

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

**AVALIAÇÃO DO EFEITO PROTETOR DO COLORÍFICO  
COMO ANTIOXIDANTE NATURAL NA OXIDAÇÃO  
LIPÍDICA EM CARNE DE FRANGO**

**WELLINGTON DE FREITAS CASTRO**  
ENGENHEIRO DE ALIMENTOS

**Profa Dra NEURA BRAGAGNOLO**  
ORIENTADORA

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Campinas / SP

2008

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

C279a Castro, Wellington de Freitas  
Avaliação do efeito protetor colorífico como antioxidante natural na  
oxidação lipídica em carne de frango / Wellington de Freitas Castro. --  
Campinas, SP: [s.n.], 2008.

Orientador: Neura Bragagnolo  
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas.  
Faculdade de Engenharia de Alimentos

1. Antioxidante natural. 2. Carne de Frango. 3. Óxidos de  
colesterol. 4. Ácidos graxos. I. Bragagnolo, Neura. II.  
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de  
Alimentos. III. Título.

(cars/fea)

Titulo em inglês: Evaluation of the protector effect of colorifico as natural antioxidant in lipid  
oxidation in chicken meat

Palavras-chave em inglês (Keywords): Natural antioxidant, Chicken meat, Cholesterol oxides,  
Fatty acids

Titulação: Mestre em Ciência de Alimentos

Banca examinadora: Neura Bragagnolo

Florinda Orsatti Bobbio

Lireny Aparecida Guaraldo Gonçalves

Sueli Regina Baggio

Data de defesa: 18/03/2008

Programa de Pós Graduação: Programa em Ciência de Alimentos

*BANCA EXAMINADORA*

---

Profa. Dra. Neura Bragagnolo  
(Orientadora)

---

Profa. Dra. Florinda Orsatti Bobbio  
(Membro)

---

Profa. Dra. Lireny Aparecida Guaraldo Gonçalves  
(Membro)

---

Dra. Sueli Regina Baggio  
(Membro)

“Cada um que passa em nossa vida, passa sozinho, pois cada pessoa é única e nenhuma substitui outra.

Cada um que passa em nossa vida, passa sozinho, mas não vai só, nem nos deixa sós; leva um pouco de nós mesmos, deixa um pouco de si mesmo.

Há os que levam muito, mas há os que não levam nada; há os que deixam muito, mas há os que não deixam nada.

Esta é a maior responsabilidade de nossa vida e prova evidente de que duas almas não se encontram por acaso.”

*Antoine de Saint-Exupéry*

Dedico este trabalho

A minha família, em especial,  
aos meus amados pais Ilda e Antonio,  
a minha amada irmã Jucele e a  
minha querida noiva Marcília.

Agradeço a Deus, pelo dom da vida e por colocar pessoas maravilhosas em meu caminho.

Agradeço à minha família, em especial a minha mãe Ilda, que sempre me apoiou. Ao meu pai Antonio e a minha irmã Jucele, que acreditaram em mim.

A minha noiva Marcília, minha gratidão e admiração, só quem ama é capaz de compreender em todos os momentos, principalmente na ausência.

Aos meus primos: Reginaldo, Luciana, Conceição, Flávia, Luciano, Pedro, Vitor e Matheus que fazem a minha vida ser mais bonita.

Aos meus afilhados: Pedro, Vitor, Ana Clara, Esther, Ingrid e aos primos que também o são pelas inúmeras alegrias.

Agradeço a minha orientadora, Neura, que sempre me motivou e exigiu, confiando em minha capacidade. As minhas amigas de laboratório, Lílian, Gisela e Gislaine que ensinaram o caminho das pedras. As técnicas, Rosemar, Karla e Liliane, pela amizade, apoio e motivação. As amigas de turma Renata e Daniela, pelos momentos frutuosos de descontração e aprendizado.

As colegas, Adélia, Leila, Veridiana, Ana, Flávia, Natália e Michele pela convivência sadia e frutuosa.

Agradeço aos membros da banca que gentilmente contribuíram para o enriquecimento deste trabalho.

Aos funcionários do laboratório de óleos e gorduras, em especial à Katrina e Rosana, além a professora Lireny que contribuíram para a realização da análise de vitamina E.

Aos meus amigos, Felipe, César e Danielle, pela motivação e apoio.

As amigas Lígia e Luciana pelo acolhimento e compreensão.

Ao Diogo, pela motivação no caminho da fé desde a época da graduação.

Aos funcionários do DCA meus sinceros agradecimentos.

Agradeço ao CNPq pela concessão da bolsa e a FAPESP pelo apoio financeiro.

Aos demais amigos e familiares não citados, mas igualmente merecedores da minha gratidão.

## ÍNDICE

---

LISTA DE FIGURAS .....	ix
LISTA DE TABELAS .....	x
RESUMO .....	xiii
SUMMARY.....	xv
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	4
2.1 Aspectos gerais da carne de frango.....	4
2.2 Colesterol .....	6
2.3 Óxidos de colesterol .....	7
2.4 Efeitos biológicos dos óxidos de colesterol .....	10
2.5 Ácidos graxos em carne de frango .....	12
2.6 Oxidação de ácidos graxos .....	14
2.7 Antioxidantes em carne de frango.....	15
2.8 Propriedades antioxidantes dos carotenóides do urucum.....	17
2.9 Vitamina E, antioxidante natural.....	20
3. OBJETIVOS.....	22
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	23
4.1 Material.....	23
4.1.1 Preparo das amostras.....	23
4.1.2 Reagentes.....	24
4.2. Métodos.....	24
4.2.1 Análise objetiva de cor.....	24
4.2.2 Substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	25
4.2.3 Quantificação de bixina .....	26
4.2.4 Quantificação simultânea de colesterol e óxidos de colesterol .....	26
4.2.5 Teor de lipídeos totais e umidade .....	27
4.2.6 Determinação do perfil de ácidos graxos .....	28
4.2.7 Quantificação de vitamina E .....	29
4.2.8 Análise estatística dos dados .....	30
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	30

5.1 Substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	30
5.2 Quantificação de Vitamina E.....	35
5.3 Quantificação de bixina.....	38
5.4 Quantificação de lipídeos totais.....	40
5.5 Análise objetiva de cor.....	41
5.6 Quantificação simultânea de colesterol e óxidos de colesterol.....	50
5.7 Quantificação de ácidos graxos.....	61
6. CONCLUSÕES.....	68
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69

## LISTA DE FIGURAS

---

FIGURA 1: Estrutura do colesterol .....	6
FIGURA 2: Principais óxidos de colesterol encontrados em alimentos .....	8
FIGURA 3: Frutos do urucuzeiro ( <i>Bixa orellana</i> ) .....	17
FIGURA 4: Estruturas químicas da bixina e da norbixina.....	18
FIGURA 5: Estrutura química do tocoferol e tocotrienol.....	20
FIGURA 6: Resultados de TBARS ( $\mu\text{mol}$ de malonaldeído/kg de carne, base úmida) em peito de frango cru adicionado de colorífico (CC), peito de frango cru (CP), peito de frango grelhado adicionado de colorífico (GC) e peito de frango grelhado (GP) armazenados durante 120 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .....	33
FIGURA 7: Resultados de TBARS ( $\mu\text{mol}$ de malonaldeído/kg de carne, base seca) em peito de frango cru adicionado de colorífico (CC), peito de frango cru (CP), peito de frango grelhado adicionado de colorífico (GC) e peito de frango grelhado (GP) armazenados durante 120 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .....	34
FIGURA 8: Concentração de vitamina E em mg/100g de peito de frango, em base seca e base úmida.....	37
FIGURA 9: Resultados de bixina (mg/g), base seca (BS) e úmida (BU) obtidos em peito de frango cru adicionado de colorífico (CC), peito de frango cru (CP), peito de frango grelhado adicionado de colorífico (GC) e peito de frango grelhado (GP) armazenados durante 120 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .....	40
FIGURA 10: Parâmetros de cor ( $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ ) obtidos em peito de frango cru adicionado de colorífico (CC) armazenado durante 120 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .....	44
FIGURA 11: Parâmetros de cor ( $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ ) obtidos em peito de frango grelhado adicionado de colorífico (GC) armazenado durante 120 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .....	45
FIGURA 12: Parâmetros de cor ( $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ ) obtidos em peito de frango grelhado (GP) armazenado durante 120 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .....	48
FIGURA 13: Parâmetros de cor ( $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ ) obtidos em peito de frango cru (CP) armazenado durante 120 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .....	49

## LISTA DE TABELAS

---

TABELA 1: Composição centesimal (g/100g) e valor calórico (Kcal/100g) de carne de frango.....	5
TABELA 2: Resultados de TBARS ( $\mu\text{mol}$ de malonaldeído/kg de carne, base úmida) em peito de frango cru adicionado de colorífico (CC), peito de frango cru (CP), peito de frango grelhado adicionado de colorífico (GC) e peito de frango grelhado (GP) armazenados durante 120 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .....	31
TABELA 3: Valores de TBARS ( $\mu\text{mol}$ de malonaldeído/kg de carne, base seca) em peito de frango cru adicionado de colorífico (CC), peito de frango cru (CP), peito de frango grelhado adicionado de colorífico (GC) e peito de frango grelhado (GP) armazenados durante 120 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .....	31
TABELA 4: Concentração de vitamina E (mg/ 100g, base seca) em peito de frango, adicionado ou não de colorífico, cru ou grelhado armazenados durante 120 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .....	36
TABELA 5: Teores de bixina (mg/g) obtidos em obtidos em peito de frango cru adicionado de colorífico (CC) e peito de frango grelhado adicionado de colorífico (GC) armazenados durante 120 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .....	39
TABELA 6: Teores de lipídeos totais (g/100g) em peito de frango, adicionado ou não de colorífico, cru ou grelhado, armazenados durante 120 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .....	41
TABELA 7: Intensidade de luminosidade ( $L^*$ ) para os tratamentos durante 120 dias de armazenamento a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .....	43
TABELA 8: Intensidade de vermelho ( $a^*$ ) para os tratamentos durante 120 dias de armazenamento a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .....	46
TABELA 9: Intensidade de amarelo ( $b^*$ ) para os tratamentos durante 120 dias de armazenamento a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .....	47
TABELA 10: Teores de colesterol (mg/100g de carne, base seca) em peito de frango, cru ou grelhado, adicionado ou não de colorífico, armazenados a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 120 dias .....	51
TABELA 11: Teores de colesterol (mg/100g de carne, base úmida) em peito de frango, cru ou grelhado, adicionado ou não de colorífico, armazenados a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 120 dias.....	52

TABELA 12: Teores de 25-OH ( $\mu\text{g/g}$ de carne, base seca) em peito de frango cru ou grelhado, adicionado ou não de colorífico, armazenados a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 120 dias.....	53
TABELA 13: Teores de 7-ceto ( $\mu\text{g/g}$ de carne, base seca) em peito de frango cru ou grelhado, adicionado ou não de colorífico, armazenados a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 120 dias.....	54
TABELA 14: Teores de $7\alpha$ -OH ( $\mu\text{g/g}$ de carne, base seca) em peito de frango cru ou grelhado, adicionado ou não de colorífico, armazenados a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 120 dias.....	55
TABELA 15: Teores de $7\beta$ -OH ( $\mu\text{g/g}$ de carne, base seca) em peito de frango cru ou grelhado, adicionado ou não de colorífico, armazenados a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 120 dias.....	56
TABELA 16: Teores de $\alpha$ -epóxi ( $\mu\text{g/g}$ de carne, base seca) em peito de frango cru ou grelhado, adicionado ou não de colorífico, armazenados a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 120 dias. ....	57
TABELA 17: Teores de $\beta$ -epóxi ( $\mu\text{g/g}$ de carne, base seca) em peito de frango cru ou grelhado, adicionado ou não de colorífico, armazenados a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 120 dias.....	58
TABELA 18: Teores totais médios de óxidos ( $\mu\text{g/g}$ de carne, base seca) em peito de frango cru ou grelhado, adicionado ou não de colorífico, armazenados a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 120 dias.....	59
TABELA 19: Concentração de ácidos graxos saturados ( $\text{mg}/100\text{g}$ , base seca) em peito de frango adicionado ou não de colorífico nos tempos inicial (i) e final (f), após 60 dias.....	64
TABELA 20: Concentração de ácidos graxos monoinsaturados ( $\text{mg}/100\text{g}$ , base seca) em peito de frango adicionado ou não de colorífico nos tempos inicial (i) e final (f), após 60 dias.....	65
TABELA 21: Concentração de ácidos graxos <i>trans</i> ( $\text{mg}/100\text{g}$ , base seca) em peito de frango adicionado ou não de colorífico nos tempos inicial (i) e final (f), após 60 dias.....	65

TABELA 22: Concentração de ácidos graxos poliinsaturados (mg/100g, base seca) em peito de frango adicionado ou não de colorífico nos tempos inicial (i) e final (f), após 60 dias.....66

TABELA 23: Concentração média (mg/100g, base seca) de ácidos graxos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados e ácidos graxos *trans* em peito de frango adicionado ou não de colorífico, analisados crus e grelhados.....67

## RESUMO

---

O presente trabalho avaliou o efeito protetor do colorífico no controle da oxidação lipídica em carne de frango. Amostras de hambúrguer foram formuladas com peito de frango (*Pectoralis major*), com ou sem a adição de 0,4% de colorífico. Metade das amostras foi grelhada a 165 °C até que a temperatura interna atingisse 70 °C. Tanto as amostras grelhadas quanto as cruas foram embaladas em filme de polietileno de alta densidade, congeladas e armazenadas a -18 °C durante 120 dias. Os valores das substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico (TBARS), umidade, colesterol e óxidos de colesterol, bem como os parâmetros de cor foram avaliados durante os 120 dias de armazenamento. As avaliações de lipídeos totais, quantificação de ácidos graxos e de vitamina E foram realizadas no tempo zero e após 120 dias. A quantificação de bixina foi realizada nos dias 12, 15, 20, 29, 60, 90 e 120 do armazenamento a -18 °C. As amostras cruas, adicionadas ou não de colorífico, apresentaram baixas concentrações de TBARS em todos os tempos com teores variando de 1,2 a 3,1 µmol de MA/kg de carne (base seca), atingindo um valor máximo no 29º dia, sendo significativamente menores que nas amostras grelhadas ao longo dos 120 dias. A adição de colorífico exerceu a função de antioxidante nas amostras de carne grelhada uma vez que os valores de TBARS foram sempre menores nas amostras adicionadas de colorífico do que nas amostras sem adição de colorífico. Os teores de vitamina E foram semelhantes na carne de frango crua, adicionada ou não de colorífico, tanto no tempo zero quanto após 120 dias. No entanto, no tempo zero a concentração de vitamina E foi significativamente maior na amostra grelhada adicionada de colorífico do que nas demais amostras, sugerindo o que o colorífico

preservou a vitamina E no tratamento térmico, mas não durante a estocagem das amostras grelhadas. A concentração de lipídeos totais não apresentou diferença significativa ( $P>0,05$ ) entre as amostras. Foram identificados e quantificados os seguintes óxidos de colesterol: 25-hidroxicolesterol, 7-cetocolesterol,  $\alpha$ -epóxicolesterol,  $\beta$ -epóxicolesterol,  $7\alpha$ -hidroxicolesterol, e  $7\beta$ -hidroxicolesterol os quais aumentaram com o tempo de estocagem e com o tratamento térmico adotado. Os ácidos graxos predominantes foram C14:0, C16:0, C18:0, C16:1n7, C18:1n9, C18:2n6, C18:3n3 e C20:3n6. As amostras cruas adicionadas de colorífico apresentaram maiores valores de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados durante o armazenamento do que as amostras sem adição de colorífico. Os dados experimentais mostraram que a adição de colorífico exerceu efeito protetor no controle da oxidação lipídica em carne de frango grelhada durante a estocagem de 120 dias a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

