a</sup>	14,98±1,22 <sup>A</sup>	17,25±3,01 <sup>a</sup>	15,19±1,97 <sup>A</sup>	15,72±2,05 <sup>a</sup>	14,41±1,48 <sup>A</sup>	17,11±2,10 <sup>a</sup>	14,92±1,47 <sup>A</sup>
22:6n-3	1,12±0,26 <sup>c</sup>	0,86±0,11 <sup>C</sup>	1,24±0,32 <sup>c</sup>	1,08±0,12 <sup>C</sup>	1,05±0,19 <sup>d</sup>	0,80±0,09 <sup>D</sup>	1,18±0,30 <sup>c</sup>	0,98±0,08 <sup>C</sup>
<b>ΣAGS</b>	2890,00±1,4 <sup>a</sup>	2619,83±0,8 <sup>A</sup>	2899,37±1,7 <sup>a</sup>	2629,94±0,9 <sup>A</sup>	2879,14±3,8 <sup>a</sup>	2606,46±0,7 <sup>A</sup>	2888,95±0,7 <sup>a</sup>	2615,44±1,4 <sup>A</sup>
<b>ΣAGM</b>	1249,49±2,8 <sup>b</sup>	967,72±1,1 <sup>B</sup>	1300,78±0,5 <sup>b</sup>	991,76±1,7 <sup>B</sup>	1128,62±2,9 <sup>c</sup>	815,13±3,3 <sup>C</sup>	1250,29±1,1 <sup>b</sup>	960,90±1,3 <sup>B</sup>
<b>ΣAGP</b>	243,72±2,0 <sup>c</sup>	212,81±0,8 <sup>C</sup>	246,48±2,2 <sup>b</sup>	285,31±2,0 <sup>B</sup>	232,94±0,5 <sup>c</sup>	206,78±1,7 <sup>C</sup>	260,95±1,6 <sup>b</sup>	234,52±1,9 <sup>B</sup>
<b>AGTotais</b>	4383,21±1,9 <sup>b</sup>	4180,36±3,2 <sup>B</sup>	4516,63±2,5 <sup>b</sup>	4157,01±0,6 <sup>B</sup>	4240,70±1,6 <sup>b</sup>	4078,37±2,2 <sup>B</sup>	4400,19±1,0 <sup>b</sup>	4060,86±0,8 <sup>B</sup>
<b>AGP/AGS</b>	0,11 <sup>a</sup>	0,10 <sup>A</sup>	0,12 <sup>a</sup>	0,12 <sup>A</sup>	0,11 <sup>a</sup>	0,10 <sup>A</sup>	0,11 <sup>a</sup>	0,11 <sup>A</sup>
<b>n-6</b>	183,36 <sup>b</sup>	104,60 <sup>B</sup>	191,59 <sup>b</sup>	119,02 <sup>B</sup>	168,11 <sup>c</sup>	99,21 <sup>B</sup>	196,83 <sup>b</sup>	110,66 <sup>B</sup>
<b>n-3</b>	21,22 <sup>b</sup>	10,94 <sup>B</sup>	25,61 <sup>b</sup>	13,28 <sup>B</sup>	19,16 <sup>c</sup>	11,29 <sup>B</sup>	24,47 <sup>b</sup>	12,32 <sup>B</sup>
<b>n-6/n-3</b>	9 <sup>a</sup>	10 <sup>A</sup>	7 <sup>a</sup>	9 <sup>A</sup>	9 <sup>a</sup>	9 <sup>A</sup>	8 <sup>a</sup>	9 <sup>A</sup>

Médias de amostras analisadas em triplicata. Na mesma linha, médias seguidas por letras minúsculas diferentes diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) entre as amostras cruas com e sem pimenta e médias seguidas por letras maiúsculas diferentes diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) entre as amostras grelhadas com e sem pimenta, ao longo do tempo de estocagem.

A redução nas perdas dos ácidos graxos insaturados deve-se, provavelmente, pela ação da capsaicina, da dihidrocapsaicina e dos compostos fenólicos presentes na pimenta cumari (57,41  $\mu\text{g/g}$ , 27,63  $\mu\text{g/g}$  e 49, 84  $\text{mg/g}$ , respectivamente). Estes compostos por serem capazes de doar hidrogênios aos radicais livres formados na oxidação lipídica, podem ter protegido os ácidos graxos do processo oxidativo tornando a pimenta um possível agente antioxidante natural em alimentos (Loizzo *et al.*, 2015; Costa *et al.*, 2010). Henderson e Henderson (1992) avaliaram a interação entre o ácido oleico e a capsaicina à temperatura de 200°C e verificaram também que a presença da capsaicina inibiu a oxidação do ácido oleico. No entanto, de acordo com Martinez *et al.* (2006), mais estudos sobre as possíveis reações químicas que ocorrem entre a capsaicina e os ácidos graxos mono e poli-insaturados são necessários, a fim de esclarecer o efetivo papel antioxidante das pimentas do gênero *Capsicum*.

Analisando as quantidades totais dos ácidos graxos das famílias n-6 e n-3 observa-se que a diminuição ocorrida ao longo do armazenamento e depois de grelhar foi semelhante tanto para as amostras cruas e grelhadas sem e com pimenta.

Nos estudos de Maranesi *et al.* (2005) com carne de cordeiro, Alfaia *et al.* (2010) com carne bovina, Juaréz *et al.* (2010) com carne de búfalo e Domínguez *et al.* (2015) com carne de potro, foram avaliados os efeitos de diferentes métodos de cocção sobre o perfil dos ácidos graxos e constataram que após terem sido grelhadas, ocorreu uma diminuição nos teores dos ácidos graxos das famílias n-6 e n-3, por causa da alta suscetibilidade destes ácidos graxos poli-insaturados sofrerem degradação oxidativa.

Este fato também pode ser observado durante o congelamento, já que as carnes que apresentam altos níveis de fosfolípidos, contendo elevadas concentrações de ácidos graxos poli-insaturados, como os da série n-6 e n-3, estão sujeitas à oxidação lipídica inclusive em baixas temperaturas, como o relatado por Botsoglou *et al.* (2014) em carne de porco armazenada por 180 dias à -20°C, por Utrera *et al.* (2014) em carne bovina estocada por 150 dias à -18°C e por Soyer *et al.* (2010) em carne de frango conservada por 90 dias à -18°C.

Não houve diferença significativa entre a razão dos ácidos graxos n-6 e n-3 das amostras cruas com e sem pimenta que variaram de 7:1 a 9:1 e de 8:1 a 9:1, respectivamente, e das amostras grelhadas com e sem pimenta variando de 9:1 a 10:1 e de 9:1 a 10:1, respectivamente, ao longo do congelamento. O trabalho de Juaréz *et al.* (2010) que analisou

carne de búfalo também encontraram razão de 8:1, valores semelhantes foram referidos por Campo *et al.* (2013), para carne de cordeiro crua (9:1) e grelhada (9:1).

Devido a revolução agrícola, houve aumento do consumo de cereais, óleos e grãos ricos em ácidos graxos n-6 e uma diminuição paralela da ingestão de ácidos graxos n-3, levando a mudanças drásticas na alimentação humana, na qual a proporção de n-6/n-3, que antes era de 1:1 a 2:1, hoje se situa de 15:1 a 40:1 na dieta ocidental (Simopoulos, 2006).

Segundo Martin *et al.* (2006), alguns autores têm recomendado as razões de 2:1 a 3:1 para esses ácidos graxos, por aumentar a conversão do ácido  $\alpha$ -linolênico em DHA. A Organização Mundial da Saúde, em 2006, recomendou proporções de 3:1 ou 4:1 (Calderelli *et al.*, 2008), assim como a Sociedade Brasileira de Cardiologia que definiu na I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular (2013), que a razão n-6/n-3 fosse de até 4:1.

Diante dessas questões e até que surjam novas informações científicas que permitam modificações de conduta, é mais indicado que as recomendações dietéticas atualmente sejam feitas com base no consumo total de cada ácido graxo poli-insaturado e não somente com base na relação n-6/n-3 (Hunter *et al.*, 2010).

A qualidade nutricional do perfil lipídico da carne bubalina (**Tabela 11**) revelou que a razão entre os ácidos graxos poli-insaturados e saturados (AGP/AGS) na carne crua e grelhada com e sem pimenta foi em média de 0,11 e 0,12, respectivamente. Estes valores são semelhantes ao mencionado por Juaréz *et al.* (2010) em carne de búfalo crua (0,14). No trabalho de Campo *et al.* (2013), também foi observado que a razão de AGP/AGS foi idêntica para a carne de cordeiro crua e grelhada (0,17).

De acordo com as recomendações estabelecidas pelo *Department of Health and Social Security* (1994), da Inglaterra, a relação entre AGP/AGS na dieta humana deve ser igual a 0,45. No entanto, esse índice quando avaliado isoladamente apresenta restrições por não considerar os efeitos metabólicos dos ácidos graxos monoinsaturados (Williams, 2000) e também do ácido esteárico, ácido graxo saturado que apresenta efeito benéfico para a saúde.

Conforme a **Tabela 12** foi possível notar que houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os teores de colesterol das amostras cruas no tempo 0, com e sem pimenta (354,85 mg/100g e 352,33 mg/100g, respectivamente) e as do tempo 90 (305,27 mg/100g e 300,83 mg/100g, respectivamente), demonstrando que durante o tempo de armazenamento ocorreram perdas nestes níveis, devido ao processo oxidativo.

Em relação ao tratamento térmico, houve redução no teor de colesterol e aumento no teor de óxidos de colesterol como mostrado na **Tabela 12**, onde o teor de colesterol no tempo 0 foi de 352,33 mg/100g e após ter sido grelhada foi para 282,12 mg/100g, enquanto os óxidos totais eram 13,89 µg/g antes de grelhar e depois foram para 15,68 µg/g, o mesmo aconteceu em todas as amostras de carne de búfalo ao longo do tempo de armazenamento, indicando que a condição de tempo e temperatura (180°C/6 minutos) empregada no momento de grelhar, também foi fator determinante para a ocorrência de oxidação. Os trabalhos similares que analisaram a oxidação lipídica em carnes como Kowale *et al.* (1996) em carne de carneiro grelhada a 160°C/8 minutos, Broncano *et al.* (2009) em carne de porco grelhada a 190°C/4 minutos e Domínguez *et al.* (2014a) em carne de potro grelhada a 150°C/10 minutos, observaram também elevação nos teores de óxidos de colesterol.