## SUMMARY

---

The present work evaluated the effects of “colorífico”, a mixture of corn flour and annatto (*Bixa orellana*) powder, addition on lipid oxidation in chicken meat. The chicken patties were formulated using breast muscle (*Pectoralis major*), added 0.4% of “colorífico” and without addition of “colorífico”. Half of the samples was grilled at 165 °C, until the internal temperature reached 70 °C. Both, grilled and raw samples, were packed in high density polyethylene bags, frozen and stored at -18 °C during 120 days. The tiobarbituric acid reactive substances (TBARS), dry matter content, cholesterol, and cholesterol oxides, as well as the color parameters were evaluated during the 120 days storage. The total lipids determination, the fatty acids profiles and vitamin E contents were performed at day 0 and 120 days of storage. Bixin quantification was carried out on days 12, 15, 20, 29, 60, 90, and 120 of storage at -18 °C. The raw samples presented low concentrations of TBARS despite the addition of “colorífico” varying from 1.2 to 3.1 µmol MA/kg meat (dry basis), and reaching a maximum at day 29, being significantly lower than in grilled meat during the entire period of storage. The “colorífico” acted as an antioxidant in grilled meat, since TBARS values were always lower in those samples containing “colorífico” than in the ones not containing. The vitamin E contents were similar in raw chicken added “colorífico” or not, both at time 0 and after 120 days. However, in the grilled meat added “colorífico”, the vitamin E content was higher in day 0 than in all the other samples, suggesting that “colorífico” preserved the vitamin E during thermal treatment, but not during the frozen storage of grilled samples. The total lipids content did not show any significant difference ( $P>0,05$ ) among the samples. The cholesterol oxides 25-hydroxycholesterol, 7-ketocholesterol,  $\alpha$ -

epoxycholesterol,  $\beta$ -epoxycholesterol,  $7\alpha$ -hydroxycholesterol, and  $7\beta$ -hydroxycholesterol were identified and quantified. After thermal treatment and during the storage period there was an increase in all the cholesterol oxides content. The mainly fatty acids found in the chicken samples were C14:0, C16:0, C18:0, C16:1n7, C18:1n9, C18:2n6, C18:3n3, and C20:3n6. The raw meat with “colorífico” presented the highest contents of monounsaturated and polyunsaturated fatty acids during the storage. The experimental data showed that the addition of “colorífico” was efficient in controlling lipid oxidation in grilled meat during 120 days of storage at  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

## 1. INTRODUÇÃO

O papel chave dos produtos alimentícios de origem animal na dieta da maioria das civilizações reside na importância destes alimentos como fontes de proteína de alta qualidade, de minerais e de vitaminas (FALANDYSZ, 1991; STEVENSON; PEARCE; JACKSON, 1983; VOS; LAMMERS; KAN, 1990). A carne de frango é uma das mais consumidas pela população brasileira, sem considerar os produtos avícolas processados. A carne de frango possui menor proporção de ácidos graxos saturados e maior proporção de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) quando comparada à carne bovina. Em adição, os ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 de cadeia longa, eicosapentaenóico e docosahexaenóico, foram observados na carne escura de frango por Almeida et al. (2006). Por outro lado, todas as carnes apresentam colesterol na sua composição.

O colesterol é a matéria-prima para a síntese de hormônios, sais biliares e vitamina D<sub>3</sub> sendo também o constituinte essencial das membranas celulares. Além disso, é necessário para o crescimento e viabilidade das células (MADRUGA, 2004). A estrutura do colesterol possui uma insaturação no carbono 5, tornando-o facilmente oxidável, principalmente o carbono 7, que é o carbono alfa-alílico à dupla ligação, produzindo produtos denominados de óxidos de colesterol.

Estudos sobre a oxidação do colesterol em alimentos têm sido motivados principalmente pelas ações biológicas dos óxidos formados, interferindo na morfologia e função da membrana celular, inibindo a biossíntese do próprio colesterol e possivelmente sendo aterogênicos (BROWN; JESSUP, 1999; PENG; HU; MORIN, 1991), citotóxicos (OHTANI et al., 1996; 1997; SEVANI; PETERSON, 1986; SMITH; JOHNSON, 1989), mutagênicos e carcinogênicos (GUARDIOLA et al., 1996; SEVANI; PETERSON, 1986). Muitos óxidos de colesterol foram identificados (TAI; CHEN; CHEN, 1999), mas somente oito deles são os mais freqüentemente encontrados em alimentos: 7-cetocolesterol (7-ceto), 20 $\alpha$ -hidroxicolesterol (20-OH), 25-hidroxicolesterol (25-OH), 7 $\alpha$ -hidroxicolesterol

(7 $\alpha$ -OH), 7 $\beta$ -hidroxicolesterol (7 $\beta$ -OH), colesterol-5,6 $\alpha$ -epóxido ( $\alpha$ -epoxi), colesterol-5,6 $\beta$ -epóxido ( $\beta$ -epoxi) e colestanoetriol (triol) (ADDIS et al., 1996; LERCKER; RODRIGUEZ-ESTRADA, 2000; PIE; SPAHIS; SEILLAN, 1990; TAI; CHEN; CHEN, 1999). O 7-ceto tem sido proposto como indicador da oxidação do colesterol, por ser o de maior ocorrência em muitos alimentos.

Com o crescimento da demanda por pratos prontos e congelados em virtude das mudanças dos hábitos alimentares do homem moderno, tem ocorrido a busca por alimentos nutritivos, fáceis de serem preparados e de conservação prolongada. A temperatura e o tempo necessários para produção de alimentos processados, além das condições de transporte e armazenamento, são alguns dos fatores que podem contribuir para a ocorrência de alterações químicas, muitas delas relacionadas à oxidação lipídica, causando não apenas perdas nutricionais, mas também gerando produtos, que podem levar à formação de vários compostos indesejáveis, e até mesmo potencialmente prejudiciais à saúde humana (CUVELIER et al., 1994).

O uso de antioxidantes sintéticos para prolongar a vida de prateleira de carnes e de produtos cárneos é comum nas indústrias de alimentos. No entanto, com a tendência pela procura cada vez maior de produtos naturais pelos consumidores, torna-se necessário o estudo do uso de condimentos e ervas aromáticas como antioxidantes naturais, em substituição aos convencionais BHA e BHT amplamente utilizados.

O colorau ou colorífico é um corante vermelho, obtido de fontes naturais e usado nos alimentos para realçar as suas cores. Na Europa este condimento é produzido a partir de pimentão seco moído, enquanto no Brasil é usado o arilo que envolve as sementes do urucum. Este corante é muito usado para colorir manteiga, queijos e produtos alimentícios na região Norte-Nordeste do Brasil. Na literatura não foi encontrado nenhum trabalho sobre a ação do colorífico como antioxidante natural em carne de frango durante o preparo térmico e posterior armazenamento e, além disso, existem poucos relatos sobre o uso de urucum e seus extratos com a função de antioxidantes em alimentos, sendo que os estudos

geralmente estão relacionados às formas de extração do urucum como corante natural.

Desta forma, sendo o colesterol e os ácidos graxos insaturados os componentes predominantes na fase lipídica em carne de frango e considerando que estes compostos são instáveis, principalmente na presença de luz, calor, oxigênio, umidade e irradiação fluorescente, torna-se necessário avaliar a possibilidade da adição de colorífico para minimizar a formação de óxidos de colesterol e a alteração da composição de ácidos graxos durante o preparo térmico e as condições de estocagem.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Aspectos gerais da carne de frango**

Pearson et al. (1983) descreveram os atributos de qualidade da carne como valor nutritivo, mastigabilidade, textura, cor e integridade do tecido. Para Vieira e Moran (1998), a qualidade da carne ou de qualquer produto animal é um conceito bastante complexo que varia de acordo com as características próprias de cada consumidor. Estas vão desde a composição nutricional, sanidade, características físicas, apresentação, embalagem, facilidade de uso, etc. Enfim, a qualidade é uma medida das características desejadas e valorizadas pelo consumidor.

O frango de corte atualmente é um animal selecionado para rápido crescimento e, portanto, consome grandes quantidades de ração. Como conseqüência, é um animal que deposita gordura na carcaça muito rapidamente e em grandes quantidades. Entretanto, existem diferenças no teor de gordura total entre diferentes linhagens. Por exemplo, Vieira e Moran (1998) observaram diferenças de até 20% na quantidade de gordura abdominal entre diferentes linhagens comerciais, o que certamente influencia numa maior ou menor ocorrência do processo oxidativo. Além disso, a composição da gordura dos frangos reflete a composição da fonte de gordura utilizada na sua alimentação (HULAN, 1984; DOLZ, 1996), sendo que o tecido adiposo responde de forma marcante e mais rapidamente que o tecido inter ou intramuscular (MATEOS, 1999).

Na Tabela 1 pode-se observar a composição centesimal e o valor calórico da carne de frango (TORRES et al., 2000) onde se nota que o depósito de gordura é muito maior na coxa do que no peito.

TABELA 1: Composição centesimal (g/100g) e valor calórico (Kcal/100g) de carne de frango.

<b>Carne de frango</b>	<b>Umidade</b>	<b>Cinza</b>	<b>Lipídeos</b>	<b>Proteínas</b>	<b>Valor calórico</b>
<b>Peito</b>	73,81	1,10	1,84	20,80	100
<b>Coxa</b>	70,51	0,78	9,32	18,09	156

\* Fator de conversão do nitrogênio em proteína - 6,25.

Um fator importante na qualidade da carne de aves é o aspecto da cor da carne processada ou crua, que tem sua importância devido à associação que os consumidores fazem com o frescor do produto, e decidem-se pela compra ou não do produto baseado em sua opinião e na atratividade.

Na carne crua do peito de frango espera-se uma coloração pálida, enquanto na coxa, uma coloração vermelha escuro. Essa variação deve-se principalmente à atividade do músculo, ou seja, quanto maior a atividade muscular, maior a pigmentação. Os pigmentos específicos da carne capazes de transportar oxigênio possibilitam a via metabólica para obtenção de energia que é requerida em maior quantidade de energia nos músculos com maior atividade. A perda de cor da carne pode ser relacionada à quantidade destes pigmentos presentes, ao estado químico dos pigmentos, ou à iluminação do ambiente (NORTHCUTT, 1997).

A cor da carne de aves domésticas pode ser afetada também por outros fatores tais como a idade da ave, sexo, tensão, dieta, gordura intramuscular, teor de umidade da carne, circunstâncias pré-abate, variáveis no processamento e dieta ministrada às aves. Pérez-Vendrell et al. (2001), ao suplementar a ração para frangos de corte com dietas à base de milho e de sorgo com xantofila, verificaram que as aves que receberam milho apresentaram melhor coloração que aquelas que receberam sorgo com xantofila. Pereira, Ariki e Kishibe (2001) avaliaram a deposição de pigmentos na carcaça de frangos de corte alimentados com dieta à base de sorgo e bixina (extrato de urucum) e observaram efeito pigmentante sobre a carcaça à medida que aumentaram o nível de bixina. Porém, o nível máximo do pigmentante (0,20%) utilizado na pesquisa não foi suficiente para alcançar a coloração desejada na carcaça das aves. De acordo com Ibarra,

Neucere e Sumrell (1991) a pigmentação dos tecidos depende da capacidade de absorção dos carotenóides.

## 2.2 Colesterol

O colesterol é uma substância do tipo lipídio-esteróide, presente principalmente nas gorduras animais, e que apresenta inúmeras funções no organismo, sendo a matéria-prima para a síntese de hormônios, sais biliares e vitamina D<sub>3</sub>. Além disso, é também o constituinte essencial das membranas celulares e é necessário para o crescimento e viabilidade das células.

Segundo Miles (1989), a maior parte do colesterol do organismo, aproximadamente 75%, origina-se da biossíntese (colesterol endógeno) e apenas 25% é fornecido pela dieta (colesterol exógeno).

A molécula do colesterol possui uma hidroxila livre no carbono 3 (FIGURA 1), o que confere à molécula uma característica razoavelmente polar. Porém, excluindo-se a região da hidroxila, todo o resto da molécula é altamente hidrofóbico. Geralmente, no organismo humano, a hidroxila está esterificada com um ácido graxo, em geral o ácido palmítico (C16:0) (NELSON; COX, 2002). Os ésteres de colesterol se encontram nas células, constituindo a região das caudas dos triacilglicerídeos da membrana citoplasmática o que confere fluidez à membrana.

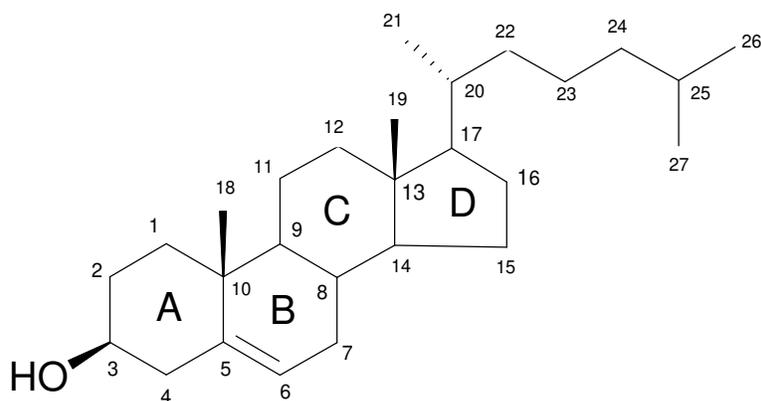


FIGURA 1 – Estrutura do colesterol

O colesterol presente em alimentos de origem animal, sendo um esteroide monoinsaturado (FIGURA 1), pode ser oxidado durante o processamento térmico e estocagem, com formação de uma série de produtos de oxidação chamados óxidos de colesterol, os quais apresentam efeitos biológicos negativos (LERCKER; RODRIGUEZ-ESTRADA, 2000).