Os óxidos de colesterol aumentaram tanto por causa do tratamento térmico como também, ao longo do tempo que a carne permaneceu congelada independente da adição ou não de pimenta cumari. A formação dos óxidos de colesterol pode ter sido influenciada pelo binômio tempo/temperatura empregado na cocção, pela composição nutricional da carne, pelo congelamento e inclusive pelas amostras terem sido trituradas e homogeneizadas, aumentando a área de superfície exposta ao ar. Possivelmente, todos estes fatores desencadearam a oxidação dos ácidos graxos poli-insaturados, levando ao surgimento de espécies reativas que contribuíram para a oxidação do colesterol.

O teor do 5,6β-EP na carne de búfalo no tempo inicial foi de 7,90 µg/g, próximo ao referido por Kowale *et al.* (1996) que encontraram 8,02 µg/g. No estudo de Nam *et al.* (2001), o óxido 5,6α-EP presente em carne bovina, após 15 dias de congelamento foi de 3,70 µg/g inferior ao valor obtido para carne de búfalo nesse mesmo tempo (4,25 µg/g). Na carne bovina crua analisada por Hur *et al.* (2007), o teor de 7-ceto foi de 3,50 µg/g superior ao da carne de búfalo de 2,27 µg/g.

Após grelhar, as amostras de carne de búfalo tiveram elevação no teor de 5,6α-EP de 3,72 µg/g para 4,09 µg/g e no teor de 5,6β-EP de 7,90 µg/g para 8,65 µg/g, este comportamento também foi relatado por Broncano *et al.* (2009) em carne suína crua, aonde a quantidade de 5,6α-EP foi de 3,90 µg/g e de 5,6β-EP foi de 6,40 µg/g e depois de ter sido grelhada, os teores desses óxidos aumentaram para 6,22 µg/g e para 14,60 µg/g, respectivamente. Segundo Rodriguez-Estrada *et al.* (2014), após a cocção e durante o armazenamento os óxidos de colesterol tendem a aumentar, principalmente o 7-ceto e os derivados de epóxido.

**Tabela 12.** Teores de colesterol (mg/100g) e óxidos de colesterol ( $\mu\text{g/g}$ ) em base seca do músculo *Longissimus dorsi* de carne de búfalo (raça Murrah), crua e grelhada, armazenada a  $-18^{\circ}\text{C}$  durante 90 dias.

	0 dia				15 dias				30 dias			
	Crua sem pimenta	Grelhada sem pimenta	Crua com pimenta	Grelhada com pimenta	Crua sem pimenta	Grelhada sem pimenta	Crua com pimenta	Grelhada com pimenta	Crua sem pimenta	Grelhada sem pimenta	Crua com pimenta	Grelhada com pimenta
Colesterol	352,33 $\pm$ 5,1 <sup>a</sup>	282,12 $\pm$ 2,0 <sup>A</sup>	354,85 $\pm$ 3,4 <sup>a</sup>	285,48 $\pm$ 2,3 <sup>A</sup>	324,15 $\pm$ 5,8 <sup>a</sup>	268,34 $\pm$ 0,9 <sup>A</sup>	335,48 $\pm$ 3,3 <sup>a</sup>	273,09 $\pm$ 2,21 <sup>A</sup>	311,89 $\pm$ 1,3 <sup>b</sup>	247,54 $\pm$ 1,2 <sup>B</sup>	318,42 $\pm$ 2,0 <sup>b</sup>	269,77 $\pm$ 3,1 <sup>B</sup>
7-ceto	2,27 $\pm$ 0,54 <sup>a</sup>	2,94 $\pm$ 0,97 <sup>A</sup>	2,31 $\pm$ 0,26 <sup>a</sup>	2,98 $\pm$ 0,62 <sup>A</sup>	2,64 $\pm$ 0,28 <sup>a</sup>	3,01 $\pm$ 0,15 <sup>A</sup>	2,57 $\pm$ 0,18 <sup>a</sup>	3,02 $\pm$ 0,19 <sup>A</sup>	2,76 $\pm$ 0,15 <sup>b</sup>	3,27 $\pm$ 0,12 <sup>B</sup>	2,68 $\pm$ 0,10 <sup>b</sup>	3,31 $\pm$ 0,07 <sup>B</sup>
5,6 $\alpha$ -EP	3,72 $\pm$ 0,25 <sup>a</sup>	4,09 $\pm$ 0,16 <sup>A</sup>	3,70 $\pm$ 0,20 <sup>a</sup>	4,03 $\pm$ 0,18 <sup>A</sup>	4,25 $\pm$ 0,40 <sup>b</sup>	5,18 $\pm$ 0,30 <sup>B</sup>	3,86 $\pm$ 0,66 <sup>a</sup>	4,77 $\pm$ 0,08 <sup>A</sup>	5,55 $\pm$ 0,24 <sup>c</sup>	6,74 $\pm$ 0,52 <sup>C</sup>	5,13 $\pm$ 0,15 <sup>c</sup>	6,15 $\pm$ 0,11 <sup>C</sup>
5,6 $\beta$ -EP	7,90 $\pm$ 0,19 <sup>a</sup>	8,65 $\pm$ 0,31 <sup>A</sup>	7,98 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	8,68 $\pm$ 0,33 <sup>A</sup>	8,05 $\pm$ 0,27 <sup>a</sup>	9,07 $\pm$ 0,19 <sup>A</sup>	8,02 $\pm$ 0,21 <sup>a</sup>	9,13 $\pm$ 0,38 <sup>A</sup>	8,09 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	9,11 $\pm$ 0,41 <sup>A</sup>	8,10 $\pm$ 0,82 <sup>a</sup>	9,16 $\pm$ 0,90 <sup>A</sup>
Óxidos												
Totais	13,89 <sup>a</sup>	15,68 <sup>A</sup>	13,99 <sup>a</sup>	15,69 <sup>A</sup>	14,94 <sup>a</sup>	17,26 <sup>A</sup>	14,45 <sup>a</sup>	16,92 <sup>A</sup>	16,40 <sup>a</sup>	19,12 <sup>A</sup>	15,91 <sup>a</sup>	18,62 <sup>A</sup>

**Tabela 12.** Continuação

	60 dias				90 dias			
	Crua sem pimenta	Grelhada sem pimenta	Crua com pimenta	Grelhada com pimenta	Crua sem pimenta	Grelhada sem pimenta	Crua com pimenta	Grelhada com pimenta
Colesterol	309,22 $\pm$ 1,51 <sup>b</sup>	240,83 $\pm$ 2,38 <sup>B</sup>	310,94 $\pm$ 1,60 <sup>b</sup>	264,11 $\pm$ 3,15 <sup>B</sup>	300,83 $\pm$ 2,37 <sup>b</sup>	236,55 $\pm$ 0,99 <sup>B</sup>	305,27 $\pm$ 2,01 <sup>b</sup>	260,92 $\pm$ 1,69 <sup>B</sup>
7-ceto	2,88 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>	3,54 $\pm$ 0,09 <sup>B</sup>	2,75 $\pm$ 0,11 <sup>b</sup>	3,49 $\pm$ 0,08 <sup>B</sup>	3,07 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	3,72 $\pm$ 0,91 <sup>B</sup>	2,95 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	3,61 $\pm$ 0,17 <sup>B</sup>
5,6 $\alpha$ -EP	7,22 $\pm$ 0,46 <sup>d</sup>	9,41 $\pm$ 0,10 <sup>D</sup>	6,91 $\pm$ 0,12 <sup>d</sup>	8,85 $\pm$ 0,15 <sup>D</sup>	9,12 $\pm$ 0,38 <sup>e</sup>	12,09 $\pm$ 0,09 <sup>E</sup>	8,91 $\pm$ 0,02 <sup>c</sup>	11,88 $\pm$ 0,27 <sup>E</sup>
5,6 $\beta$ -EP	8,14 $\pm$ 0,37 <sup>a</sup>	9,15 $\pm$ 0,84 <sup>A</sup>	8,17 $\pm$ 0,63 <sup>a</sup>	9,18 $\pm$ 0,85 <sup>A</sup>	8,19 $\pm$ 0,17 <sup>a</sup>	9,20 $\pm$ 0,28 <sup>A</sup>	8,23 $\pm$ 0,14 <sup>a</sup>	9,22 $\pm$ 0,82 <sup>A</sup>
Óxidos								
Totais	18,24 <sup>b</sup>	22,10 <sup>B</sup>	17,83 <sup>b</sup>	21,52 <sup>B</sup>	20,38 <sup>b</sup>	25,01 <sup>B</sup>	20,09 <sup>b</sup>	24,71 <sup>B</sup>

Médias de amostras analisadas em triplicata. Na mesma linha, médias seguidas por letras minúsculas diferentes diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) entre as amostras cruas com e sem pimenta e médias seguidas por letras maiúsculas diferentes diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) entre as amostras grelhadas com e sem pimenta, ao longo do tempo de estocagem. 7-cetocolesterol (7-ceto), 5,6 $\alpha$ -epoxicolesterol (5,6 $\alpha$ -EP), 5,6 $\beta$ -epoxicolesterol (5,6 $\beta$ -EP).

Um total de 14 compostos voláteis foram identificados nas amostras de carne de búfalo (**Tabela 13 e 14, Figura 12**). Exceto no tempo inicial, que apenas 8 compostos foram encontrados, dentre eles: heptanal (1,34 ng/g), pentilfurano (1,67 ng/g), pentanol (0,29 ng/g), octanal (0,73 ng/g), nonanal (0,93 ng/g), octenol (1,05 ng/g), heptanol (0,42 ng/g) e decanal (1,12 ng/g). Comparando com os dados informados por Ma *et al.* (2012), na carne bovina, após o primeiro dia de congelamento, foram quantificados valores superiores para heptanal (2,27 ng/g), octanal (1,88 ng/g) e nonanal (6,52 ng/g).

O tratamento térmico resultou em elevação significativa ( $p < 0,05$ ) no total de voláteis passando de 7,55 ng/g para 17,20 ng/g no tempo 0, esse fato também foi mencionado por Domínguez *et al.* (2014a) em carne de potro e por Madruga *et al.* (2010) em carne de cordeiro, ambas grelhadas. Segundo Domínguez *et al.* (2014b), 90% dos compostos voláteis presentes na carne, submetida a algum método de cocção, surgem a partir da oxidação dos ácidos graxos insaturados.

A degradação térmica dos lipídeos ocasionada nas amostras grelhadas aumenta a formação dos compostos voláteis, principalmente do grupo dos aldeídos (pentanal, hexanal, heptanal, octanal e nonanal) que desempenham papel importante no desenvolvimento do sabor e aroma da carne, mas em concentrações elevadas podem produzir *off-flavours* (Ma *et al.*, 2012).

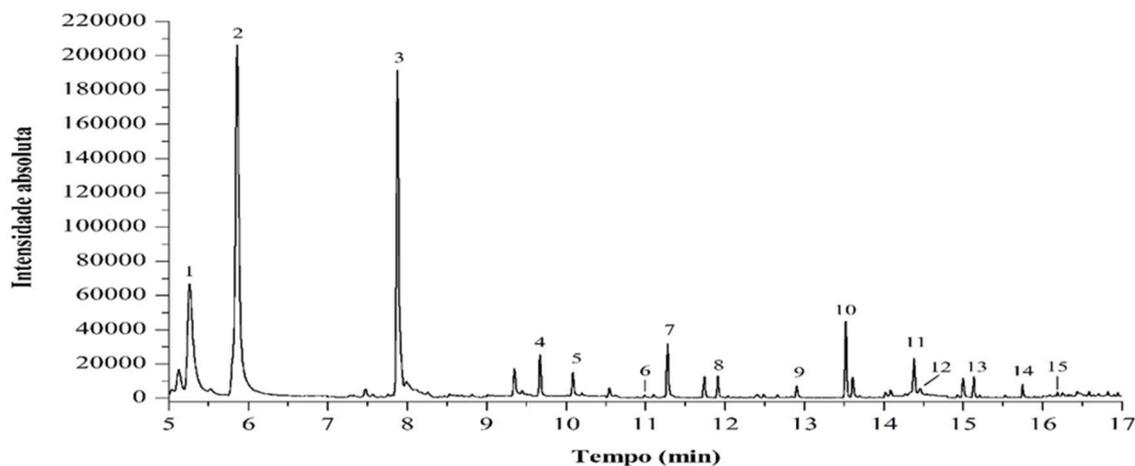
No presente estudo foi observado aumento, tanto durante o tempo de congelamento quanto após grelhar, nos teores dos compostos voláteis do grupo dos aldeídos, principalmente o hexanal, do grupo dos furanos com o pentilfurano e o grupo dos álcoois (pentenol, pentanol, hexanol, octenol, heptanol, octanol e 2-octen-1-ol), provavelmente devido à ocorrência de reação de Maillard, da degradação de vitaminas (Nieto *et al.*, 2011), como também, da oxidação dos ácidos graxos das famílias n-3, n-6 e n-9 que foi constatada pela redução de seus teores como mostrado na **Tabela 11**.

Nas amostras de carne de búfalo crua e submetidas ao tratamento térmico, a partir do 15º dia de congelamento constatou-se que a oxidação dos ácidos graxos da família n-9 resultou na produção de hexanal, heptanol, decanal, octanal, octanol, heptanal e nonanal, a degradação dos ácidos graxos n-3 originou apenas o 1-penten-3-ol e a oxidação dos ácidos graxos n-6 formaram hexanal, pentanal, pentenol, pentilfurano, hexanol, octenol e 2-octen-1-ol. Os valores encontrados no presente trabalho para os voláteis (do grupo dos aldeídos), principalmente para o pentanal e o hexanal, estão acima dos *thresholds* definidos por Buttery *et*

al. (1988) que variaram entre 0,7 e 15 ng/g, indicando que estes compostos podem ter afetado as características sensoriais da carne.

Apesar de terem sido encontrados compostos voláteis na pimenta cumari (**Tabela 14**), foi percebido que sua adição nas amostras de carne bubalina resultou em diferença significativa ( $p < 0,05$ ) no total de voláteis no tempo final de armazenamento, que na carne crua sem pimenta foi de 173,69 ng/g enquanto na carne com pimenta foi de 149,25 ng/g.

A pimenta cumari apresentou efeito protetor em relação à formação dos compostos voláteis, uma vez que os teores de pentanal, heptanal, pentanol, hexanol, nonanal, octenol e heptanol (**Tabela 14**) foram menores nas amostras adicionadas de pimenta quando comparada com as amostras sem pimenta, revelando que a mesma atuou no retardo da oxidação lipídica. Visto que, a pimenta cumari possui em sua composição a capsaicina, a dihidrocapsaicina e os compostos fenólicos que podem atuar como doadores de hidrogênios aos radicais livres formados na oxidação lipídica, e assim exercer o papel de um antioxidante natural.



**Figura 12.** Cromatograma dos compostos voláteis obtido por HS-SPME-GC-MS presentes na carne de búfalo da raça Murrah a partir do 15º dia de armazenamento, numerados de acordo com a Tabela 13.

**Tabela 13.** Padrões, índices de retenção e fragmentos usados para quantificar os compostos voláteis das amostras.

<b>Picos</b>	<b>Compostos voláteis</b>	<b>Índice de retenção</b>	<b>(<i>m/z</i>)</b>	<b>Fragmentos de referência (<i>m/z</i>)</b>
1	Pentanal	962	58	41; 44
2	2-metilpentanal (padrão interno)	986	58	41; 43
3	Hexanal	1069	56	41; 57
4	Pentenol	1156	57	29; 31
5	Heptanal	1169	70	41; 57
6	Pentilfurano	1214	81	82; 138
7	Pentanol	1243	42	55; 70
8	Octanal	1270	84	41; 56
9	Hexanol	1341	56	42; 55
10	Nonanal	1376	57	41; 56
11	Octenol	1441	57	43; 72
12	Heptanol	1447	70	55; 56
13	Decanal	1487	57	55; 82
14	Octanol	1551	56	55; 70
15	2-octen-1-ol	1606	57	43; 55

Souza e Bragagnolo (2014).

**Tabela 14.** Teores de compostos voláteis (ng/g) em base seca da pimenta cumari in natura e do músculo *Longissimus dorsi* de carne de búfalo (raça Murrah), crua e grelhada, nos diferentes tempos de estocagem.