### 2.3 Óxidos de colesterol

A oxidação do colesterol pode ocorrer pela autooxidação, envolvendo o oxigênio triplete, por vias enzimáticas ou pela fotooxidação. A maioria dos óxidos de colesterol origina-se principalmente da dieta, enquanto alguns são gerados pela oxidação não-enzimática *in vivo* e outros são produzidos exclusivamente pela vias enzimáticas (BROWN; JESSUP, 1999).

Em 1995, Breuer e Björkhem comprovaram a formação de  $7\alpha$ -OH,  $7\beta$ -OH, 7-ceto, 25-OH e 24-hidroxicolesterol (24-OH) *in vivo*, ao exporem ratos a diferentes taxas de oxigênio. Entretanto, não observaram a formação  $\alpha$ - e  $\beta$ -epóxi ou triol, sugerindo que estes compostos são exclusivamente provenientes da dieta e formados durante o processamento dos alimentos. No entanto, a evidência de formação de alguns óxidos de colesterol *in vivo* não distingue a origem entre enzimática e não-enzimática. O  $7\alpha$ -OH, produto da enzima hepática CYP7A1, mas é formado também pela oxidação não-enzimática do colesterol.

De acordo com Smith (1987), a oxidação do colesterol ocorre similarmente à oxidação lipídica, com a abstração de um hidrogênio no C7 e adição de uma molécula de oxigênio, levando a formação do  $7\beta$  ou  $7\alpha$ -hidroperóxido (FIGURA 2). Durante o aquecimento e a estocagem, ocorre a redução dos 7-hidroperóxidos aos seus álcoois correspondentes,  $7\beta$ -OH ou  $7\alpha$ -OH. Entretanto, o 7-hidroperóxido intermediário pode sofrer processo de desidratação, originando o 7-ceto que também pode ser pela ação da enzima  $7\alpha$ -OH dehidrogenase (SONG et al., 1996) ou pela oxidação não-enzimática envolvendo oxigênio singlete. Dentre os óxidos de colesterol formados nos alimentos, o 7-ceto é o de maior predominância, sendo

considerado um indicador da oxidação lipídica (KORAHANI; BASCOUL; PAULET, 1982; BROW; JESSUP,1999).

O mecanismo de formação do triol e dos  $\alpha$ - e  $\beta$ -epoxi é mais complexo (FIGURA 2); estes compostos são formados pela reação do colesterol com o oxigênio tripleto ( $^3\text{O}_2$ ) e, principalmente, com diferentes espécies ativas de oxigênio, tais como o peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), radicais hidroxilas ( $\text{OH}\bullet$ ), peroxilas ( $\text{ROO}\bullet$ ), alcóxilas ( $\text{RO}\bullet$ ) e ozônio ( $\text{O}_3$ ) (GUMULKA; PYREK; SMITH, 1982).

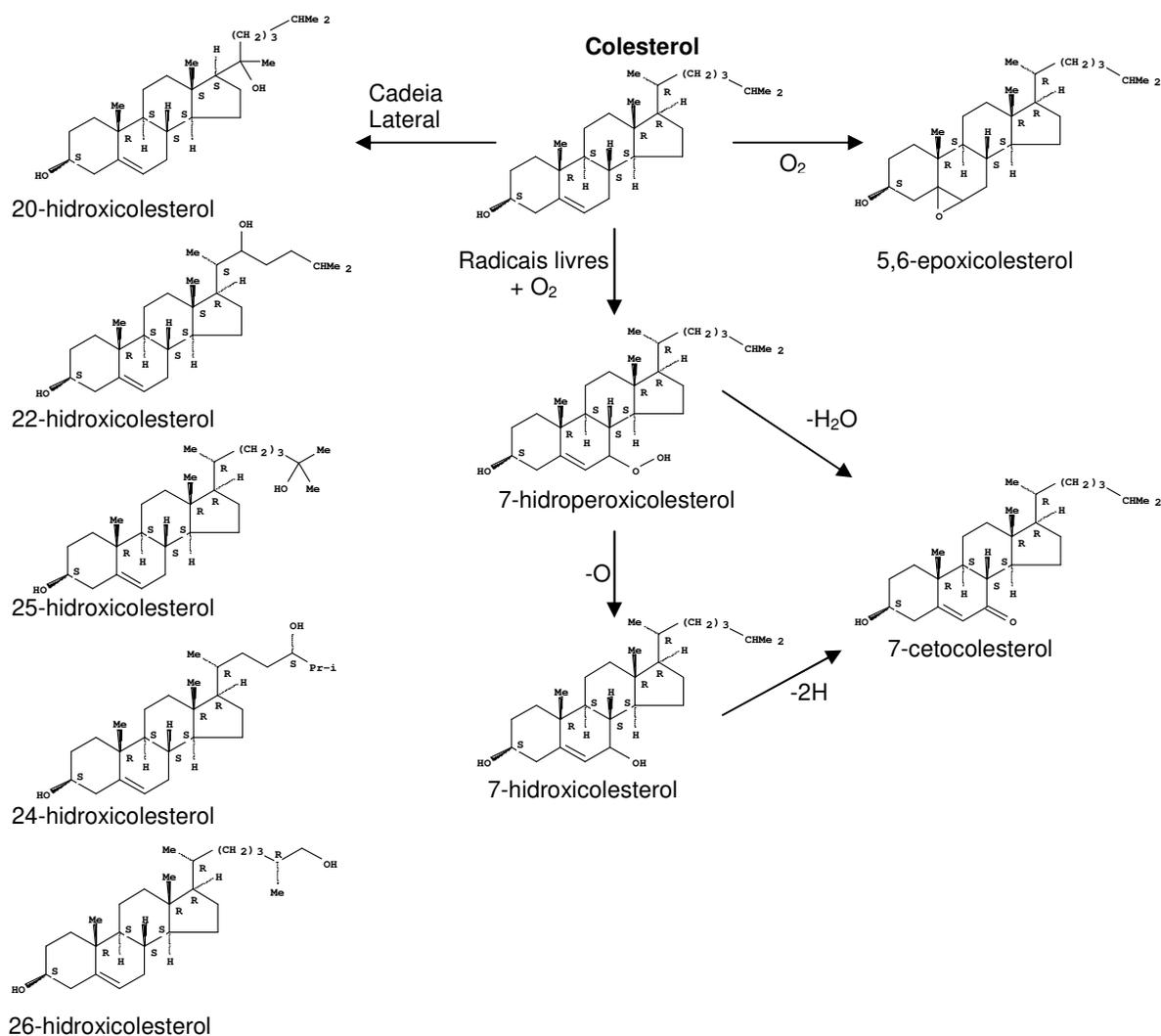


FIGURA 2 – Principais óxidos de colesterol encontrados em alimentos

Os carbonos 20 e 25 da cadeia lateral são carbonos terciários e, por isso, estão mais suscetíveis ao ataque oxidativo do que os demais carbonos da cadeia lateral (SMITH, 1987). Entretanto, outros hidroperóxidos originados a partir da cadeia lateral como 22 $\alpha$ - e 22 $\beta$ -, 24 $\alpha$ - e 24 $\beta$ -, 26- e 26 $\beta$ - hidroperóxidos são produzidos quando o colesterol é fortemente oxidado pelo oxigênio. Além disso, os produtos da oxidação da cadeia lateral tais como 20 $\alpha$ -OH, 22-OH, 24-OH, 25-OH, e 27-OH podem ser formados também por mecanismos enzimáticos. Estes hidroperóxidos podem sofrer quebra das ligações  $\beta$  carbono-carbono da cadeia lateral, decompondo-se e produzindo substâncias voláteis como acetona, ácido acético e esteróis.

Muitos óxidos de colesterol têm sido identificados, mas somente oito deles são os mais freqüentemente encontrados em alimentos: 7-ceto, 20 $\alpha$ -OH, 25-OH, 7 $\alpha$ -OH, 7 $\beta$ -OH,  $\alpha$ -epoxi,  $\beta$ -epoxi e triol (FINOCCHIARO; RICHARDSON, 1983). Resultados de diversas pesquisas apontam o 25-OH e triol como sendo os óxidos de maior efeito negativo nas ações biológicas (PANIANGVAIT et al., 1995).

A intensidade da oxidação do colesterol depende de vários fatores: do teor de colesterol presente, do tipo de ácidos graxos presentes na fração lipídica, do processamento aplicado (aquecimento, desidratação, ou irradiação), e das condições de estocagem. Em 2002, Savage, Dutra e Rogriguez-Estrada numa revisão acerca dos óxidos de colesterol, ressaltaram alguns pontos que podem contribuir para reduzir a oxidação do colesterol tais como: alimentar os animais com dietas contendo antioxidantes, adicionar antioxidantes aos alimentos, processar os alimentos a baixas temperaturas, embalar os alimentos a vácuo e estocar os alimentos no escuro.

Em estudo realizado por Galvin, Morrissey e Buckley (1998) em carne de frango processada, o teor de óxidos de colesterol aumentou durante o armazenamento refrigerado, sendo sua concentração maior na coxa do que no peito, bem como o teor de colesterol. Mariutti et al. (2008) também encontraram menores níveis de óxidos de colesterol em peito de frango do que na coxa de frango, ambos submetidos a diferentes tratamentos térmicos. Além disso, identificaram e quantificaram pela primeira vez os óxidos 22R-OH, 24S-OH, 22S-

OH e 26-OH em carne de frango. Por outro lado, Baggio e Bragagnolo (2006 b,c) não verificaram a formação de óxidos de colesterol em produtos de frango processados submetidos a tratamento térmico ou durante a estocagem e concluíram que a presença do antioxidante eritorbato de sódio em todos os produtos evitou a oxidação do colesterol.

## **2.4 Efeitos biológicos dos óxidos de colesterol**

Estudos sobre a oxidação do colesterol em alimentos têm sido motivados principalmente pelas características biológicas dos óxidos formados, interferindo na morfologia e função da membrana celular, inibindo a biossíntese do próprio colesterol e sendo aterogênicos (BROWN; JESSUP, 1999; PENG; HU; MORIN, 1991), citotóxicos (OSADA, 2002; OHTANI et al., 1996; 1997; SEVANIAN; PETERSON, 1986; SMITH; JOHNSON, 1989), mutagênicos e carcinogênicos (GUARDIOLA et al., 1996; SEVANIAN; PETERSON, 1986).

Vários óxidos de colesterol têm sido detectados em quantidades apreciáveis em tecidos e fluidos humanos, incluindo o plasma humano, lipoproteínas e placas ateroscleróticas (BROWN; JESSUP, 1999).

Diversos autores têm examinado a relação entre os níveis de óxidos de colesterol no plasma e fatores de risco para doenças cardíacas. Óxidos de colesterol foram encontrados na lipoproteína de baixa densidade (LDL-colesterol) tornando-a LDL-colesterol oxidada que exerce um potencial efeito aterogênico e está associada ao acréscimo do risco de doenças coronarianas (BERLINER; HEINECKE, 1996; SEVANIAN; PETERSON, 1986). O 27-OH foi encontrado na maior parte da LDL e da lipoproteína de alta densidade (HDL) (BROOKS, 1935). Vários óxidos tais como 26-OH, 7-ceto, 7 $\alpha$ - e 7 $\beta$ -OH, 25-OH, 4 $\alpha$ - e 4 $\beta$ -OH foram encontrados nas lesões das artérias (CARPENTER et al., 1995) e 26-OH, 7-ceto, 7 $\alpha$ - e 7 $\beta$ -OH e  $\beta$ -epoxi foram determinados em abundância na LDL oxidada (PATEL et al., 1997; CRISBY et al., 1997). O 26-OH foi encontrado como o óxido

predominante nas placas ateroscleróticas sendo que o aumento de sua concentração elevou a severidade das lesões (GARCIA-CRUISET et al., 2001).

A citotoxicidade dos óxidos de colesterol estimula o mecanismo de morte celular denominado de apoptose (BEST et al., 1998) e a aterogênese. Pesquisas recentes evidenciaram que o óxido 7-ceto induz a apoptose na via mitocôndrial e em conjunto com o 7 $\beta$ -OH são hábeis na indução da apoptose nas células endoteliais, células da musculatura lisa e ocasionam a necrose de fibroblastos (LIZARD et al., 1999; YAO; TABAS, 2000). Ares et al. (2000) relataram que os óxidos produzidos pela oxidação da cadeia lateral do colesterol como o 25-OH e 26-OH são mais potentes na indução da apoptose do que os 7 $\beta$ -OH e epóxidos. A morte de células endoteliais causada por óxidos de colesterol tem sido observada *in vivo* (PENG et al., 1985) e *in vitro* (RAMASAMY; BOISSONNEULAT; HENNING, 1992) e a morte de macrófagos mediada pelos óxidos de colesterol tem sido sugerida como contribuinte na formação de necrose lipídica nuclear (BALL et al., 1995).

Outros efeitos biológicos como a inibição da síntese endógena de colesterol através da atividade da enzima 3-hidroxi-3-metil-glutaril Coenzima A (HMG-CoA redutase), o desenvolvimento de doenças degenerativas como o mal de Alzheimer, catarata e o câncer estão relacionados com a presença dos óxidos de colesterol. De acordo com Zhang, Dricu e Sjoval (1997), o 25-OH e o triol abaixaram a atividade da HMG-CoA redutase em fibroblastos. O óxido 24S-OH foi negativamente associado com as injúrias causadas nas células neurais e ao agravamento da demência na enfermidade neurodegenerativa de Alzheimer (KOLSCH et al., 1999; LUTJOHANN et al., 2000). Vários óxidos (7 $\beta$ -OH,  $\alpha$ -epoxi, 20 $\alpha$ -OH, 25-OH e 7-ceto) foram encontrados em catarata humana e relacionados com a degradação da membrana lipídica (GIRAO et al., 1998). Yamasaki et al. (1999) encontraram produtos de fotooxidação, por irradiação ultravioleta, do colesterol em câncer de pele.

## 2.5 Ácidos graxos em carne de frango

A determinação da composição em ácidos graxos de um alimento tem valor significativo, uma vez que os ácidos graxos podem ser divididos em classes de acordo com a função que exercem em nosso organismo. Os ácidos graxos essenciais são aqueles que necessitam serem ingeridos a partir da alimentação. Dentre eles estão o ácido linoléico e o ácido linolênico, os quais são necessários para a síntese de outros ácidos graxos, através de reações de alongação e dessaturação (NELSON; COX, 2002).

Em adição, novos estudos epidemiológicos têm indicado que o tipo de gordura proveniente da alimentação é um fator importante em relação à saúde humana e tem sido verificado que a substituição de gordura saturada por insaturada é mais eficiente na diminuição do risco de doenças cardíacas do que apenas a redução na ingestão de gordura (HU; MANSON; WILLET, 2001). Além disso, tem sido observado que os diferentes ácidos graxos saturados influenciam diretamente nos níveis de colesterol sanguíneo e conseqüentemente nas doenças cardíacas.