	0 dia					15 dias			30 dias				
	Pimenta cumari	Crua sem pimenta	Grelhada sem pimenta	Crua com pimenta	Grelhada com pimenta	Crua sem pimenta	Grelhada sem pimenta	Crua com pimenta	Grelhada com pimenta	Crua sem pimenta	Grelhada sem pimenta	Crua com pimenta	Grelhada com pimenta
Pentanal	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	12,44±0,91 <sup>a</sup>	25,16±0,21 <sup>A</sup>	11,84±0,35 <sup>a</sup>	23,23±0,34 <sup>A</sup>	23,26±0,22 <sup>c</sup>	37,45±1,14 <sup>C</sup>	18,79±0,35 <sup>b</sup>	27,70±1,08 <sup>B</sup>
Hexanal	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	49,67±1,45 <sup>a</sup>	65,33±1,03 <sup>A</sup>	47,22±0,92 <sup>a</sup>	60,59±0,86 <sup>A</sup>	51,20±1,19 <sup>b</sup>	79,50±0,91 <sup>B</sup>	48,46±1,52 <sup>a</sup>	63,26±1,44 <sup>A</sup>
Pentenol	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	6,84±0,31 <sup>a</sup>	10,76±0,85 <sup>A</sup>	5,32±0,73 <sup>a</sup>	9,38±1,04 <sup>A</sup>	9,10±1,58 <sup>b</sup>	15,80±0,26 <sup>B</sup>	7,94±0,84 <sup>b</sup>	12,67±0,75 <sup>B</sup>
Heptanal	Nd	1,34±0,12 <sup>a</sup>	2,37±0,20 <sup>A</sup>	1,34±0,38 <sup>a</sup>	2,35±0,26 <sup>A</sup>	1,92±0,80 <sup>a</sup>	2,83±0,46 <sup>A</sup>	1,68±0,64 <sup>a</sup>	2,50±0,11 <sup>A</sup>	2,06±0,15 <sup>b</sup>	3,49±0,45 <sup>B</sup>	1,77±0,19 <sup>a</sup>	2,03±0,27 <sup>A</sup>
Pentilfurano	0,07±0,01	1,67±0,36 <sup>a</sup>	3,11±0,97 <sup>A</sup>	1,72±0,45 <sup>a</sup>	3,09±0,41 <sup>A</sup>	3,00±0,62 <sup>c</sup>	7,71±1,07 <sup>C</sup>	2,05±0,09 <sup>b</sup>	5,71±0,65 <sup>B</sup>	3,75±0,81 <sup>c</sup>	8,29±0,39 <sup>C</sup>	2,89±0,93 <sup>b</sup>	6,70±1,05 <sup>B</sup>
Pentanol	0,12±0,08	0,29±0,01 <sup>a</sup>	0,71±0,14 <sup>A</sup>	0,37±0,06 <sup>a</sup>	0,71±0,13 <sup>A</sup>	0,50±0,04 <sup>b</sup>	1,14±0,11 <sup>B</sup>	0,38±0,15 <sup>a</sup>	0,97±0,12 <sup>A</sup>	1,22±0,70 <sup>c</sup>	2,94±0,28 <sup>C</sup>	0,80±0,25 <sup>b</sup>	1,49±0,52 <sup>B</sup>
Octanal	0,20±0,11	0,73±0,14 <sup>a</sup>	4,85±0,26 <sup>A</sup>	0,86±0,07 <sup>a</sup>	4,87±0,62 <sup>A</sup>	1,96±0,15 <sup>b</sup>	6,13±0,19 <sup>B</sup>	1,17±0,28 <sup>b</sup>	5,39±0,18 <sup>B</sup>	3,54±0,12 <sup>c</sup>	8,42±0,07 <sup>C</sup>	2,10±0,15 <sup>b</sup>	6,86±0,10 <sup>B</sup>
Hexanol	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	0,47±0,10 <sup>b</sup>	2,36±0,24 <sup>B</sup>	0,24±0,09 <sup>a</sup>	1,99±0,90 <sup>A</sup>	0,77±0,03 <sup>b</sup>	3,17±0,05 <sup>B</sup>	0,39±0,13 <sup>b</sup>	2,38±0,07 <sup>B</sup>
Nonanal	0,05±0,02	0,93±0,18 <sup>a</sup>	1,45±0,07 <sup>A</sup>	0,96±0,09 <sup>a</sup>	1,48±0,30 <sup>A</sup>	5,73±0,42 <sup>c</sup>	6,58±1,02 <sup>C</sup>	3,37±0,75 <sup>b</sup>	5,57±0,37 <sup>B</sup>	6,05±1,49 <sup>c</sup>	7,00±1,92 <sup>C</sup>	4,23±0,46 <sup>b</sup>	6,00±0,36 <sup>B</sup>
Octenol	0,13±0,03	1,05±0,24 <sup>a</sup>	1,88±0,30 <sup>A</sup>	1,16±0,11 <sup>a</sup>	1,87±0,55 <sup>A</sup>	1,98±0,22 <sup>b</sup>	2,73±0,22 <sup>B</sup>	1,79±0,39 <sup>b</sup>	2,13±0,39 <sup>B</sup>	2,94±0,11 <sup>c</sup>	4,09±0,78 <sup>C</sup>	2,00±0,11 <sup>c</sup>	3,04±0,95 <sup>C</sup>
Heptanol	0,03±0,00	0,42±0,05 <sup>a</sup>	0,79±0,07 <sup>A</sup>	0,44±0,10 <sup>a</sup>	0,77±0,21 <sup>A</sup>	1,01±0,17 <sup>c</sup>	3,51±0,09 <sup>C</sup>	0,69±0,19 <sup>b</sup>	2,40±0,14 <sup>B</sup>	1,72±0,04 <sup>c</sup>	3,88±0,66 <sup>C</sup>	0,83±0,05 <sup>b</sup>	2,98±0,93 <sup>B</sup>
Decanal	0,09±0,02	1,12±0,32 <sup>a</sup>	2,03±0,03 <sup>A</sup>	1,18±0,04 <sup>a</sup>	2,02±0,02 <sup>A</sup>	4,38±0,19 <sup>c</sup>	7,27±0,02 <sup>C</sup>	3,13±0,27 <sup>b</sup>	5,09±0,06 <sup>B</sup>	4,93±0,68 <sup>c</sup>	7,70±0,31 <sup>C</sup>	3,87±0,21 <sup>b</sup>	5,87±0,30 <sup>B</sup>
Octanol	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	1,86±0,03 <sup>a</sup>	4,16±0,35 <sup>A</sup>	1,01±0,01 <sup>a</sup>	3,55±0,20 <sup>A</sup>
2-octen-1-ol	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	0,21±0,03 <sup>a</sup>	0,32±0,14 <sup>A</sup>	0,15±0,08 <sup>a</sup>	0,27±0,10 <sup>A</sup>	0,67±0,14 <sup>b</sup>	0,99±0,18 <sup>B</sup>	0,50±0,07 <sup>b</sup>	0,84±0,19 <sup>B</sup>
∑ voláteis	0,69	7,55 <sup>a</sup>	17,20 <sup>A</sup>	7,83 <sup>a</sup>	17,13 <sup>A</sup>	90,11 <sup>c</sup>	141,83 <sup>C</sup>	79,03 <sup>b</sup>	125,22 <sup>B</sup>	113,07 <sup>d</sup>	186,88 <sup>D</sup>	95,58 <sup>c</sup>	145,37 <sup>C</sup>

Tabela 14. Continuação.

	60 dias		90 dias					
	Crua sem pimenta	Grelhada sem pimenta	Crua com pimenta	Grelhada com pimenta	Crua sem pimenta	Grelhada sem pimenta	Crua com pimenta	Grelhada com pimenta
Pentanal	34,75±0,91 <sup>d</sup>	48,46±1,3 <sup>D</sup>	23,25±1,15 <sup>c</sup>	35,42±1,42 <sup>C</sup>	47,50±0,94 <sup>e</sup>	59,55±2,21 <sup>E</sup>	35,69±0,82 <sup>d</sup>	48,96±1,33 <sup>D</sup>
Hexanal	67,44±2,24 <sup>c</sup>	86,02±1,85 <sup>C</sup>	52,91±1,09 <sup>b</sup>	74,90±1,38 <sup>B</sup>	70,03±1,45 <sup>c</sup>	93,11±1,03 <sup>C</sup>	64,55±0,92 <sup>c</sup>	88,49±0,86 <sup>C</sup>
Pentenol	18,40±0,72 <sup>c</sup>	21,41±1,34 <sup>C</sup>	11,34±1,13 <sup>b</sup>	14,06±0,55 <sup>B</sup>	20,37±0,31 <sup>c</sup>	26,81±3,85 <sup>C</sup>	13,15±0,73 <sup>c</sup>	17,66±1,04 <sup>C</sup>
Heptanal	2,31±0,38 <sup>b</sup>	3,74±0,26 <sup>B</sup>	1,80±0,22 <sup>a</sup>	2,76±0,02 <sup>A</sup>	3,71±0,80 <sup>c</sup>	4,45±0,46 <sup>C</sup>	2,39±0,64 <sup>b</sup>	3,39±1,11 <sup>B</sup>
Pentilfurano	4,04±0,45 <sup>c</sup>	8,72±0,41 <sup>C</sup>	3,07±0,36 <sup>c</sup>	7,66±0,97 <sup>C</sup>	4,93±0,62 <sup>c</sup>	9,72±1,07 <sup>C</sup>	3,77±0,09 <sup>c</sup>	8,11±0,65 <sup>C</sup>
Pentanol	2,55±0,16 <sup>c</sup>	3,36±0,93 <sup>C</sup>	1,38±0,21 <sup>c</sup>	2,29±0,34 <sup>C</sup>	3,33±0,34 <sup>d</sup>	4,86±1,11 <sup>D</sup>	2,64±0,35 <sup>c</sup>	3,76±0,72 <sup>C</sup>
Octanal	5,09±0,97 <sup>d</sup>	10,37±0,62 <sup>D</sup>	3,66±0,54 <sup>c</sup>	7,56±0,26 <sup>C</sup>	6,06±0,15 <sup>d</sup>	10,98±0,19 <sup>D</sup>	5,19±0,28 <sup>d</sup>	9,42±0,18 <sup>D</sup>
Hexanol	1,15±0,43 <sup>c</sup>	3,99±0,70 <sup>C</sup>	0,85±0,08 <sup>b</sup>	2,96±0,71 <sup>B</sup>	2,03±0,70 <sup>d</sup>	4,86±0,24 <sup>D</sup>	1,37±0,99 <sup>c</sup>	3,44±0,90 <sup>C</sup>
Nonanal	6,11±2,11 <sup>c</sup>	7,17±1,89 <sup>C</sup>	4,88±1,04 <sup>b</sup>	6,12±1,90 <sup>B</sup>	6,11±1,42 <sup>c</sup>	7,17±1,02 <sup>C</sup>	4,88±0,15 <sup>b</sup>	6,12±1,37 <sup>B</sup>
Octenol	3,09±0,05 <sup>d</sup>	4,62±0,07 <sup>D</sup>	2,80±0,30 <sup>c</sup>	3,98±0,08 <sup>C</sup>	4,49±0,46 <sup>c</sup>	7,36±0,07 <sup>E</sup>	3,56±0,22 <sup>d</sup>	5,78±0,08 <sup>D</sup>
Heptanol	2,50±0,34 <sup>d</sup>	5,79±0,05 <sup>D</sup>	1,12±0,05 <sup>c</sup>	3,47±0,26 <sup>C</sup>	3,27±0,68 <sup>e</sup>	7,46±0,21 <sup>E</sup>	1,87±0,05 <sup>d</sup>	4,98±0,05 <sup>D</sup>
Decanal	5,66±0,16 <sup>d</sup>	11,82±0,11 <sup>D</sup>	4,28±0,32 <sup>c</sup>	7,10±0,50 <sup>C</sup>	7,08±1,32 <sup>d</sup>	12,02±0,04 <sup>D</sup>	6,69±0,04 <sup>d</sup>	8,12±0,97 <sup>D</sup>
Octanol	2,59±0,62 <sup>b</sup>	5,31±0,20 <sup>B</sup>	1,94±0,08 <sup>b</sup>	4,05±0,32 <sup>B</sup>	2,55±0,55 <sup>b</sup>	5,77±0,08 <sup>B</sup>	1,98±0,41 <sup>b</sup>	4,16±1,11 <sup>B</sup>
2-octen-1-ol	1,05±0,28 <sup>c</sup>	2,21±0,09 <sup>C</sup>	0,79±0,04 <sup>b</sup>	1,36±0,63 <sup>B</sup>	2,30±0,91 <sup>c</sup>	2,99±0,92 <sup>C</sup>	1,52±0,26 <sup>c</sup>	1,83±0,38 <sup>C</sup>
∑ voláteis	156,73 <sup>e</sup>	222,99 <sup>E</sup>	114,07 <sup>d</sup>	95,68 <sup>D</sup>	173,69 <sup>f</sup>	257,11 <sup>F</sup>	149,25 <sup>e</sup>	214,22 <sup>E</sup>

Na mesma linha, médias seguidas por letras minúsculas diferentes diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) entre as amostras cruas com e sem pimenta e médias seguidas por letras maiúsculas diferentes diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) entre as amostras grelhadas com e sem pimenta, ao longo do tempo de estocagem.

Nd = não detectado (abaixo do limite de detecção em ng/g): pentanal (0,001), hexanal (0,002), pentenol (0,001), heptanal (0,001), hexanol (0,002), octanol (0,002), 1-octenol (0,001)

## 6. CONCLUSÃO

A carne de búfalo representa uma boa opção de alimento saudável por conter baixo teor de gordura e colesterol quando comparada a outros tipos de carne. Em relação as três raças de búfalo avaliadas: Jafarabadi, Mediterrâneo e Murrah não houve diferença entre os teores de umidade, lipídeos, colesterol e óxidos de colesterol, entretanto, a composição dos ácidos graxos revelou que a raça Murrah apresentou perfil lipídico com maior teor de ácidos graxos poli-insaturados.

O armazenamento a  $-18^{\circ}\text{C}$  durante 90 dias não causou modificações nos teores de umidade, lipídeos totais e ácidos graxos saturados, embora, tenha reduzido as taxas de colesterol, de ácidos graxos mono e poli-insaturados, e elevado a quantidade de óxidos de colesterol e dos compostos voláteis.

O tratamento térmico em grill elétrico a  $180^{\circ}\text{C}$  manteve constante o teor dos ácidos graxos saturados e provocou diminuição dos teores de umidade, colesterol, ácidos graxos mono e poli-insaturados, e ocasionou aumento em se tratando das quantidades de óxidos de colesterol e dos voláteis.

As análises realizadas na pimenta cumari (*C. baccatum var praetermissum*) permitiram obter seus teores de capsaicinoides e ácidos fenólicos totais, os quais a tornam opção de antioxidante natural a ser empregada em alimentos. Por este motivo, a pimenta cumari liofilizada foi adicionada à carne de búfalo para verificar sua ação como antioxidante durante a estocagem sob congelamento e após o tratamento térmico. A adição de pimenta cumari não teve efeito no teor de colesterol e seus óxidos. No entanto, a pimenta cumari atuou reduzindo a oxidação lipídica, protegendo os ácidos graxos mono e poli-insaturados, uma vez que os teores destes ácidos graxos foram maiores nas amostras com pimenta do que nas amostras sem pimenta. Além disso, os compostos voláteis formados durante a estocagem foram significativamente menores nas amostras com pimenta, tanto nas amostras cruas como nas grelhadas, do que nas amostras que não continham pimenta.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acree, H.; Arn, T. (2004). *Flavornet and Human Odor Space*; Cornell University: Geneva, NY, <http://www.flavornet.org> (accessed Aug 24, 2013).

Alfaia, C. M. M.; Alves, S. P.; Lopes, A. F.; Fernandes, M. J. E.; Costa, A. S. H.; Fontes, C. M. G. A.; Castro, M. L. F.; Bessa, R. J. B.; Prates, J. A. M. (2010). Effect of cooking methods on fatty acids, conjugated isomers of linoleic acid and nutritional quality of beef intramuscular fat. *Meat Science*, 84, 769–777.

Almeida, D. T.; Araújo, M. da P. N.; Furtunato, D. M. da N.; Souza, J. C.; Moraes, T. M. (2006). Revisão de literatura: aspectos gerais do processo de fritura e imersão. *Higiene Alimentar*, 20(138), 42-47.

Anand, P.; Thomas, S.G.; Kunnumakkara, A. B.; Sundaram, C.; Harikumar, K. B.; Sung, B.; Tharakan, S. T.; Misra, K.; Priyadarsini, I. K.; Rajasekharan, K. N.; Aggarwal, B. B. (2008). Biological activities of curcumin and its analogues (congeners) made by man and mother nature. *Biochemical Pharmacology*, 7(6), 1590–1611.

Andrighetto, C.; Jorge, A. M.; Athayde, N. B.; Francisco, C. L.; Rodrigues, E.; Piccinin, A. (2005). Composição química e maciez do músculo *Longissimus dorsi* de bubalinos jovens abatidos em diferentes períodos de confinamento. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35(8), 110-115.

Andrighetto, C.; Jorge, A. M.; Roça, R. de O.; Rodrigues, E.; Bianchini, W.; Francisco, C. de L. (2008). Características físico-químicas e sensoriais da carne de bubalinos Murrah abatidos em diferentes períodos de confinamento. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 37(12), 2179-2184.

Ansolini, F. C.; Tedesco, A. M.; Carpes, S. T.; Ferraz, C.; Alencar, S. M. (2006). Atividade antioxidante e antibacteriana dos compostos fenólicos dos extratos de plantas usadas como chás. *Brazilian Journal of Food Technology*, 9 (3), 209-215.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. (1997). Official methods of analysis. 16.ed. Maryland: 1141p.

AOCS (1997). *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society*, 5ª Edição, American Oil Chemists' Society Press, Champaign, Illinois, Official Method Ce 1b-89.

Ballin, N. Z.; Lametsch, R. (2008). Analytical methods for authentication of fresh vs. thawed meat: A review. *Meat Science*, 80(2), 151–158.

Barbero, G. F.; Palma, M.; Barroso, C. G. (2006). Pressurized Liquid Extraction of Capsaicinoids from Peppers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 3231-3236.

Barbosa, A. C. L.; Hassimotto, N. M. A.; Lajolo, F. M., Genovese, M. I. (2006). Teores de isoflavonas e capacidade antioxidante as soja e produtos derivados. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 4 (26), 921-926.

Barriuso, B.; Mariutti, L. R. B.; Ansorena, D.; Astiasarán, I.; Bragagnolo, N. (2015). Manacubiu antioxidant protective effect towards cholesterol oxidation: influence of docosahexaenoic acid. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117.

Bautista, D.; Obrador, A.; Moreno, V.; Cabeza, E.; Canet, R. (1997). Mutation modifies the protective effect of dietary monounsaturated fat and calcium on sporadic colorectal cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 6(1), 57-61.

Bernardes, O. (2007). Bubalinocultura no Brasil: situação e importância econômica. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 31(3), 293-298.

Blumenthal, M. M. (1991). Una nueva perspectiva em La química y física de las frituras por inmersión. *Alimentaria*, 28(9), 144-148.

Botsoglou, E.; Govaris, A.; Ambrosiadis, I.; Fletouris, D.; Botsoglou, N. (2014). Effect of olive leaf extracts on protein and lipid oxidation of long-term frozen n-3 fatty acids enriched pork patties. *Meat Science*, 98(2), 150-157.

Bragagnolo, N.; Rodriguez-Amaya, D. B. (2002). Teores de colesterol, lipídios totais e ácidos graxos em cortes de carne suína. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 22(1), 98-1043.

Bragagnolo, N.; Rodriguez-Amaya, D. B. (2003). New data on the total lipid, cholesterol and fatty acid composition of raw and grilled beef longissimus dorsi. *Archives Latinoamericanas de Nutrition*, 53(3), 312–319.

Bragagnolo, N.; Danielsen, B.; Skibsted, L. H. (2005). Effect of rosemary on lipid oxidation in pressure-processed, minced chicken breast during refrigerated storage and subsequent heat treatment. *European Food Research and Technology*, 221, 610-615.

Bragagnolo, N. (2009). Cholesterol and cholesterol oxides in meat and meat products, in: Nollet, L., Toldra, F. Handbook of muscle foods analysis, CRC Press: Boca Raton.

Brewer, M. S. (2011). Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potencial applications. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 10, 221-247.

Broncano, J. M.; Petró, M. S.; Parra, V.; Timón, M. L. (2009). Effect of diferente cooking methods on lipid oxidation and formation of free cholesterol oxidation products (COPs) in *Latissimus dorsi* muscle of Iberian pigs. *Meat Science*, 83, 431-437.

Buttery, R., Turnbaugh, J., Ling, L. (1988). Contribution of volatiles to rice aroma. *Journal of agricultural and food chemistry*, 36(5), 1006–1009.

Calabrò, S.; Cutrignelli, M. I.; Gonzalez, O. J.; Chiofalo, B.; Grossi, M.; Tudisco, R.; Panetta, C.; Infascelli, F. (2014). Meat quality of buffalo young bulls fed faba bean as protein source. *Meat Science*, 96, 591-596.

Calderelli, V. A. S; Benassi, M. T; Matioli, G. (2008). Substituição da gordura hidrogenada por óleo de soja na elaboração de pães de linhaça e avaliação da aceitabilidade. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28(3), 668-674.

Campo, M. M.; Muela, E.; Olleta, J. L.; Moreno, L. A.; Santaliestra-Pasías, A. M.; Mesana, M. I.; Sanudo, C. (2013). Influence of cooking method on the nutrient composition of Spanish light lamb. *Journal of Food Composition and Analysis*, 31, 185–190.

Castro, W. F.; Mariutti, L. R. B.; Bragagnolo, N. (2011). The effects of colorifico on lipid oxidation, color and vitamin E in raw and grilled chicken patties during frozen storage. *Food Chemistry*, 124, 126-131.

Carrillo, C.; Cavia, M<sup>a</sup> del M.; Alonso-Torre, S. R. (2012). Antitumor effect of oleic acid: mechanisms of action- a review. *Nutrición Hospitalaria*, 27(5), 1860-1865.

Cázares-Sánchez, E.; Ramírez-Vallejo, P.; Castillo-González, F.; Soto-Hernández, R. M.; Rodríguez-González, M. T.; Chávez-Servia, J. L. (2005). Capsaicinoides y preferencia de uso en diferentes morfotipos de chile (*Capsicum annum* L.) del Centro-Oriente de Yucatán. *Agrociencia*, 39, 627-638.

Chajes, V.; Thiebaut, A. C.; Rotival, M.; Gauthier, E.; Maillard, V. (2008). Association between sérum transmonounsaturated fatty acids and breast câncer risk in the E3N-EPIC Study. *American Journal of Epidemiology*, 167(11), 1312-1320.

Chiavarro, E.; Rinaldi, M.; Vittadine, E.; Barbanti, D. (2009). Cooking of pork longissimus dorsi at diferente temperature and relative humidity values: effects on selected physico-chemical properties. *Journal of Food Engineering*, 93, 158-165.

Chisté, R. C.; Mercadante, A. Z.; Gomes, A.; Fernandes, E.; Lima, J. L.F.C.; Bragagnolo, N. (2011). *In vitro* scavenging capacity of annatto seed extracts against reactive oxygen and nitrogen species. *Food Chemistry*, 124, 126-131.

Cifuni, G. F.; Napolitano, F.; Riviezzi, A. M.; Braghieri, A.; Girolami, A. (2004). Fatty acid profile, cholesterol content and tenderness of meat from Podolian young bulls. *Meat Science*, 67, 289-297.