Neste sentido a qualidade e o tipo de ácidos graxos adicionados à dieta dos frangos afetam a quantidade e a composição da gordura corporal. Isso faz pensar que a alimentação das aves deveria basear-se exclusivamente na utilização de ácidos graxos insaturados, devido às suas notáveis propriedades biológicas. No entanto, é muito importante que haja uma relação entre ácidos graxos saturados e insaturados, visto que os insaturados são menos estáveis aos processos de oxidação, limitando a capacidade de conservação da carne de frango (BERTUZZI, 1998). Segundo Martins et al. (2003), dietas formuladas com óleo de soja degomado ou refinado aumentaram os teores de ácido linoléico na gordura da carcaça de frangos de corte, tornando-a mais insaturada.

A carne de frango é consumida na forma cozida e o processo de cozimento pode afetar os ácidos graxos, alterando o valor nutricional. Além disso, a presença de ácidos graxos mais insaturados, potencializa a intensidade da oxidação do colesterol (ECHARTE; ANSOARENA; ASTIASARÁN, 2003).

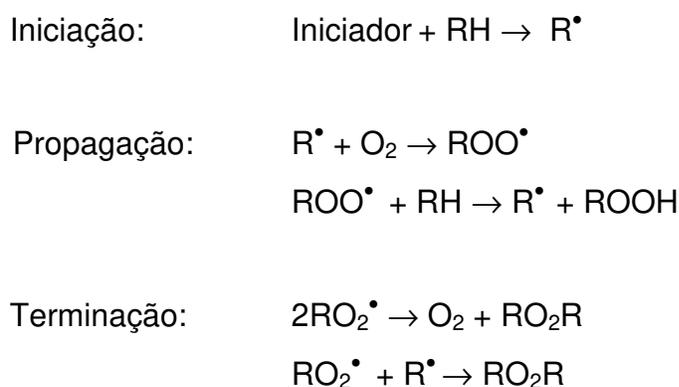
Por outro lado, os ácidos graxos poliinsaturados, seriam responsáveis por exercer um efeito protetor sobre o colesterol frente à oxidação, devido ao fato de se oxidarem preferencialmente (PARK; ADDIS, 1987; MARASCHIELLO; ESTEVE; GARCIA-REGUEIRO, 1998). No entanto, Galvin, Morrissey e Buckley (1998) observaram maiores teores de óxidos de colesterol em coxas de frango do que em peito, atribuindo este fenômeno ao maior teor de lipídios, colesterol, fosfolipídios e ferro presentes na coxa, que promoveriam uma maior taxa de formação de radicais livres, levando à oxidação do colesterol.

Nogueira, Mariutti e Bragagnolo (2007b) verificaram que o método de cozimento que menos altera o perfil de ácidos graxos do peito de frango é a cocção em água fervente. Quando as amostras foram cozidas em forno, tanto convencional como elétrico, apresentaram aumento no teor de lipídios, afetando diretamente os teores de ácidos graxos, principalmente saturados e monoinsaturados. Observaram também que o peito frito apresentou o maior teor de lipídios totais devido à absorção do óleo de fritura e conseqüente aumento de ácidos graxos diinsaturados. Em outro trabalho (NOGUEIRA; MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2007a) observaram que os teores de ácidos graxos poliinsaturados apresentaram variações em relação aos processamentos térmicos seja pela migração de parte do lipídio da pele ou absorção do óleo de fritura.

Embora a composição de ácidos graxos não seja o parâmetro mais importante para verificar a oxidação lipídica, alterações nos ácidos graxos podem ocorrer devido à oxidação principalmente do ácido graxo linoléico e araquidônico que irão sofrer clivagem dando origem ao hexanal e ao pentano (FENAILLE et al., 2003, GOODRIDGE et al., 2003). Desta forma, OSADA et al. (2000) verificaram a diminuição do ácido linoléico durante estocagem com concomitante aumento de óxidos de colesterol em lingüiça suína. Por outro lado, observaram inibição da oxidação do ácido linoléico quando os produtos cárneos foram adicionados de polifenóis extraídos de maçã. No entanto, o período de armazenamento e o tratamento térmico não alteraram a composição de ácidos graxos de produtos processados de carne de frango (BAGGIO; BRAGAGNOLO, 2006 a,b).

## 2.6 Oxidação de ácidos graxos

Os dois grandes componentes envolvidos na oxidação lipídica são os ácidos graxos insaturados e o oxigênio (ERICKSON, 2002). No processo de oxidação, o oxigênio presente na atmosfera é adicionado aos ácidos graxos criando intermediários instáveis que eventualmente sofrem clivagem e irão formar aromas indesejáveis. Embora a oxidação enzimática, através das enzimas peroxidase, lipoxigenases, cicloxigenases e enzimas do microsomo possa ocorrer, o mais comum e importante processo pelo qual ácidos graxos insaturados e oxigênio interagem é através do mecanismo de radical livre, caracterizado por 3 fases principais:



A etapa da iniciação ocorre com a abstração do hidrogênio dos ácidos graxos insaturados (RH) por um iniciador, como o calor, resultando em um lipídio radical livre ( $\text{R}^\bullet$ ). Na etapa de propagação, os radicais livres reagem com o oxigênio molecular para formar um radical peróxido lipídico ( $\text{ROO}^\bullet$ ), os quais reagem posteriormente com outras moléculas de lipídios formando os hidroperóxidos (ROOH). Os peróxidos lipídios são chamados de produtos de primeira oxidação e podem ser usados como indicadores da qualidade e estabilidade dos óleos e gorduras. Os peróxidos são instáveis e se decompõem, resultando no acúmulo de produtos de oxidação secundária, como aldeídos, cetonas e dienos conjugados (THOMAIDIS et al., 1999), muitos destes compostos são responsáveis pelo aroma indesejável. Na etapa de terminação ocorre a

reação em cadeia entre os próprios radicais ( $R^{\bullet}$ ), produzindo dímeros e polímeros. O processo de combinação de dois radicais requer baixa energia de ativação e é limitado pela concentração de radicais quando esses são requeridos para interagir num centro ativo específico das moléculas (WHEATLEY, 2000).

A oxidação pode ocorrer também na presença de oxigênio singlete ( $^1O_2$ ), onde o ácido graxo insaturado irá formar um hidroperóxido pela introdução direta de  $^1O_2$  em um dos carbonos da ligação dupla do ácido graxo.

## **2.7 Antioxidantes em carne de frango**

Os antioxidantes são uma classe de compostos muito efetivos para a inibição da reação de oxidação. Antioxidantes como os compostos fenólicos, são consumidos durante a fase de iniciação atuando na redução dos radicais livres, e outros como o ácido ascórbico e o ácido cítrico, que agem através de uma variedade de mecanismos incluindo a ligação com íons metálicos, a redução de oxigênio, a conversão de hidroperóxidos a espécies não-radicais, a absorção de radiação ultravioleta ou a desativação do oxigênio singlete (POKORNY; YANISHLIEVA; GORDON, 2001).

Os antioxidantes sintéticos mais amplamente utilizados são BHA (butil hidroxianisol), BHT (butil hidroxitolueno), TBHQ (*t*-butil-hidroquinona) e PG (galato de propila), cuja ação consiste na rápida doação de um átomo de hidrogênio para o radical livre. No entanto, devido à tendência atual pela procura cada vez maior de produtos naturais pelos consumidores, causada pela crescente preocupação com a saúde, o uso de condimentos e ervas aromáticas como antioxidantes naturais em substituição aos convencionais antioxidantes sintéticos estão sendo estudados.

Lai et al. (1991) adicionaram oleoresina de alecrim a “nuggets” de frango ou ao óleo de fritura verificando que não houve nenhum efeito na estabilidade oxidativa dos “nuggets”. No entanto, em salsichas de peru estocadas a 4 °C, os valores de TBARS foram semelhantes aos encontrados com o uso de uma mistura comercial de BHA, BHT e ácido ascórbico (BARBUT et al., 1985).

A carne de pescoço de frango mecanicamente separada adicionada de extrato de alecrim e posteriormente desidratada, apresentou boa estabilidade em relação à oxidação lipídica durante o armazenamento (NISSEN et al., 2000).

Mahrour et al. (2003) verificaram a ação de uma mistura de suco de limão, tomilho e alecrim moídos na composição de ácidos graxos de coxa de frango contidas em embalagem permeável ao ar e submetidas à irradiação, concluindo que não ocorreu alterações significativas na composição de ácidos graxos insaturados.

O efeito antioxidante de alecrim e “dittany” (*Origanum dictamnus*) sobre a degradação de vitamina E durante o armazenamento refrigerado foi estudado em almôndegas de frango pré-cozidas em embalagens permeáveis ao oxigênio. Com os resultados obtidos, os autores consideraram que os dois condimentos tiveram ação protetora da vitamina E, sugerindo que o mecanismo que ocorreu foi de regeneração do  $\alpha$ -tocoferol pelos fenóis dos condimentos (RACANICCI et al., 2004; BRAGAGNOLO et al., 2005). Bragagnolo et al. (2005) verificaram também que a adição de alecrim foi um excelente antioxidante em peito de frango submetido à alta pressão, armazenados sob refrigeração e posterior tratamento térmico.

O alecrim foi eficiente também quando adicionado em amostras de peito e coxa de frango, com e sem sal, submetidas à alta pressão, cujos resultados de radicais livres detectados por espectroscopia de ressonância paramagnética (EPR) e de produtos secundários da oxidação lipídica foram sempre menores nas amostras adicionadas de alecrim do que nas amostras sem adição de alecrim (BRAGAGNOLO et al., 2007). Beltran et al. (2004) obtiveram resultados semelhantes em carne de frango moída, com adição de sal e de extrato de alecrim, e processada sob alta pressão, porém o alecrim apresentou pouco efeito antioxidante nas amostras cozidas.

A adição de extrato aquoso de erva mate em almôndegas de peito de frango durante estocagem refrigerada mostrou eficiência em retardar a oxidação lipídica e a degradação da vitamina E (RACANICCI et al., 2008).

Mariutti et al. (2007) verificaram que a adição de sálvia em peito de frango submetido à alta pressão teve efeito em retardar a oxidação lipídica durante a estocagem refrigerada por 2 semanas. No entanto, a adição de alho mostrou efeito pró-oxidativo especialmente em condições moderadas de alta pressão.

Não foram encontrados relatos na literatura sobre o uso de colorífico, urucum ou seus extratos em produtos cárneos.

## 2.8 Propriedades antioxidantes dos carotenóides do urucum

O termo urucum inclui uma série de preparações coloríficas baseadas na extração da semente de um arbusto, com 2 a 5 metros de altura, nativo da América Tropical nomeado de *Bixa orellana* L, tipicamente abundante nos trópicos (NISH et al., 1991). O fruto (FIGURA 3) consiste em uma vagem, similar à castanha, contendo entre 10 e 50 sementes em seu interior, revestidas de uma camada macia, fina e vermelha (PRESTON; RICKARD, 1980).



FIGURA 3 – Frutos do urucuzeiro (*Bixa orellana*)

O urucum figura como uma das principais fontes de corantes naturais utilizados mundialmente. Na indústria de alimentos é aplicado como corante em derivados lácteos, embutidos, doces, licores, sorvetes, massas e margarinas,

podendo ser utilizado sob a forma de extrato hidrossolúvel ou na forma de extrato lipossolúvel, conforme aplicação do setor alimentício.

A bixina, um carotenóide de cor vermelha, é o pigmento presente em maior concentração no arilo da semente do urucum, sendo a principal substância responsável pelas características tintoriais dos corantes obtidos desta semente. Na semente bruta sua concentração pode chegar até 5 %, contudo, as diferentes variedades de sementes apresentam teores às vezes inferiores a 2 % sendo o valor comercial da semente baseado no percentual de bixina.

A bixina é um tipo de carotenóide com dois grupos ácidos carboxílicos, sendo que um deles está esterificado, e é o pigmento majoritário presente no extrato de urucum perfazendo 80% dos carotenóides encontrados no urucum. A norbixina é derivada da bixina (FIGURA 4) pela hidrólise do grupamento éster, sendo aplicada a alimentos, e sua molécula é hidrossolúvel, já a bixina é lipossolúvel.

Em 1825, Boussingault, realizou o primeiro isolamento da bixina, e só 136 anos depois a estrutura química da *cis*-bixina foi elucidada como metil 9'-*cis*-6,6'-diapocaroteno-6,6'-dioato (PRESTON; RICKARD, 1980).

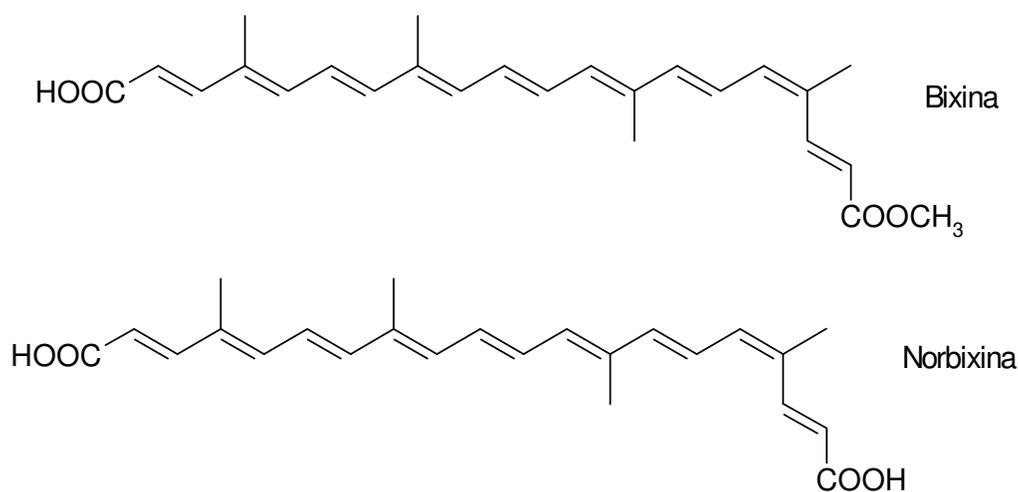


FIGURA 4 – Estruturas químicas da bixina e da norbixina.

Quanto à degradação térmica, a bixina sofre uma série complexa de isomerizações e degradações quando aquecida a temperaturas elevadas durante o processo de extração.