Costa, L. M. da; Moura, N. F. de; Marangoni, C.; Mendes, C. E.; Teixeira, A. O. (2010). Atividade antioxidante de pimentas do gênero *Capsicum*. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30, 51-59.

Dal Bosco, A.; Castellini, C.; Bernardini, M. (2001). Nutritional quality of rabbit meat as affected by cooking procedure and dietary vitamin E. *Journal of Food Science*, 66, 1047-1051.

Department of Health and Social Security. (1994). Nutritional aspects of cardiovascular disease. London: HSMO. *Report on Health and Social Subjects*, 46, 178p.

Domínguez, R.; Gómez, M.; Fonseca, S.; Lorenzo, J. M. (2014a). Influence of thermal treatment on formation of volatile compounds, cooking loss and lipid oxidation in foal meat. *Food Science and Technology*, 58, 439-445.

Domínguez, R.; Gómez, M.; Fonseca, S.; Lorenzo, J. M. (2014b). Effect of different cooking methods on lipid oxidation and formation of volatile compounds in foal meat. *Meat Science*, 97, 223-230.

Domínguez, R.; Borrajo, P.; Lorenzo, J. M. (2015). The effect of cooking methods on nutritional value of foal meat. *Journal of Food Composition and Analysis*, 43, 61-67.

Dool, H. Van den, Kratz, P. D. (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography*, 11(3), 463–471.

Dutra, F. L. A.; Branco, I. G.; Madrona, G. S.; Haminiuk, C. W. I. (2010). Avaliação Sensorial e Influência do Tratamento Térmico no Teor de Ácido Ascórbico de Sorvete de Pimenta. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, 4 (2), 243-251.

El-Ghorab, H.; Nauman, M.; Anjum, F. M.; Hussain, S.; Nadeem, M. (2010). Comparative study on chemical composition and antioxidant activity of ginger (*Zingiber officinale*) and cumin (*Cuminum cyminum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(14), 8231–8237.

El-Sayed, A. M. (2012). The Pherobase: Database of Insect Pheromones and Semiochemicals, <http://www.pherobase.com/database/kovats/kovats-index.php> (accessed Aug 24, 2013).

Elmore, J. S.; Warren, H. E.; Mottram, D. S.; Scollan, N. D.; Enser, M.; Richardson, R. I.; Wood, J. D. (2004). A comparison of the aroma volatiles and fatty acid compositions of grilled beef muscle from Aberdeen Angus fed diets based on silage or concentrates. *Meat Science*, 68, 27-33.

Elwood, P. C.; Pickering, J. E.; Givens, D. I.; Gallacher, J. E. (2010). The consumption of milk and dairy foods and the incidence of vascular disease and diabetes: an overview of the evidence. *Lipids*, 45, 925-939.

Fernández-López, J.; Sevilla, L.; Sayas-Barberá, E.; Navarro, C.; Marín, F.; Pérez-Alvarez, J. A. (2003). Evaluation of the antioxidant potential of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extracts in cooked pork meat. *Journal of Food Science*, 68 (2), 660-664.

Ferrari, C. K. B. (1998). Oxidação lipídica em alimentos e sistemas biológicos: mecanismos gerais e implicações nutricionais e patológicas. *Revista de Nutrição*, 11 (1), 3-14.

Figueirêdo, B. C.; Trad, I.J.; Mariutti, L. R. B.; Bragagnolo, N. (2014). Effect of annatto powder and sodium erythorbate on lipid oxidation in pork loin during frozen storage. *Food Research International*, 65, 137 – 143.

Figueirêdo, B. C.; Bragagnolo, N.; Skibsted, L. H.; Orlien, V. (2015). Inhibition of cholesterol and polyunsaturated fatty acids oxidation through the use of annatto and bixin in high pressure processed fish. *Journal of Food Science*, 80, 1646-1653.

Folch, J.; Lees, M.; Stanley, S. (1957). A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biology and Chemistry*, 226, 497-509.

Furtado, A. A. L.; Dutra, A. S.; Deliza R. (2006). Processamento de “Pimenta Dedo-de- Moça” (*Capsicum baccatum* Var, *pendulum*) em conserva. *Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*. ISSN 0103-5231, Rio de Janeiro, RJ.

Francisco, C. L.; Jorge, A. M.; Athayde, M. B.; Andrighetto, C.; Roça, R. O.; Ramos, A. A. (2007). Chemical composition and tenderness of *longissimus dorsi* muscle from non-castrated Murrah buffaloes slaughtered at different weights. *Italian Journal of Animal Science*, 6(2), 1163-1166.

Geay, Y.; Bauchart, D.; Hocquette, J.; Culioli, J. (2001). Effect of nutritional factors on biochemical, structural and metabolic characteristics of muscles in ruminants, consequences on dietetic value and sensorial qualities of meat. *Reproduction Nutrition Development*, 41(1), 1-26.

Gerber, N.; Scheeder, M. R. L.; Wenk, C. (2009). The influence of cooking and fat trimming on the actual nutrient intake from meat. *Meat Science*, 81, 148-154.

Griinari, J. M.; Baumam, D. E. (1999). Biosynthesis of CLA and its incorporation into meat and milk in ruminants, em Yurawecz, M. P.; Massoba, M. M.; Kramer, J. K. G.; Pariza, M. W., Nelson, G. *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, 1, *AOCS Press*, 180-200.

Haak, L.; Sioen, I.; Raes, K.; Van Camp, J.; De Smet, S. (2007). Effect of pan-frying in different culinary fats on the fatty acid profile of pork. *Food Chemistry*, 102, 857-864.

Halliwell, B., Gutteridge, J. M. (2007). The chemistry of free radicals and related reactive species. In: Halliwell, B; Gutteridge, J. M. *Free radicals in biology and medicine*. 4<sup>a</sup> ed. New York: Oxford. cap.2.

Halliwell, B. (2012). Free radical and antioxidants: updating a personal view. *Nutrition Reviews*, 70 (5), 257-265.

Henderson, D. E.; Henderson, S. K. (1992). Thermal decomposition of capsaicin: interactions with oleic acid at high temperatures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 2263-2268.

Hernández, P.; Navarro, J. L.; Toldrá, F. (1998). Lipid composition of lipolytic enzyme activities in porcine skeletal muscles with different oxidative pattern. *Meat Science*, 49(1), 1-10.

Huang, L.; Xiong, Y. L.; Kong, B.; Huang, X.; Li, J. (2013). Influence of storage temperature and duration on lipid and protein oxidation and flavor changes in frozen pork dumpling filler. *Meat Science*, 95, 295-301.

Hughes-Fulford, M.; Chen, Y.; Tjandra winata, R. R. (2001). Fatty acid regulates gene expression and growth of human prostate cancer PC-3 cells. *Carcinogenesis*, 22(5), 701-707.

Hunter, J. E.; Zhang, J.; Kris-Etherton, P. M. (2010). Cardiovascular disease risk of dietary stearic acid compared with trans, other saturated, and unsaturated fatty acids: a systematic review. *American Journal of Clinical Nutrition*, 91(1), 46-63.

Hur, S. J.; Park, G. B.; Joo, S. T. (2007). Formation of cholesterol products (COPs) in animal products. *Food Control*, 18, 939-947.

I Diretriz sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia (2013). *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 100(1), suplemento 3, 1-40.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2014). Produção da pecuária municipal, vol.42, 1-36p.

Insani, E. M.; Eyherabide, A.; Grigoni, G.; Sancho, A. M., Pensel, N. A., Descalzo, A. M. (2008). Oxidative stability and its relationship with natural antioxidants during refrigerated retail display of beef produced in Argentina. *Meat Science*, 79, 444-452.

Iuliano, L. (2011). Pathways of cholesteroxidation via non-enzymatic mechanisms. *Chemistry and physics of lipids*, 164, 457-468.

Janiszewski, P.; Grzeskowiak, E.; Lisiak, D.; Borys, B.; Borzut, K.; Pospiech, E.; Polawska, E. (2016). The influence of thermal processing on the fatty acid profile of pork and lamb fed diet with increased levels of unsaturated fatty acids. *Meat Science*, 111, 161-167.

Joseph, J. D.; Ackman, R. G. (1992). Capillary column gas chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethylesters-Collaborative study. *Journal of AOAC International*, 75, 488-506.

- Juárez, M.; Failla, S.; Ficco, A.; Pena, F.; Avilés, C.; Polvillo, O. (2010). Buffalo meat composition as affected by diferente cooking methods. *Food and Bioproducts Processing*, 88, (2–3), 145-148.
- Kim, H. J., Min, D. B. (2008). Chemistry of lipid oxidation, in: Akoh, D. U., Min, D. B. (Eds), *Food lipids: chemistry, nutrition and biotechnology*. CRC Press: Boca Raton, 299-320.
- Kosar, M.; Göger, F.; Baser, K.H.C. (2008). In vitro antioxidant properties and phenolic composition of *Salvia virgata* Jacq. from Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(7), 2369-2374.
- Kowale, B. N.; Rao, V. K.; Babu, N. P.; Sharma, N.; Bisht, G. S. (1996). Lipid Oxidation and Cholesterol Oxidation in Mutton During Cooking and Storage. *Meat Science*, 43(2), 195-202.
- Kris-Etherton, P.; Yu, S. (1997). Individual fatty acids effects on plasma lipids and lipoproteins; human studies. *American Journal of Clinical Nutrition*, 65, 1628-1644.
- Kuskoski, E. M.; Asuero, A. G.; Troncoso, A. M.; Mancini-Filho, J.; Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante em pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25(4), 726-732.
- Laguerre, M.; Lecomte, J.; Villeneuve, P. (2007). Evaluation of ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: existing methods, new trends and challenges. *Progress in lipid research*, 46(5), 244-282.
- Lee, J.; Scagel, C. F. (2009). Chicoric acid found in basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. *Food Chemistry*, 115, 650-656.
- Leygonie, C.; Britz, T. J.; Hoffman, L. C. (2012). Impact of freezing and thawing on the quality of meat: Review. *Meat Science*, 91, 93-98.
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids pigments of photosynthetic biomembranes. In: Packer, L, Douce, R, Eds. *Methods in Enzymology*. Academic Press, London, UK, 148, 350-381.

Lima, F. E. L de; Menezes, T. N. de; Tavares, M. P.; Szarfarc, S. C.; Fisberg, R. M. (2000). Ácidos graxos e doenças cardiovasculares: uma revisão. *Revista de Nutrição Campinas*, 13(2), 73-80.

Lima, U. de A. (2010). *Matérias-primas dos alimentos*. Ed. Edgar Blucher, 424p.

Lima, M. C. O. (2012). Análise de carne caprina armazenada sob congelamento. *Dissertação de Mestrado*- Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Departamento de Ciência de Alimentos. Itapetinga-BA, 66p.

Lira, G. M.; Sant'ana, A. E. G.; Araújo, D. C. S.; Menezes, M. E. S.; Oliveira, F. R. (2001). Determinação de lipídios e colesterol em carnes bovina e suína comercializadas em Maceió. *Nutrire*, 21, 7-16.

Lira, G. M.; Mancini-Filho, J.; Torres, R. P.; Oliveira, A. C. de; Vasconcelos, A. M. A.; Omena, C. M. B. de; Almeida, M. C. S. de. (2005). Composição centesimal, valor calórico, teor de colesterol e perfil de ácidos graxos da carne de búfalo (*Bubalis bubalis*) da cidade de São Luiz do Quitunde-AL. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 64(1) 31-38.

Loizzo, M. R; Pugliese, A.; Bonesi, M.; Menichini, F.; Tundis, R. (2015). Evaluation of chemical profile and antioxidante activity of twentieth cultivars from *Capsicum annum*, *Capsicum baccatum*, *Capsicum chacoense* and *Capsicum chinense*: A comparison between fresh and processed peppers. *Food Science and Technology*, 64, 623-631.

Lottenberg, A. M. P. (2003). Perspectivas atuais sobre a gordura alimentar e as dislipidemias. *Nutrição Brasil*, 6, 327-329.

Lu, N.; Shu, G.; Xie, Q.; Zhu, X.; Gao, P.; Zhou, G.; Wang, S.; Xi, Q.; Zhang, Y.; Jiang, Q. (2014). Myristic acid (MA) promotes adipogenic gene expression and the differentiation of porcine intramuscular adipocyte precursor cells. *Journal of Integrative Agriculture*, 13(11), 2488-2499.

Lui, Z.; Xiong, Y.; Chen, J. (2010). Protein oxidation enhances hydration but suppresses water-holding capacity in porcine *Longissimus* muscle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 10697–10704.

Luciano, G.; Biondi, L.; Scerra, M.; Serra, A.; Mele, M.; Lanza, M.; Prioli, A. (2013). The effect of change from a herbage to a concentrate based diet on the oxidative stability of raw and cooked lamb meat. *Meat Science*, 95, 212-218.

Luz, P. A. C. (2014). Características qualitativas da carne de bubalinos submetida a diferentes períodos de maturação. *Dissertação de Mestrado*- Universidade Estadual Paulista. Dracena-SP, 97p.

Ma, Q.L.; Hamid, N.; Bekhiti, A.E.D.; Robertson, J.; Law, T.F. (2012). Evaluation of pre-rigor injection of beef with proteases on cooked meat volatile profile after 1day and 21days post-mortem storage. *Meat Science*, 92, 430-439.

Madruga, M. S.; Elmore, J. S.; Oruna-Concha, M. J.; Balagiannis, D.; Mottram, D. S. (2010). Determination of some water-soluble aroma precursors in goat meat and their enrolment on flavour profile of goat meat. *Food Chemistry*, 123, 513-520.

Maranesi, M.; Bochicchio, D.; Montellato, L.; Zaghini, A.; Pagliuca, G.; Badiani, A. (2005). Effect of microwave cooking or broiling on selected nutrient contents, fatty acid patterns and true retention values in separable lean from lamb ribloins, with emphasis on CLA. *Food Chemistry*, 90, 207-218.

Marchiori, A. F. (2001). Composição e propriedades físico-químicas da carne de javali e de suíno comercial. *Dissertação de Mestrado*- Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. Departamento de Tecnologia de Alimentos. Campinas-SP, 62p.

Marín, A.; Ferreres, F.; Tomás-Barberán, F. A.; Gil, M. I. (2004). Characterization and quantitation of antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 3861-3869.

Mariutti, L. R. B.; Nogueira, G. C.; Bragagnolo, N. (2008). Optimization and validation of analytical conditions for cholesterol and cholesterol oxides extraction in chicken meat using response surface methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 2913-2918.

Mariutti, L. R. B.; Nogueira, G. C.; Bragagnolo, N. (2011). Lipid and cholesterol oxidation in chicken meat are inhibited by sage but not by garlic. *Journal of Food Science*, 76, 909-915.

Mariutti, L. R. B.; Bragagnolo, N. (2012). The use of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) as antioxidant in meat products in comparison to BHA and BHT, in: Kralis, J. F. *Spices: types, uses and health benefits*. Nova Science Publishers, Inc. New York, p113-127.

Martin, C. A.; Almeida, V. V. de; Ruiz, M. R.; Visentainer, J. E. L.; Matshushita, M.; Souza, N. E. de; Visentainer, J. V. (2006) Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: importance and occurrence in foods. *Revista de Nutrição*, 19(6), 761-770.

Martinez, L.; Cilla, I.; Beltrán, J. A.; Roncalés, P. (2006). Effect of *Capsicum annuum* (red sweet and cayenne) and *Piper nigrum* (black and white) pepper powders on the shelf life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere. *Journal of Food Science*, 71(1), 48-53.

McCarthy, T. L.; Kerry, J. P.; Kerry, J. F.; Lynch, P. B.; Buckley, D. J. (2001). Evaluation of the antioxidant potential of natural food/plant extracts as compared with synthetic antioxidants and vitamin E in raw and cooked pork patties. *Meat Science*, 57 (1) 45-52.

Menendez, J. A.; del Mar Barbacid, M.; Montero, S.; Sevilla, E.; Escrich, E.; Solanas, M.; Cortes-Funes, H.; Colomer, R. (2001). Effects of gamma-linolenic acid and oleic acid on paclitaxel cytotoxicity in human breast cancer cells. *European Journal of Cancer*, 37(3), 402-413.

Michiels, C.; Raes, M.; Toussaint, O.; Remacle, J. (1994). Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free radical biology and medicine*, 17(3), 235-248.

Miranda, J. M.; Martinez, B.; Pérez, B.; Anton, X.; Vazquez, B. I.; Fente, C. A.; Franco, C. M.; Rodriguez, J. L.; Cepeda, A. (2010). The effects of industrial pre-frying and domestic cooking

methods on the nutritional compositions and fatty acid profiles of two different frozen breaded foods. *Food Science and Technology*, 43, 1271-1276.

Morán-Banuelos, S.H.; Aguila-Rincón, V. H.; Corona-Torres, T.; Castillo-González, F.; Soto-Hernández, R.M.; San Miguel-Chávez, R. (2008). Capsaicinoides en chiles nativos de Puebla, México. *Agrociencia*, 42, 807-816.

Morzycki, J. W. (2014). Recent advances in cholesterol chemistry. *Steroids*, 83, 62-79.

Muela, E.; Sanudo, C.; Campo, M. M.; Medel, I.; Beltrán, J. A. (2012). Effect of freezing method and frozen storage duration on lamb sensory quality. *Meat Science*, 90, 209-215.

Nam, K. C.; Du, M.; Jo, C.; Ahn, D. U. (2001). Cholesterol oxidation products in irradiated raw meat with different packaging and storage time. *Meat Science*, 58, 431–435.

Nascimento, C. N. B. do; Carvalho, L. O. D. de M.; Costa, N. A. da (1993). Boletim de Pesquisa n°145, EMBRAPA, 17p.

National Cholesterol Education Program (NCEP) (2002). Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). final report. *Circulation*, 106, 3143-3421.

Nieto, G.; Banon, S.; Garrido, M. D. (2011). Effect of supplementing ewes diet with thyme (*Thymus zygis* spp. *gracilis*) leaves on the lipid oxidation of cooked lamb meat. *Food Chemistry*, 125, 1147-1152.

Okada, Y.; Tanaka, K.; Fujita, I.; Sato, E.; Okajima, H. (2005). Antioxidant activity of thiosulfinates derived from garlic. *Redox Report*, 10(2), 96–102.

Oliveira, A. de L. (2005). Búfalos: produção, qualidade de carcaça e de carne. Alguns aspectos quantitativos, qualitativos e nutricionais para promoção do melhoramento genético. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 29 (2), 122-134.

Oliveira, A. M. C. (2011). Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante *in vitro* e atividade antifúngica de pimentas do gênero *Capsicum spp.* *Dissertação de Mestrado*- Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Piauí. Departamento de Nutrição. Teresina-PI, 82p.

Ornelas, L. H. (2001). Técnica dietética: seleção e preparo de alimentos. Ed. Atheneu, 8ªed., 296p.

Ornelas-Paz, J.J.; Burrola, J.M.M; Cruz, S.R.; Rodriguez, V.S.; Junquera, V.I.; Olivas, G.I.; Martinez, J.D.P. (2010). Effect of cooking on the capsaicinoids and phenolics contents of Mexican peppers. *Food Chemistry*, 119, 1619-1625.

Osada, K.; Kodama, T.; Cui, L.; Yamada, K.; Sugano, M. (1993). Levels and formation of oxidized cholesterol in processed marine foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 1893-1898.

Otham, Z. A. A.; Ahmed, Y.B.H; Habila, M. A.; Ghafar, A.A. (2011). Determination of capsaicin and dihydrocapsaicin in *Capsicum* fruit samples using HPLC. *Molecules*, 16, 8919-8929.

Pariza, M. W.; Park, K. Y.; Cook, M. E. (2001). The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progress in Lipid Research*, 40, 283-298.

Paulino, P. V. R.; Filho, S. C. V.; Detmann, E.; Valadares, R. F. D.; Fonseca, M. A.; Marcondes, M. I. (2009). Deposição de tecidos e componentes químicos corporais em bovinos Nelore de diferentes classes sexuais. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38 (12), 2516-2524.

Peng, S.; Hu, B.; Morin, R. J. (1991). Angiotoxicity and atherogenicity of cholesterol oxides. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 5, 144-152.