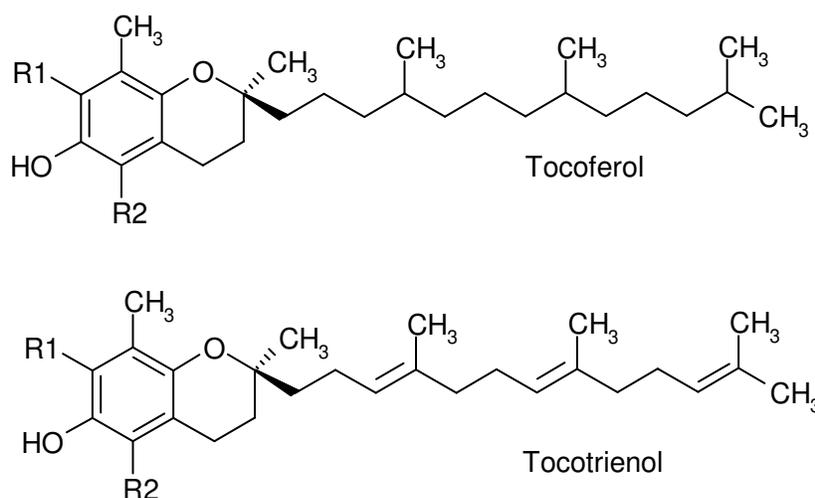
Em 1996, Haila, Lievonen e Heinonen estudaram as propriedades antioxidantes da bixina em óleo de colza e verificam que a bixina inibiu a autoxidação, no entanto outros carotenóides como a luteína e o licopeno não apresentaram o mesmo efeito antioxidante. As propriedades antioxidantes do urucum são atribuídas principalmente aos carotenóides bixina e a norbixina. A bixina e a norbixina (FIGURA 4) apresentam na sua estrutura 25 e 24 carbonos, respectivamente, 9 ligações duplas conjugadas e grupo carboxílico. Carotenóides com mais de sete ligações duplas conjugadas são capazes de aprisionar ou desativar (quencher) oxigênio singlete ( $^1O_2$ ), sendo que esta atividade aumenta com o aumento do sistema de ligações duplas conjugadas (DI MASCIO; KAISER; SIES, 1989). Os carotenóides também desativam os estados tripletes excitados de sensibilizadores (MONTENEGRO et al., 2004), os quais são responsáveis pela formação de  $^1O_2$ , e aprisionam radicais livres (BOHM et al., 2002).

Extratos de urucum apresentaram boa atividade antioxidante como seqüestradores de diversas formas reativas de oxigênio, sendo que em meio aquoso o extrato de urucum apresentou atividade antioxidante maior que alecrim, porém menor que orégano e cominho (MARTÍNEZ-TOMÉ et al., 2001).

Na avaliação das propriedades antioxidantes de extrato lipossolúvel de urucum (bixina), extrato hidrossolúvel de urucum (norbixina) e  $\beta$ -caroteno em óleo de oliva e em emulsão óleo em água armazenados a 60 °C, a norbixina foi o único carotenóide que inibiu a deterioração oxidativa nos dois sistemas. A presença dos grupos carboxílicos na molécula de norbixina pode contribuir para o retardamento da autoxidação pela quelação de íons metálicos pró-oxidantes ou de outras espécies polares iniciadoras (KIOKIAS; GORDON, 2003).

## 2.9 Vitamina E, antioxidante natural

A vitamina E é um termo genérico que se refere a uma mistura de tocoferóis e tocotrienóis ( $\alpha, \beta, \delta, \gamma$  tocoferol e  $\alpha, \beta, \delta, \gamma$  tocotrienol), sintetizados somente pelas plantas, e sua ocorrência em produtos de origem animal se deve à adição destes na dieta dos mesmos. Todos estes compostos consistem de um núcleo cromanol com uma cadeia alifática lateral (FIGURA 5) (MUNTEANU; ZINGG; AZZ, 2004).



Tocoferol / Tocotrienol	R1	R2
$\alpha$	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
$\beta$	H	CH <sub>3</sub>
$\delta$	CH <sub>3</sub>	H
$\gamma$	H	H

FIGURA 5 – Estrutura química do tocoferol e tocotrienol.

Estudos comprovam que a vitamina E é um eficiente inibidor da peroxidação de lipídios *in vivo*. Estas substâncias agem como doadores de H para o radical peroxila, interrompendo a reação em cadeia. Cada tocoferol pode reagir com até dois radicais peroxila e, nesse caso, o tocoferol é irreversivelmente desativado.

A reação de doação do H do radical fenólico para os radicais peroxila é acelerada pela presença de um grupo metoxila em *para*, pois este estabiliza o radical formado por ressonância, e grupos metila em *orto* ou em *orto* e *meta* que apresentam pequeno impedimento estérico. Ao mesmo tempo, essa reação é retardada quando a hidroxila fenólica se encontra estericamente impedida por grupos alquila maiores em *orto*, ou quando em presença de um grupo capaz de abstrair elétrons em *para*. Deste modo, não é possível prever qual dos tocoferóis tem maior atividade. No entanto, estudos cinéticos realizados *in vitro* demonstram que o  $\alpha$ -tocoferol possui uma constante de velocidade alta ( $k = 235 \pm 50 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) para a transferência do  $\text{H}\cdot$  para um radical peroxila. Essa constante é maior que para a maioria dos antioxidantes sintéticos e ligeiramente superior aos outros tocoferóis:  $\beta$ -tocoferol ( $k = 166 \pm 33 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ),  $\gamma$ -tocoferol ( $k = 159 \pm 42 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) e  $\delta$ -tocoferol ( $k = 65 \pm 13 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006). Testes *in vivo* mostraram resultados semelhantes (BURTON; INGOLD, 1981).

Em 2000, Thomas e Stocker conduziram estudos *in vitro* e conseguiram demonstrar a capacidade superior do  $\alpha$ -tocoferol na prevenção da peroxidação lipídica da LDL, principais responsáveis pelo transporte de ácidos graxos e colesterol do fígado para os tecidos periféricos. Alguns estudos apresentaram resultados favoráveis no que diz respeito à redução da suscetibilidade da LDL à oxidação (DEVARAJ et al., 1997, JIALAL; GRUNDY, 1992); outros sugerem que  $\alpha$ -tocoferol pode apresentar atividade pró-oxidante em algumas situações, por exemplo, em pessoas fumantes ou que consomem quantidade elevada de ácidos graxos poliinsaturados. A partir destes resultados contraditórios, estudos *in vitro* têm demonstrado que em doses elevadas o  $\alpha$ -tocoferol pode agir como pró-oxidante, caso não haja concentrações equivalentes de outros antioxidantes para regenerar o radical  $\alpha$ -tocoferila a  $\alpha$ -tocoferol (MUNTEANU; ZINGG; AZZ, 2004; CERQUEIRA; MEDEIROS; AUGUSTO, 2007).

Mariutti et al. (2007) obtiveram concentrações de 7,29 e 0,79 mg/100 g de  $\alpha$ - e  $\gamma$ -tocoferol, respectivamente, em peito de frango cru e verificaram que estes teores não variaram durante a estocagem de peito de frango pressurizado adicionado ou não de sálvia ou alho. Por outro lado, Bragagnolo et al. (2005)

observaram uma redução em torno de 20 % nos teores de  $\alpha$ - e  $\gamma$ -tocoferol, quando peito de frango foi cozido. Também verificaram que a adição de alecrim protegeu o  $\alpha$ -tocoferol quando o peito de frango foi pressurizado, bem como durante a estocagem a 5 °C e posterior tratamento térmico. Pedrielli et al. (2001, 2002) demonstraram que os compostos fenólicos de plantas agem em sinergia com  $\alpha$ -tocoferol na proteção da oxidação lipídica em sistemas modelos onde  $\alpha$ -tocoferol é regenerado pelos compostos fenólicos. Racanicci et al. (2004) demonstraram também que o alecrim protegeu a vitamina E em almôndegas pré-cozidas durante a estocagem refrigerada.

### **3. OBJETIVOS**

- Investigar a ação do urucum na oxidação lipídica em peito de frango, cru e grelhado, embalados em sacos de polietileno de 6  $\mu$ m de espessura e armazenados a -18 °C durante 120 dias;
- Avaliar o efeito do processamento térmico na oxidação lipídica em presença do antioxidante natural de urucum em peito de frango, cru e grelhado a 168 °C, até a temperatura interna atingir 70 °C;
- Determinar o teor de substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico (TBARS), composição de ácidos graxos, óxidos de colesterol e parâmetros de cor para avaliar a oxidação lipídica em peito de frango cru e grelhado armazenado a -18 °C durante 120 dias;
- Avaliar o efeito do urucum sobre a vitamina E, antioxidante naturalmente presente em carnes;
- Determinar lipídios totais e umidade em peito de frango cru e grelhado armazenado a -18 °C durante 120 dias.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Material

#### 4.1.1 Preparo das amostras

Foram adquiridos no mercado local de Campinas, cerca de 15 kg de peito (*Pectoralis major*) de frango congelado. Após o descongelamento foi realizada a desossa, remoção da pele e da gordura de cobertura. A carne foi moída em processador doméstico até se obter uma massa homogênea, a qual foi pesada e dividida em duas frações iguais. Em uma das frações foi adicionado 0,4% de colorífico de marca comercial, também adquirido no mercado local de Campinas, homogeneizando bem a massa. Foram fabricados hambúrgueres de aproximadamente  $30 \pm 2$  g. Metade dos hambúrgueres adicionados ou não de colorífico foram grelhados a  $165\text{ }^{\circ}\text{C}$  por aproximadamente 4 min de cada lado, até que a temperatura interna atingisse  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Tanto os hambúrgueres grelhados como os crus foram embalados em sacos plásticos de polietileno de baixa densidade, com espessura de  $6\text{ }\mu\text{m}$  e congelados em freezer horizontal a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 120 dias. Os tratamentos receberam a seguinte codificação:

CC: hambúrguer cru adicionado de colorífico;

CP: hambúrguer cru sem adição de colorífico;

GC: hambúrguer grelhado adicionado de colorífico;

GP: hambúrguer grelhado sem adição de colorífico.

Um hambúrguer de cada tratamento foi descongelado a temperatura ambiente e a análise objetiva da cor realizada, sendo em seguida homogeneizado em processador doméstico. Alíquotas convenientes foram retiradas para a realização das demais análises.

### 4.1.2 Reagentes

Os padrões de colesterol e óxidos de colesterol: colest-5-ene-3 $\beta$ ,20 $\alpha$ -diol (20 $\alpha$ -OH), colest-5-ene-3 $\beta$ ,25diol (25-OH), 3 $\beta$ -hidroxicolest-5-ene-7-one (7-ceto), colest-5-ene-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diol (7 $\beta$ -OH), 5,6- $\alpha$ -epoxi-5 $\alpha$ -colestan-3 $\beta$ -ol ( $\alpha$ -epoxi) e 5,6- $\beta$ -epoxi-5 $\beta$ -colestan-3 $\beta$ -ol ( $\beta$ -epoxi) foram obtidos de Sigma (Miliford). Colest-5-ene-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ -diol (7 $\alpha$ -OH) foram adquiridos de Steraloids. Uma mistura de padrões contendo 37 éster metílico de ácidos graxos (FAME) do 4:0 ao 24:0 da marca Supelco foram usados para identificação dos ácidos graxos. Os padrões internos utilizados para a quantificação foram os ésteres metílicos do ácido tridecanóico (13:0) e do ácido nonadecanóico (19:0). Os padrões utilizados para a identificação de tocoferóis foram:  $\alpha$ -tocoferol,  $\beta$ -tocoferol,  $\gamma$ -tocoferol e  $\delta$ -tocoferol da marca Calbiochem. Para a identificação dos tocotrienóis, foi utilizado uma mistura obtida a partir do óleo de palma, contendo  $\alpha$ -tocotrienol,  $\beta$ -tocotrienol e  $\gamma$ -tocotrienol. O isopropanol e n-hexano usados como fase móvel na determinação de vitamina E, óxidos de colesterol e colesterol foram grau HPLC e os demais reagentes, grau analítico.

## 4.2 Métodos

### 4.2.1 Análise objetiva de cor

As amostras foram descongeladas nos diferentes tempos de estocagem à temperatura ambiente e os parâmetros de L (luminosidade), a (intensidade de vermelho) e b (intensidade de amarelo) foram avaliados com o iluminante D65 e o ângulo de observação a 10°. Pelo modo de reflectância com a especular excluída, realizaram-se 5 leituras em cada tratamento e o resultado final obtido a partir da média das 5 leituras. Para realização das análises foi utilizado um colorímetro de HunterLab, modelo Color Quest XE.

A análise objetiva de cor foi realizada nas amostras nos tempos zero e após 1, 3, 6, 9, 12, 15, 20, 25, 29, 60, 90 e 120 dias de armazenamento a -18 °C protegidos da luz.

#### **4.2.2 Substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico (TBARS)**

A determinação das substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico foi realizada segundo Bragagnolo, Danielsen e Skibsted (2005). Foram pesadas  $1,5 \pm 0,1$ g de amostra em béquer de 150 mL, adicionados 6 mL de solução contendo ácido tricloroacético 7,5% (TCA), ácido etilenodiaminotetracético 0,1% (EDTA) e galato de propila 0,1% (PG) e homogeneizado em agitador mecânico (Tecnal) por 20 segundos. O homogeneizado foi filtrado para um frasco âmbar em filtro de acetato de celulose. Do filtrado foram pipetados 2,0 mL para um tubo de 30 mL com tampa rosqueada e adicionados 2,5 mL de solução de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) 0,002 mol/L. Foi realizado um branco com 2,5 mL de solução de TBA e 2,0 mL de solução contendo TCA 7,5%, EDTA 0,1% e PG 0,1%. Juntamente com as amostras e o branco foram realizados dois pontos da curva padrão construída com 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP), em concentrações próximas às das amostras. As tampas foram rosqueadas e todos os tubos foram homogeneizados em vortéx por 10 segundos. Os tubos foram aquecidos em banho de água em ebulição por 45 minutos, resfriados em banho de gelo e a absorbância foi obtida em espectrofotômetro (Agilent) a 532nm e 600nm. A análise de TBARS foi realizada nos tempos zero e após 3, 6, 12, 20, 25, 29, 60 e 120 dias de armazenamento a -18 °C. A curva padrão foi preparada a partir de uma solução estoque de TEP com concentração de 6000  $\mu\text{mol/L}$ . A curva foi construída utilizando os seguintes pontos: 0,1  $\mu\text{mol/L}$ , 0,25  $\mu\text{mol/L}$ , 0,50  $\mu\text{mol/L}$ , 0,75  $\mu\text{mol/L}$ , 1,0  $\mu\text{mol/L}$ , 2,0  $\mu\text{mol/L}$ , 4,0  $\mu\text{mol/L}$ , 6,0  $\mu\text{mol/L}$ , 8,0  $\mu\text{mol/L}$ , 12  $\mu\text{mol/L}$  e 24  $\mu\text{mol/L}$ . Foi lida a absorbância para cada um dos pontos e construída a curva padrão, ajustada por regressão linear.

### **4.2.3 Quantificação de bixina**

Em béquer de 100 mL foram pesadas  $2 \pm 0,1$ g de amostra, pipetados 10 mL de acetona e homogeneizado em agitador mecânico por 30 segundos. A hélice foi lavada com acetona e o béquer levado ao ultra som por 5 minutos. Todo o conteúdo do béquer foi filtrado em kitassato de 125 mL. Com auxílio de pipeta Pasteur, o filtrado foi transferido quantitativamente em pequenas frações para funil de separação de 500 mL, contendo 0,5 mL de água destilada e 100 mL de acetato de etila/éter etílico, na proporção de 1:1. O kitassato foi lavado com 5 mL de acetona. O extrato foi lavado aos poucos com água destilada até completa remoção da acetona. A fase apolar contendo a bixina foi filtrada com sulfato de sódio anidro para balão de fundo redondo de 500 mL. O extrato foi seco em evaporador rotatório a 35 °C. O extrato seco foi transferido com diclorometano para balão volumétrico de 10 mL e o volume completado. A leitura da absorvância em espectrofotômetro (Agilent) foi realizada a 468 nm (LARA, 1984) e a concentração de bixina foi calculada em mg/g utilizando o coeficiente de absorção de 2826 (FAO/WHO, 1982). A absorvância foi obtida nos tempos 12, 15, 20, 25, 29, 60, 90 e após 120 dias de armazenamento a -18 °C. Todo o processo foi realizado ao abrigo da luz.

### **4.2.4 Quantificação simultânea de colesterol e óxidos de colesterol**

As amostras foram homogeneizadas e submetidas à saponificação direta a frio segundo Mariutti et al. (2008) que otimizaram um método para determinação de óxidos de colesterol e colesterol em filé de frango usando o método de superfície de resposta e o validaram. Foi pesado  $1,0 \pm 0,1$  g de amostra em balão de fundo redondo de 125 mL e adicionado 10 mL de solução de KOH 15% em etanol 90%. O balão foi tampado com rolha e agitado em mesa agitadora a 118 rpm, no escuro, por 20 horas sob atmosfera de N<sub>2</sub>. O conteúdo do balão foi transferido com 15 mL de água para tubo com tampa rosqueada de 90 mL. Foram realizadas 4 extrações com 10 mL de n-hexano, agitando o tubo em vortéx. O n-

hexano de cada extração foi recolhido em funil de separação de 125 mL e então lavado com 5 mL de KOH 0,5 N aquoso e duas vezes com 5 mL de água destilada. O extrato de n-hexano foi filtrado com sulfato de sódio anidro para tubo de tampa rosqueada de 40 mL e o filtro contendo o sulfato de sódio anidro foi lavado com 10 mL de n-hexano. O n-hexano foi seco sob  $N_2$ , e o extrato seco dissolvido na fase-móvel, filtrado em membrana Millipore de 0,45  $\mu\text{m}$  e injetado no cromatógrafo líquido de alta eficiência.

Foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta eficiência (Shimadzu) com detectores UV-Visível (SPD-10 AV<sub>VP</sub>) e índice de refração (RID-10 A). O detector de índice de refração foi utilizado na determinação dos  $\alpha$  e  $\beta$ -epoxi, uma vez que estes compostos, por não apresentarem ligação  $\pi$ , não absorvem luz na região do UV e os demais óxidos foram determinados pelo detector UV-Visível com comprimento de onda fixado em 210 nm. A coluna analítica usada foi Nova Pack CN HP (300 mm x 3,9 mm x 4  $\mu\text{m}$ , Waters) e pré-coluna BDS CN (7,5 x 4,6 mm x 5  $\mu\text{m}$ , Alltech). A fase móvel foi hexano:isopropanol (97:3) na vazão de 1 mL/ min, de acordo com Saldanha et al. (2006). A identificação foi realizada por comparação dos tempos de retenção dos padrões como os tempos de retenção da amostra e por co-cromatografia. A quantificação foi feita por padronização externa construindo uma curva com seis pontos, cujas concentrações variaram de 0,5 a 60  $\mu\text{g/mL}$  para os óxidos de colesterol e de 0,2 a 2,5 mg/mL para o colesterol.

#### **4.2.5 Teor de lipídeos totais e umidade**

A metodologia utilizada para determinação dos lipídios totais foi realizada por gravimetria segundo Folch, Lees e Stanley (1957), consistindo na extração dos lipídios com solução de clorofórmio/metanol, na proporção 2:1, seguida de lavagem com solução de KCl 0,74%. A extração foi feita em três etapas. Na primeira extração, 5 g de carne foi homogeneizada com 100 mL de solução clorofórmio/metanol em agitador mecânico por 2 minutos, filtrada em filtro de acetato de celulose para um funil de separação de 500 mL. O retido no filtro foi re-

extraído com 50 mL de clorofórmio/metanol por 2 minutos em agitador mecânico e filtrado no mesmo funil de separação. O retido no filtro foi novamente extraído com 50 mL de clorofórmio/metanol por 2 minutos e filtrado no mesmo funil de separação. Os filtrados no funil de separação de 500 mL foram lavados com 40 mL de solução de KCl 0,74% e deixados em repouso até a separação das fases. A fase inferior (clorofórmica), contendo os lipídios, foi recolhida em um béquer, recolocada no funil de separação de 500 mL, lavada novamente com 25 mL de KCl 0,74% e deixada em repouso até a separação das fases. A fase lipídica foi recolhida em balão volumétrico de 200 mL e o volume completado com clorofórmio. Desse volume foi retirada uma alíquota de 20 mL e transferida para béquer de 50 mL, previamente tarado. O clorofórmio foi evaporado em capela de exaustão e levado a estufa a 105 °C por 1 hora. Os béqueres foram colocados em dessecador e pesados sendo a diferença entre as massas o teor de lipídios totais. A quantificação de lipídios foi realizada apenas no tempo zero e após 120 dias de estocagem.

Para realização do teor de umidade, alíquotas de  $2,0 \pm 0,1$  g de amostra foram pesadas em placas de petri previamente taradas. As amostras foram secas em estufa a 105 °C até peso constante, de acordo com metodologia da AOAC (1997). Em seguida as placas foram retiradas da estufa, colocadas em dessecador com sílica e pesadas. A umidade foi determinada pela diferença entre as massas.

#### **4.2.6 Determinação do perfil de ácidos graxos**

Uma alíquota do extrato lipídico obtido segundo Folch, Lees e Stanley (1957), contendo aproximadamente  $25 \pm 1$  mg de óleo foi saponificada e metilada (JOSEPH; ACKMAN, 1992). A saponificação foi realizada com 1,5 mL de NaOH metanólico 0,5 N e aquecimento a 100 °C por 5 minutos e a metilação com adição de 2 mL de BF<sub>3</sub> em metanol e aquecimento a 100 °C por 30 minutos. Os ésteres metílicos foram extraídos com isoctano e analisados por cromatografia gasosa.

Foi utilizado um cromatógrafo gasoso (Shimadzu, GC 2010) equipado com um injetor split (1/100) a 260°C, detector de ionização em chama, coluna CP-SIL

88 (Chromopack, 100 m x 0,25 mm x 0,20  $\mu\text{m}$ ). O volume de injeção foi de 1  $\mu\text{L}$  através da técnica de *hot needle* por 5 seg. O gás de arraste foi o hidrogênio com velocidade linear de 20 cm/s e o gás *make up*, nitrogênio a 30 mL/min. A temperatura da coluna foi programada iniciando-se a 140  $^{\circ}\text{C}$ , mantendo-se nesta temperatura por 5 minutos, aumentando em seguida 4  $^{\circ}\text{C}$  por minuto até 200  $^{\circ}\text{C}$ , mantendo-se nesta temperatura por 4 minutos, aumentando novamente 2  $^{\circ}\text{C}$  por minuto até 220  $^{\circ}\text{C}$ , mantendo-se nesta temperatura por 8 minutos e finalmente aumentando 5  $^{\circ}\text{C}$  por minuto até 240  $^{\circ}\text{C}$  e mantendo-se nesta temperatura por 5 minutos, totalizando 51 minutos. A identificação foi realizada por comparação dos tempos de retenção dos padrões como os tempos de retenção da amostra. A quantificação foi realizada por padronização interna, utilizando-se C13:0 e C19:0 como padrões internos e os ácidos graxos foram calculados em mg/100g de amostra.

#### **4.2.7 Quantificação de vitamina E**

A vitamina E foi determinada seguindo o método da AOCS (1997). Uma alíquota da solução clorofórmica utilizada na quantificação de lipídeos totais, contendo 0,05 g de lipídeos, foi levada à secura em evaporador rotatório e transferida quantitativamente com n-hexano para frascos âmbar e secos sob fluxo de  $\text{N}_2$ . Aos frascos contendo o extrato seco foram adicionados 1 mL de n-hexano, filtrado em membrana Millipore de 0,45  $\mu\text{m}$  e injetado no cromatógrafo líquido de alta eficiência.

Foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta eficiência (Perkin Elmer, série 200) com detector UV/Vis (Perkin Elmer LC 290) fixado a 292 nm e coluna LiChrosorb Si 60 (250 mm x 4 mm, 5  $\mu\text{m}$ , Merk). A fase móvel utilizada foi n-hexano/isopropanol (99:1) com fluxo de 1,0 mL/ minuto.

A quantificação foi feita por padronização externa construindo uma curva de calibração com  $\alpha$ -tocoferol com sete pontos cujas concentrações variaram de 1,4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  a 18  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Os resultados foram expressos em mg de tocoferol/100g de amostra.

#### **4.2.8 Análise estatística dos dados**

Os dados obtidos foram avaliados através de análise de variância pelo sistema STATISTICA (2000), versão 5.5, StatSoft Inc. e as médias comparadas pelo teste de Tukey para  $P < 0,05$ .

### **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **5.1 Substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS)**

A quantificação das substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico foi usada para medir o índice de oxidação dos lipídeos. Os resultados de TBARS foram obtidos para quatro tratamentos em base úmida (TABELA 2) e em base seca (TABELA 3). A formação de TBARS nas amostras cruas com adição de colorífico e sem adição de colorífico durante 120 dias de armazenamento a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  apresentou diferença significativa ( $P < 0,05$ ) para a maioria dos tempos observados. Resultados semelhantes foram obtidos por Hoac et al. (2006) em peito de frango, após 6 dias a  $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ , com concentrações aproximadas de  $1\text{ }\mu\text{mol/kg}$  e  $4\text{ }\mu\text{mol/kg}$  para a carne sem tratamento térmico e aquecida até a temperatura interna atingir  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ , respectivamente.

TABELA 2: Resultados de TBARS ( $\mu\text{mol}$  de malonaldeído/kg de carne, base úmida) em peito de frango cru adicionado de colorífico (CC), peito de frango cru (CP), peito de frango grelhado adicionado de colorífico (GC) e peito de frango grelhado (GP) armazenados durante 120 dias a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Dias	CC	CP	GC	GP
	M $\pm$ DP*	M $\pm$ DP*	M $\pm$ DP*	M $\pm$ DP*
0	1,26 $\pm$ 0,11 <sup>b</sup>	1,98 $\pm$ 0,34 <sup>a</sup>	19,01 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	24,87 $\pm$ 0,29 <sup>a</sup>
3	3,51 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	3,07 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	42,59 $\pm$ 4,46 <sup>b</sup>	61,77 $\pm$ 0,34 <sup>a</sup>
6	2,41 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	2,29 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	42,98 $\pm$ 1,60 <sup>b</sup>	66,80 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>
12	2,70 $\pm$ 0,21 <sup>a</sup>	2,31 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	55,95 $\pm$ 1,22 <sup>b</sup>	80,49 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>
20	2,47 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	2,75 $\pm$ 0,32 <sup>a</sup>	76,38 $\pm$ 1,01 <sup>b</sup>	93,10 $\pm$ 0,93 <sup>a</sup>
25	2,38 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	1,91 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>	66,43 $\pm$ 0,26 <sup>b</sup>	82,63 $\pm$ 2,51 <sup>a</sup>
29	2,44 $\pm$ 0,13 <sup>b</sup>	3,31 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>	85,57 $\pm$ 1,63 <sup>b</sup>	103,28 $\pm$ 0,43 <sup>a</sup>
60	1,37 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	1,44 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	43,94 $\pm$ 0,97 <sup>b</sup>	46,70 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>
120	1,15 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	2,01 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>	27,30 $\pm$ 0,37 <sup>a</sup>	26,61 $\pm$ 0,70 <sup>a</sup>

\*Média  $\pm$  desvio padrão

Médias numa mesma linha, comparando os tratamentos CC com CP, e GC com GP, seguidas por letras iguais não possuem diferença significativa pelo teste Tukey ( $P > 0,05$ ).

TABELA 3: Valores de TBARS ( $\mu\text{mol}$  de malonaldeído/kg de carne, base seca) em peito de frango cru adicionado de colorífico (CC), peito de frango cru (CP), peito de frango grelhado adicionado de colorífico (GC) e peito de frango grelhado (GP) armazenados durante 120 dias a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Dias	CC	CP	GC	GP
	M $\pm$ DP*	M $\pm$ DP*	M $\pm$ DP*	M $\pm$ DP*
0	1,83 $\pm$ 0,18 <sup>a</sup>	2,12 $\pm$ 0,61 <sup>a</sup>	25,59 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>	33,80 $\pm$ 0,54 <sup>a</sup>
3	3,51 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	3,07 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	56,83 $\pm$ 6,34 <sup>b</sup>	82,52 $\pm$ 0,69 <sup>a</sup>
6	3,52 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	3,34 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	56,15 $\pm$ 2,21 <sup>b</sup>	90,74 $\pm$ 2,02 <sup>a</sup>
12	3,91 $\pm$ 0,26 <sup>a</sup>	3,33 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	73,40 $\pm$ 1,36 <sup>b</sup>	104,65 $\pm$ 0,37 <sup>a</sup>
20	3,56 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>	4,00 $\pm$ 0,54 <sup>a</sup>	100,23 $\pm$ 1,62 <sup>b</sup>	122,90 $\pm$ 1,12 <sup>a</sup>
25	3,49 $\pm$ 0,23 <sup>a</sup>	2,64 $\pm$ 0,35 <sup>b</sup>	86,27 $\pm$ 0,34 <sup>b</sup>	107,82 $\pm$ 3,22 <sup>a</sup>
29	3,58 $\pm$ 0,25 <sup>b</sup>	4,97 $\pm$ 0,14 <sup>a</sup>	113,70 $\pm$ 2,68 <sup>b</sup>	137,07 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>
60	2,01 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	2,10 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	58,78 $\pm$ 1,33 <sup>b</sup>	62,20 $\pm$ 0,48 <sup>a</sup>
120	1,68 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	2,98 $\pm$ 0,17 <sup>a</sup>	36,74 $\pm$ 1,00 <sup>a</sup>	34,78 $\pm$ 0,75 <sup>a</sup>

\*Média  $\pm$  desvio padrão

Médias numa mesma linha, comparando os tratamentos CC com CP, e GC com GP, seguidas por letras iguais não possuem diferença significativa pelo teste Tukey ( $P > 0,05$ ).