Pereira, G. M.; Finger, F. L.; Casali, V. W. D.; Brommonschenkel, S. H. (2008). Influência do tratamento com etileno sobre o teor de sólidos solúveis e a cor de pimentas. *Bragantia*, 67(4).

Pereira, R de C. A.; Santos, O. G. dos (2013). Plantas condimentares: cultivo e utilização. EMBRAPA Agroindústria Tropical, 161, 56p.

Pietrasik, Z.; Janz, J. A. M. (2009). Influence of freezing and thawing on the hydration characteristics, quality and consumer acceptance of whole muscle beef injected with solutions of salt and phosphate. *Meat Science*, 81, 523–532.

Purchas, R.W.; Burnham, D.L.; Morris, S.T. (2002). Effects of growth potential and growth path on tenderness of beef *Longissimus* muscle from bulls and steers. *Journal of Animal Science*, 80, 3211-3221.

Puwastien, P.; Judprasong, K.; Kettwan, E.; Vasanachitt, K.; Nakngamanong, Y; Bhattacharjee, L. (1999). Proximate composition of raw and cooked thai freshwater and marine fish. *Journal of Food Composition and Analysis*, 12, 9-16.

Rao, V. K.; Kowale, B. N.; Babu, N. P.; Bisht, G. S. (1996). Effect of Cooking and Storage on Lipid Oxidation and Development of Cholesterol Oxidation Products in Water Buffalo Meat. *Meat Science*, 43(2), 179-185.

Ratnam, D. V.; Ankola, D. D.; Bhardwaj, V.; Sahana, D. K.; Ravi Kumar, M. N. V. (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of Controlled Release*, 113, 189-207.

Roche, H. M.; Noone, E.; Sewter, C.; Mc Bennett, S.; Savage, D.; Gibney, M. J.; O’Rahilly, S.; Vidal-Puig, A. J. (2002). Isomer-dependent metabolic effects of CLA insight from molecular markers sterol regulatory element-binding protein-1c and LXR alpha. *Diabetes*, 51, 2037-2044.

Rodrigues, V. C.; Bressan, M. C.; Cardoso, M. G.; Freitas, R. T. F. (2004). Ácidos graxos na carne de búfalos e bovinos castrados e inteiros. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 33 (2), 434-443.

- Rodriguez-Estrada, M. T.; Garcia-Llatas, G.; Lagarda, M. J. (2014). 7-Ketocholesterol as marker of cholesterol oxidation in model and food systems: When and how. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 446, 792–797.
- Rosa, A.; Deiana, M.; Casu, V.; Paccagnini, S.; Appendino, G.; Ballero, M.; Dessi, M. A. (2002). Antioxidant activity of capsinoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 7396-7401.
- Russo, G. L. (2009). Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids: From biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. *Biochemical Pharmacology*, 77(6), 937-946.
- Saldanha, T.; Sawaya, A. C. H. F.; Eberlin, M. N.; Bragagnolo. (2006). HPLC separation and determination of 12 cholesterol oxidation products in fish: comparative study of RI, UV and APCI-MS detectors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 4107-4113.
- Sampaio, G. R.; Bastos, D. H. M.; Soares, R. A. M.; Queiroz, Y. S.; Torres, E. A. F. S. (2006). Fatty acids and cholesterol oxidation in salted and dried shrimp. *Food Chemistry*, 95, 344-351.
- Sancho, R. A. S. (2010). Efeito da adição de coentro e urucum na composição de ácidos graxos em filé de pescada branca (*Cynoscion spp*). *Dissertação de Mestrado*- Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. Departamento de Ciência de Alimentos. Campinas-SP, 90p.
- Sancho, R. A. S.; Lima, F. A.; Costa, G. G.; Mariutti, L. R. B.; Bragagnolo, N. (2011). Effect of annatto seed and coriander leaves as natural antioxidants in fish meatballs during frozen storage. *Journal of Food Science*, 76, 838-845.
- Schwartz, B.; Birk, Y.; Raz, A.; Madar, Z. (20004). Nutritional-pharmacological combinations- a novel approach to reducing colon cancer incidence. *European Journal of Nutrition*, 43(4), 221-229.
- Serrano, A.; Librelotto, J.; Cofrades, S.; Sanchez M. F. J.; Jimenez-Colmenero, F. (2007). Composition and physicochemical characteristics of restructured beef steaks containing walnuts as affected by cooking method. *Meat Science*, 77, 304-313.

- Sganzerla, M.; Coutinho, J. P.; Melo, A. M. T.; Godoy, H. T. (2014). Fast method for capsaicinoids analysis from *Capsicum chinense* fruits. *Food Research International*, 64, 718–725.
- Sheard, P. R.; Nute, G. R.; Chappell, G. (1998). The effect of cooking on the chemical composition of meat products with special reference to fat loss. *Meat Science*, 49(2), 175-191.
- Siegel G, Ermilov E. (2012). Omega-3 fatty acids: Benefits for cardio-cerebro-vascular diseases. *Atherosclerosis*, 225, 291-295.
- Silva, A. V.; Almeida, T. J. O.; Feitosa, P. J. S.; Araújo, V. V.; Lima, C. L.; Almeida, J. M. C.; Oliveira, V. P. (2012). Bubalinocultura brasileira: potencialidade e expansão. *Revista Tecnologia e Inovação Agropecuária*, 19(1), 100-109.
- Siuriana, A.; Calsamiglia, S. (2016). A metaanalysis of feeding strategies to increase the content of conjugated linoleic acid (CLA) in dairy cattle milk and the impact on daily human consumption. *Animal Feed Science and Technology*, 217, 13-26.
- Singleton, V. L.; Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Simopoulos, A. P. (2006). Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 60(9), 502-507.
- Souza, H. A. L. de; Bragagnolo, N. (2014). New method for the extraction of volatile lipid oxidation products from shrimp by headspace-solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry and evaluation of the effect of salting and drying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 590-599.
- Souza, H. A. L. de (2014). Desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação de produtos de oxidação lipídica e sua aplicação em camarão (*Litopenaeus vannamei*). *Tese de Doutorado*- Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. Departamento de Ciência de Alimentos. Campinas-SP, 109p.

Soyer, A.; Ozalfa, B.; Dalmis, U.; Bilgin, V. (2010). Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat. *Food Chemistry*, 120, 1025-1030.

Storti, S. M. M. (2007). Características da carne de bubalinos jovens da raça murreh em dois sistemas de terminação. *Dissertação de Mestrado- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista*. Botucatu-SP, 38p.

Yanishlieva, N.V.; Marinova, E.M.; Pokorny, J. (2006). Natural antioxidants from herbs and spices. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108 (9), 776-93.

Yang, M. D.; Pariza, M. W.; Cook, M. E. (2000a). Dietary conjugated linoleic acid, protects against end stage disease of systemic lupus erythematosus in the NZB/W F1 mouse. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 22, 433-449.

Yang, L.; Leung, L. K.; Huang, Y.; Chen, Z. Y. (2000b). Oxidative stability of conjugated linoleic acid isomers. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48(8), 3072-3076.

Tai, C. Y.; Chen, Y. C.; Chen, B. H. (1999). Analysis, formation and inhibition of cholesterol oxidation products in food: an overview (Part I). *Journal of Food and Drug Analysis*, 7(4), 243-257.

Teissedre, P.; Waterhouse, A. (2000). Inhibition of oxidation of human low-density lipoproteins by phenolic substances in different essential oils varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 3801–3805.

Utrera, M.; Morcuende, D.; Estevez, M. (2014). Fat content has a significant impact on protein oxidation occurred during frozen storage of beef patties. *Food Science and Technology*, 56(1), 62-68.

V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia (2013). *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 101(4), suplemento 1, 1-18.

- Vicente, S. J. V., Sampaio, G. R., Ferrari, C. K. B., Torres, E. A. F. S. (2012). Oxidation of Cholesterol in Foods and Its Importance for Human Health. *Food Reviews International*, 28(1), 47–70.
- Vilela, N. J. (2004). Sistema de produção de pimentas (*Capsicum* spp.): coeficientes técnicos, custos, rendimentos e rentabilidade. EMBRAPA-hortaliças.
- Viuda-Martos, M.; Ruiz-Navajas, Y.; Fernández-López, J.; Pérez-Alvarez, J. A. (2010). Effect of adding citrus fibre washing water and rosemary essential oil on the quality characteristics of a bologna sausage. *LWT Food Science and Technology*, 43(6) 958–963.
- Volden, J.; Bjelanovic, M.; Vogt, G.; Slinde, E.; Skaugen, M.; Nordvi, B.; Egelanddal, B. (2011). Oxidation progress in an emulsion made from metamyoglobin and different triacylglycerols. *Food Chemistry*, 128(4), 854-863.
- Williams, C. M. (2000). Dietary fatty acids and human health. *Annales de Zootechnie*, 49(3), 165-180.
- Wood, J. D.; Richardson, R. I.; Nute, G. R.; Fisher, A. V.; Campo, M. M.; Kapasidou E.; Sheard, P. R.; Enser, M. (2004). Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Science*, 66, 21-32.
- Zardetto, S.; Barbanti, D.; Rosa, M. D. (2014). Formation of cholesterol oxidation products (COPs) and loss of cholesterol in fresh egg pasta as a function of thermal treatment processing. *Food Research International*, 62, 177-182.
- Zaritzky, N. (2012). Physical-chemical principles in freezing em Sun, D. W., Handbook of frozen food processing and packaging, 2<sup>a</sup>ed., CRC Press, 3-38.
- Zewdie, Y.; Bosland, P. W. (2001). Capsaicinoid profiles are not good chemotaxonomic indicators for *Capsicum* species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29, 161-169.

Ziauddin, K. S.; Mahendrakar, N. S.; Rao, D. N.; Ramesh, B. S.; Amla, B. L. (1994). Observations on some chemical and physical characteristics of buffalo meat. *Meat Science*, 37, 103-113.

Zhu, W. F.; Smart, E. J. (2005). Myristic acid stimulates endothelial nitric-oxide synthase in a CD36 and an AMP kinase-dependent manner. *Journal of Biological Chemistry*, 280, 29543-29550.