A formação de TBARS nas amostras de carne que não sofreram tratamento térmico foi significativamente menor que nas amostras submetidas ao tratamento térmico, durante os 120 dias de armazenamento (FIGURA 6 e 7). A moagem favorece a incorporação de oxigênio à carne, além de romper a estrutura do tecido fazendo com que o átomo de  $Fe^{2+}$ , da molécula de mioglobina, entre em contato com as moléculas de ácido graxo insaturado, atuando assim com agente iniciador e catalisador da reação acelerado pelo tratamento térmico. A presença de oxigênio afeta a taxa de oxidação, principalmente nas amostras que foram grelhadas, já que o processamento térmico fornece a energia necessária para a geração de radicais livres que em presença de oxigênio dão origem aos hidroperóxidos, os quais irão se decompor gerando diversos produtos incluindo os aldeídos, sendo o malonaldeído a principal substância a reagir com o ácido tiobarbitúrico (HOYLAND; TAYLOR,1991).

Os valores de TBARS nas amostras grelhadas aumentaram durante a estocagem até o 29º dia de armazenamento, quando as amostras que sofreram tratamento térmico sem adição de colorífico, apresentam a maior concentração sendo em média de aproximadamente 130  $\mu\text{mol}$  de malonaldeído/kg de carne (base seca). Estes resultados estão de acordo com os resultados obtidos por Hoac et al. (2006) em peito de frango e pato que demonstraram que a concentração das TBARS sofreu incremento com aumento do aquecimento (60, 70 e 80 °C) e do tempo de armazenamento (0 a 6 dias a 8 °C). Mielnik et al. (2008) também verificaram aumento no valor de TBARS em coxa de frango cozida e estocada a 4 °C durante 7 dias.

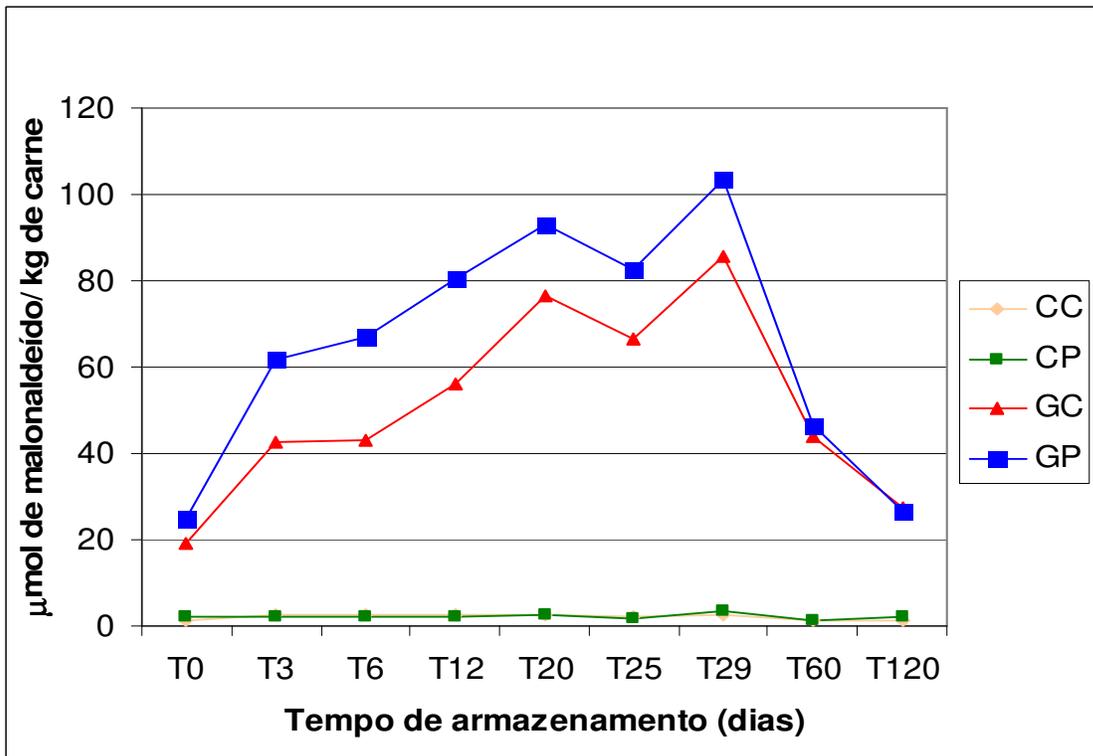


FIGURA 6 – Resultados de TBARS ( $\mu\text{mol}$  de malonaldeído/kg de carne, base úmida) em peito de frango cru adicionado de colorífico (CC), peito de frango cru (CP), peito de frango grelhado adicionado de colorífico (GC) e peito de frango grelhado (GP) armazenados durante 120 dias a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

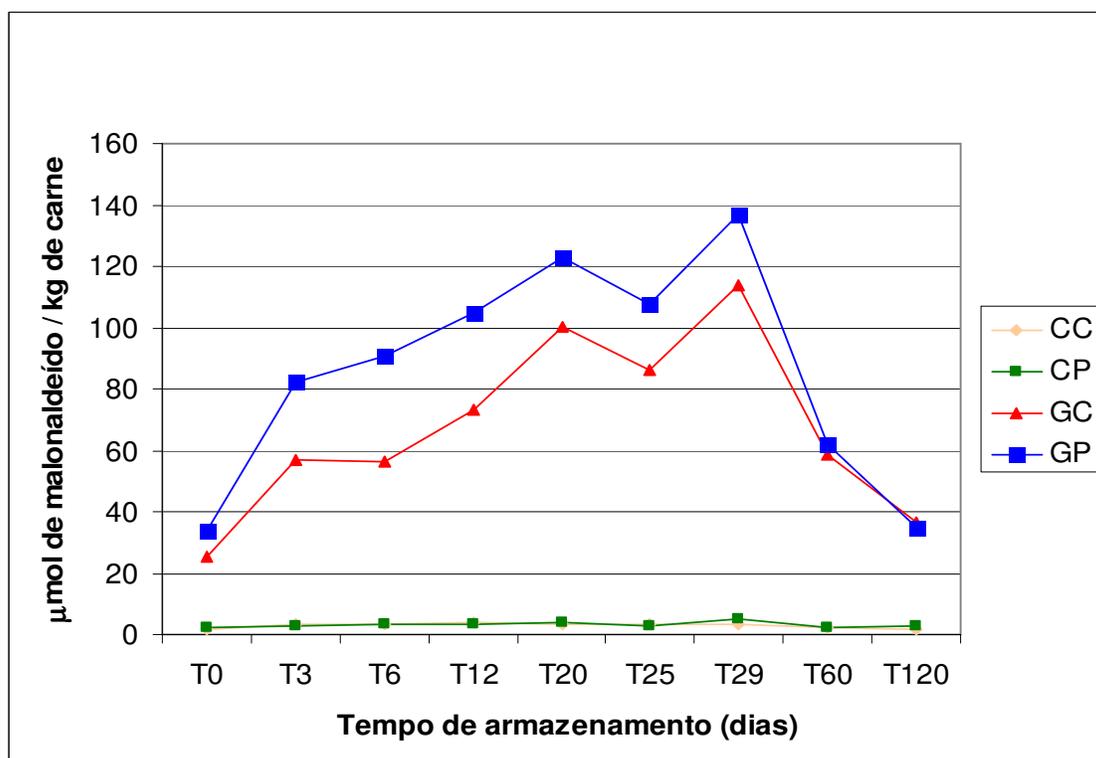


FIGURA 7 – Resultados de TBARS ( $\mu\text{mol}$  de malonaldeído/kg de carne, base seca) em peito de frango cru adicionado de colorífico (CC), peito de frango cru (CP), peito de frango grelhado adicionado de colorífico (GC) e peito de frango grelhado (GP) armazenados durante 120 dias a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

As amostras que foram grelhadas adicionadas de colorífico apresentaram sempre menores teores de TBARS em relação às amostras grelhadas sem a adição de colorífico (FIGURA 6 e 7), entretanto após 120 dias de armazenamento a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ , não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ) entre os valores encontrados. A partir destes dados pode-se notar que o colorífico apresentou efeito antioxidante nas amostras grelhadas em relação àquelas que foram grelhadas na ausência do colorífico. Por outro lado, o colorífico não apresentou o mesmo efeito nas amostras cruas.

Não foi encontrado nenhum trabalho na literatura sobre a utilização de colorífico em carne de frango como antioxidante no processo de oxidação lipídica. No entanto, foram encontrados trabalhos adicionando outros antioxidantes

naturais. Beltran et al. (2004) verificaram que o alecrim apresentou pouco efeito antioxidante nas amostras de frango cozidas, mas foi eficiente em frango moído e processado sob alta pressão. Bragagnolo et al. (2005, 2007) verificaram através da formação de radicais livres detectados por espectroscopia de ressonância paramagnética e de produtos secundários da oxidação lipídica que o alecrim foi um excelente antioxidante quando adicionado em peito de frango submetido à alta pressão. Catequinas extraídas de chá verde demonstraram efeito antioxidante em carne de frango crua e cozida, estocadas durante 10 dias a 4 °C (TANG et al., 2001a, b, c) e foram mais eficientes quando comparadas com adição de  $\alpha$ -tocoferol (TANG et al., 2001a, b).  $\beta$ -Caroteno agiu como antioxidante em coxa de frango fresca e cozida quando adicionado na dieta de frangos na concentração de 15 mg kg<sup>-1</sup> junto com óleo de girassol ou óleo de oliva, entretanto, durante a estocagem, em concentrações mais altas, 50 mg kg<sup>-1</sup>, foi pró-oxidante (RUIZ et al., 1999). Mariutti et al. (2007) verificaram que a adição de sálvia em peito de frango submetido à altas pressões (300 MPa, 600 MPa e 800 MPa) teve efeito em retardar a oxidação lipídica durante a estocagem refrigerada por 2 semanas.

## 5.2 Quantificação de Vitamina E

Os resultados de vitamina E correspondem a soma de  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ -tocoferóis e de  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -tocotrienóis e estão apresentados na Tabela 4 e Figura 8. A concentração de vitamina E nas amostras cruas variou de 0,72 a 0,95 mg/100g (base seca) cujos resultados foram significativamente diferentes ( $P > 0,05$ ) entre os valores observados no tempo 120. Para as amostras grelhadas as concentrações de vitamina E variaram de 0,27 a 0,78 mg/100g (base seca) apresentando diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os valores medidos no tempo inicial e final para a amostra adicionada de colorífico.

Nota-se efeito protetor do colorífico na degradação da vitamina E durante o tratamento térmico, já que não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre os valores observados no tempo inicial, entre os tratamentos CC e GC, o que não foi verificado quando comparamos CP e GP, no tempo inicial. Por outro lado, a

vitamina E degradou durante o armazenamento da amostra grelhada adicionada de colorífico, pois a concentração final foi menor que no tempo zero embora, para as amostras grelhadas sem adição de colorífico não apresentaram diferença significativa ( $P>0,05$ ) entre os tempos de estocagem.

TABELA 4: Concentração de vitamina E (mg/100g, base seca) em peito de frango, adicionado ou não de colorífico, cru ou grelhado armazenados por 120 dias a  $-18^{\circ}\text{C}$ .

Amostra	M $\pm$ DP*	Amostra	M $\pm$ DP*
<b>CC0</b>	0,92 $\pm$ 0,09 <sup>a,b</sup>	<b>GC0</b>	0,78 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>
<b>CC120</b>	0,95 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	<b>GC120</b>	0,46 $\pm$ 0,02 <sup>e</sup>
<b>CP0</b>	0,81 $\pm$ 0,01 <sup>b,c</sup>	<b>GP0</b>	0,39 $\pm$ 0,04 <sup>d,e</sup>
<b>CP120</b>	0,72 $\pm$ 0,04 <sup>c</sup>	<b>GP120</b>	0,27 $\pm$ 0,04 <sup>d</sup>

\*Média  $\pm$  desvio padrão

Médias seguidas por letras iguais não apresentaram diferença significativa ( $P>0,05$ ).

CC: cru adicionado de colorífico, CP: cru sem adição de colorífico, GC: grelhado adicionado de colorífico, GP: grelhado sem adição de colorífico.

Os animais não podem sintetizar vitamina E, e conseqüentemente, os níveis encontrados nos tecidos animais variam de acordo com o teor ministrado na dieta. O acetato de tocoferila é usado extensamente como suplemento dietético das aves domésticas, uma vez que a forma éster é mais estável à oxidação do que o correspondente álcool (EITENMILLER; LEE, 2004).

A maioria dos trabalhos encontrados na literatura quantifica vitamina E apenas como  $\alpha$ -tocoferol, avaliando a suplementação do  $\alpha$ -tocoferol na ração das aves e a influência deste nos atributos zootécnicos e na qualidade da carne obtida.

Souza et al. (2006) estudaram o efeito da suplementação de vitamina E no desempenho e na qualidade de carne de frango de corte e encontraram níveis de vitamina E em peito de frango, variando de 0,32 a 2,55 mg de  $\alpha$ -tocoferol/100g, de acordo com a suplementação de vitamina E na ração que variou de 0 a 200 mg/kg, respectivamente.

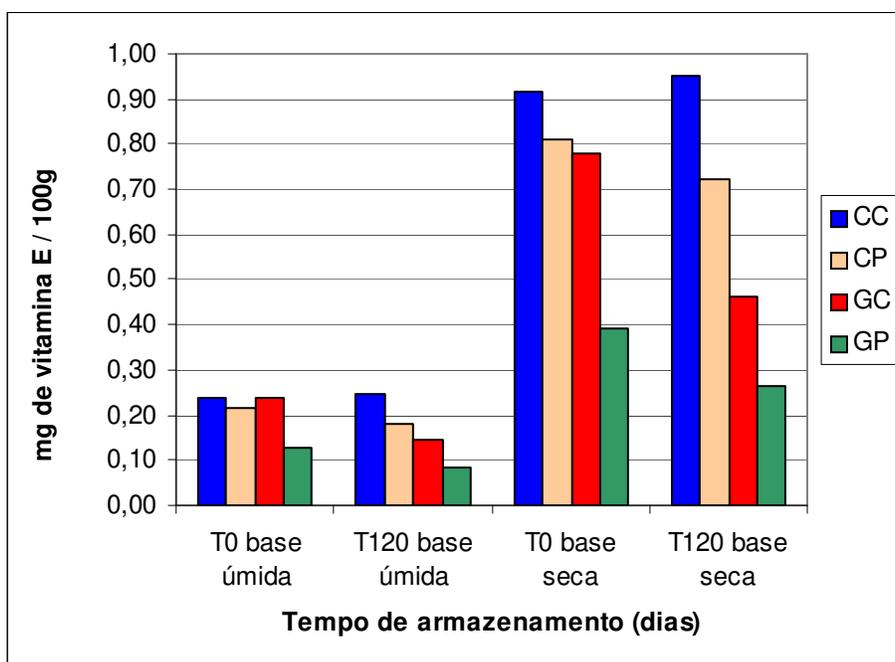


FIGURA 8 – Concentração de vitamina E em mg/100g de peito de frango, em base seca e base úmida.

CC: cru adicionado de colorífico, CP: cru sem adição de colorífico, GC: grelhado adicionado de colorífico, GP: grelhado sem adição de colorífico.

Bou et al. (2005) avaliaram o efeito do óleo de girassol como suplemento na dieta de frangos em relação à estabilidade oxidativa e a qualidade sensorial de carne escura de frango e encontraram concentrações de  $\alpha$ -tocoferol da ordem de 3 mg/100g de carne, quando a ração foi suplementada com 100 mg/kg de acetato de  $\alpha$ -tocoferila. Além disso, os mesmos autores verificaram que a suplementação de  $\alpha$ -tocoferol na ração foi capaz de reduzir o valor de TBARS quando comparados à carne que não sofreu suplementação.

Young et al. (2003) estudaram a qualidade da carne de frango e a deterioração por stress induzido em aves suplementadas com ácido ascórbico,  $\alpha$ -

tocoferol e orégano e encontraram na carne de peito 0,18 mg/100g e 0,059 mg/100g de  $\alpha$ -tocoferol e  $\gamma$ -tocoferol, respectivamente.

O nível  $\alpha$ -tocoferol em peito de frango armazenados a 4 °C foi quantificado durante oito semanas num intervalo de duas semanas cujas concentrações encontradas variaram de 0,43 a 0,5 mg/100g (EITENMILLER; LEE, 2004), valores semelhantes aos apresentados no presente trabalho.

Mariutti et al. (2007) obtiveram concentrações de 7,29 e 0,79 mg/100 g de  $\alpha$ - e  $\gamma$ -tocoferol, respectivamente, em peito de frango cru e verificaram que estes teores não variaram durante a estocagem de peito de frango pressurizado adicionado ou não de sálvia ou alho. Bragagnolo et al. (2005) observaram uma redução em torno de 20% nos teores de  $\alpha$ - e  $\gamma$ -tocoferol, quando o peito de frango foi cozido. Logo, os resultados apresentados no presente trabalho estão de acordo com o observado por Bragagnolo et al. (2005), já que o processamento térmico favoreceu a redução de vitamina E.

### **5.3 Quantificação de bixina**

A quantificação de bixina foi realizada nas amostras cruas e grelhadas adicionadas de colorífico (FIGURA 9). As curvas em base seca demonstram que a concentração de bixina foi maior nas amostras cruas do que nas amostras que foram grelhadas, o que certamente evidencia que o processamento térmico favoreceu a degradação da bixina, já que a mesma é uma substância termolábil.

A concentração de bixina apresentou algumas variações durante o período de estocagem devido provavelmente à distribuição não uniforme da mesma na carne, no entanto observou-se que o teor de bixina não degradou durante a estocagem. Nos tempos 15, 20, 29 e 60, houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os valores observados para as amostras cruas e grelhadas.

Apesar do mecanismo de atuação da bixina ser ainda desconhecido, podemos sugerir que a mesma pode ter atuado como agente complexante de íons

Fe<sup>++</sup> oriundos da molécula de mioglobina e, ou ainda atuado como um absorvedor de oxigênio, o que certamente reduziria a velocidade da reação de oxidação.

TABELA 5: Teores de bixina (mg/g) obtidos em peito de frango cru adicionado de colorífico (CC) e peito de frango grelhado adicionado de colorífico (GC) armazenados durante 120 dias a -18 °C.

Amostras	M ± DP*	Amostras	M ± DP*
<b>CC12</b>	6,35 ± 0,06 <sup>b,c,f</sup>	<b>CC29</b>	7,45 ± 0,65 <sup>a</sup>
<b>GC12</b>	5,13 ± 0,01 <sup>c,d,e,f</sup>	<b>GC29</b>	4,62 ± 0,11 <sup>d,e,f</sup>
<b>CC15</b>	6,30 ± 0,31 <sup>a,b,c,d,e</sup>	<b>CC60</b>	6,46 ± 0,28 <sup>a,b,c,d</sup>
<b>GC15</b>	3,68 ± 0,00 <sup>f</sup>	<b>GC60</b>	3,91 ± 0,08 <sup>f</sup>
<b>CC20</b>	7,19 ± 0,68 <sup>a,b</sup>	<b>CC90</b>	6,06 ± 0,73 <sup>a,b,e</sup>
<b>GC20</b>	5,10 ± 0,03 <sup>c,d,e,f</sup>	<b>GC90</b>	5,29 ± 0,11 <sup>e,f</sup>
<b>CC25</b>	6,27 ± 0,32 <sup>a,b,c,d,e</sup>	<b>CC120</b>	6,19 ± 0,01 <sup>a,b,c,d,e</sup>
<b>GC25</b>	7,05 ± 0,12 <sup>a,b,c</sup>	<b>GC120</b>	5,53 ± 0,34 <sup>a,b,c,d,e,f</sup>

\*Média ± desvio padrão

Médias seguidas por letras iguais não possuem diferença significativa pelo teste Tukey (P>0,05).

Correlacionando o teor de vitamina E com o teor de bixina encontrado percebemos que não houve diferença significativa (P>0,05) durante o armazenamento das amostras cruas adicionadas de colorífico, exceto para o tempo 29, já que as mesmas não sofreram tratamento térmico, o que provavelmente favoreceria o processo oxidativo e degradaria a estrutura da bixina e por conseqüência reduziria o teor de vitamina E.

Um possível mecanismo para explicar a atuação da bixina é a sua atuação no alimento por sinergismo com a vitamina E (tocoferóis e tocotrienóis). Já que estudos realizados por Schroeder, Becker e Skibsted (2006), estudando o mecanismo molecular do sinergismo antioxidante entre tocotrienóis e carotenóides em óleo de palma, comprovaram a atuação de carotenóides presentes na fração vermelha em óleo de palma capazes de recuperar a estrutura da Vitamina E, e

concluíram que na fritura de batatas em oleína vermelha da palma, os carotenos protegeram os tocoferóis e tocotrienóis quanto à oxidação. Ou seja, como a molécula do carotenóide, no caso a bixina, possui um número elevado de duplas ligações, o processo oxidativo se inicia por essas moléculas, evitando que outros compostos com menor número de insaturações, como alguns ácidos graxos, tocoferóis e até mesmo tocotrienóis, sejam degradados por tal reação.

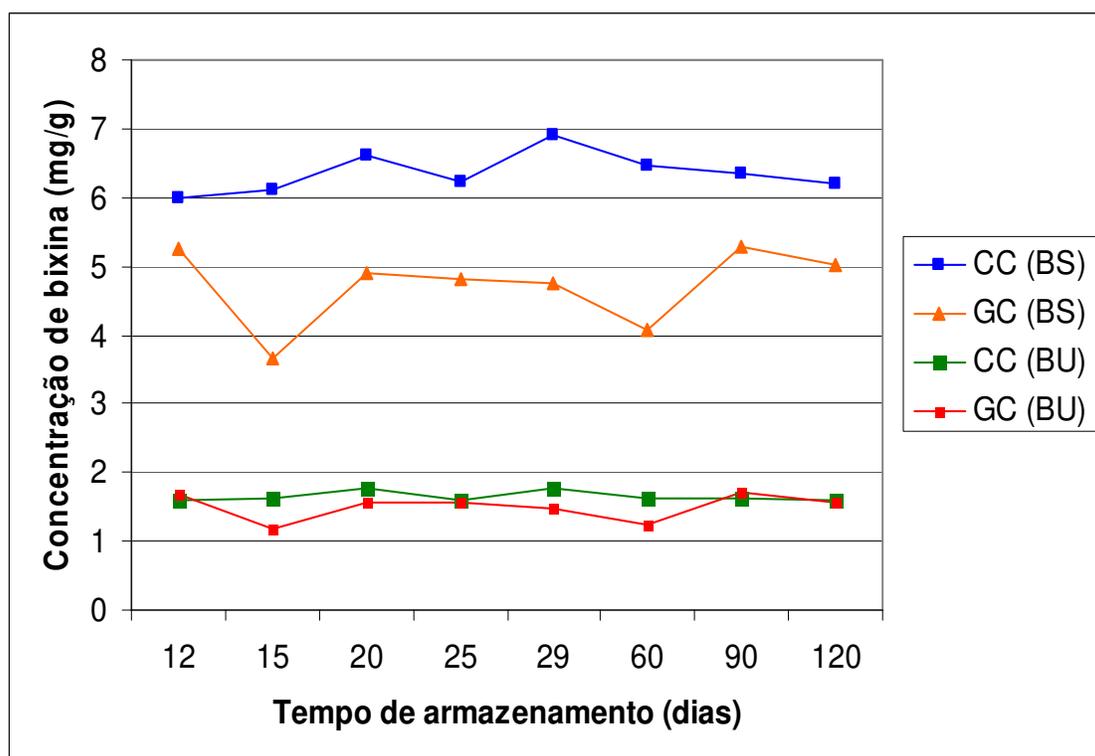


FIGURA 9: Resultados de bixina (mg/g), base seca (BS) e úmida (BU) obtidos em peito de frango cru adicionado de colorífico (CC), peito de frango cru (CP), peito de frango grelhado adicionado de colorífico (GC) e peito de frango grelhado (GP) armazenados durante 120 dias a -18 °C.

#### 5.4 Quantificação de lipídeos totais

O teor médio de lipídios totais para as amostras analisadas no tempo zero e após 120 dias podem ser observados na Tabela 6. Como esperado, o teor de

lipídios totais foi mantido durante a estocagem, independente da adição ou não de colorífico.

TABELA 6: Teores de lipídeos totais (g/100g) em peito de frango, adicionado ou não de colorífico, cru ou grelhado, armazenados durante 120 dias a -18 °C.

<b>Tempo 0</b>	M ± DP*	M ± DP*
Amostras	(base úmida)	(base seca)
CC	1,7 ± 0,1 <sup>a</sup>	4,6 ± 0,4 <sup>a</sup>
CP	1,7 ± 0,1 <sup>a</sup>	4,5 ± 0,5 <sup>a</sup>
GC	1,4 ± 0,0 <sup>a</sup>	4,4 ± 0,1 <sup>a</sup>
GP	1,5 ± 0,1 <sup>a</sup>	4,5 ± 0,5 <sup>a</sup>
<b>Tempo 120</b>		
CC	1,4 ± 0,1 <sup>a</sup>	4,5 ± 0,7 <sup>a</sup>
CP	1,3 ± 0,1 <sup>a</sup>	3,5 ± 0,2 <sup>a</sup>
GC	1,4 ± 0,4 <sup>a</sup>	3,8 ± 0,4 <sup>a</sup>
GP	1,4 ± 0,1 <sup>a</sup>	3,7 ± 0,1 <sup>a</sup>

\*Média ± desvio padrão

Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa (P>0,05).

CC: cru adicionado de colorífico, CP: cru sem adição de colorífico, GC: grelhado adicionado de colorífico, GP: grelhado sem adição de colorífico.

Os teores de lipídios totais obtidos para o peito de frango cru foram semelhantes aos encontrados por Torres et al. (2000) (1,84 g/100g) e por Racanicci et al. (2004) (1,4 g/100g). Teores mais elevados de lipídios totais foram verificados em peito de frango com pele (BRUM, 2004) e em carne de peito e coxa de frango alimentados com diferentes fontes lipídicas (BONOLI et al., 2007).

## 5.5 Análise objetiva de cor

A análise de cor foi avaliada para cada um dos tratamentos, CC (FIGURA 10), GC (FIGURA 11), CP (FIGURA 12) e GP (FIGURA 13) e os resultados foram

agrupados de acordo com os atributos avaliados, L\* (TABELA 7), a\* (TABELA 8) e b\* (TABELA 9).

Quanto à variação de luminosidade ao longo do tempo de armazenamento as amostras cruas apresentaram maiores valores após 25 e 29 dias de armazenamento, para os tratamentos CC e CP, respectivamente. O tratamento GC não apresentou diferença significativa ( $P>0,05$ ) para os valores de luminosidade ao longo do tempo de armazenamento. No tratamento GP os valores observados após 15, 25 e 60 dias de armazenamento apresentaram diferença significativa ( $P<0,05$ ) dos demais tempos.

Para a variação de intensidade de vermelho, o tratamento CC não apresentou variação significativa ( $P>0,05$ ) até o tempo 25, a partir daí as medidas apresentaram maior variação. Na amostra crua sem a adição de corante o comportamento para a intensidade de vermelho foi aleatório durante os 120 dias. Nos tratamentos grelhados não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ) para o atributo a\* ao longo do tempo de armazenamento, exceto no tratamento GP, após 25 dias de armazenamento.

Nas amostras cruas a intensidade de amarelo (b\*) não teve comportamento uniforme ao longo do tempo, apresentando valores mínimos no tempo 25. Para as amostras grelhadas não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ) ao longo do tempo, somente o tratamento GP apresentou diferença significativa ( $P<0,05$ ) após 25 dias de armazenamento.

Ao compararmos os tratamentos entre si, para cada um dos atributos GC e GP não apresentaram diferença significativa ( $P>0,05$ ) quanto à luminosidade (TABELA 7) nos tempos 9, 25, 29 e 60 após o processamento. Para os demais tempos e tratamentos houve diferença significativa ( $P<0,05$ ).

Para a intensidade de vermelho, as amostras sem a adição de corante, foram iguais significativamente após 0, 9, 25, 60 e 120 dias de armazenamento. Já as amostras adicionadas de corante não apresentaram diferença significativa ( $P>0,05$ ) no tempo 90, para os demais tratamentos e tempos houve diferença significativa ( $P<0,05$ ).

Quanto à intensidade de amarelo, houve diferença significativa ( $P>0,05$ ) entre as amostras adicionadas de corante nos tempos 9, 12, 15 e 120 dias de armazenamento. Os tratamentos CP e GP apresentaram diferença significativa ( $P>0,05$ ) nos tempos 0, 25 e 120 dias de armazenamento a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

TABELA 7: Intensidade de luminosidade ( $L^*$ ) para os tratamentos durante 120 dias de armazenamento a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Tempo (dias)	CC	CP	GC	GP
	M $\pm$ DP*	M $\pm$ DP*	M $\pm$ DP*	M $\pm$ DP*
0	46,7 $\pm$ 1,0 <sup>d,e,D</sup>	52,2 $\pm$ 1,5 <sup>c,d,C</sup>	70,4 $\pm$ 1,3 <sup>a,B</sup>	74,3 $\pm$ 1,7 <sup>a,b,A</sup>
3	47,6 $\pm$ 0,4 <sup>b,c,d,e,C</sup>	49,1 $\pm$ 0,3 <sup>e,C</sup>	69,2 $\pm$ 0,2 <sup>a,B</sup>	73,0 $\pm$ 1,4 <sup>a,b,A</sup>
6	46,4 $\pm$ 0,8 <sup>d,e,D</sup>	51,4 $\pm$ 0,5 <sup>d,e,C</sup>	70,8 $\pm$ 0,7 <sup>a,B</sup>	73,0 $\pm$ 0,8 <sup>a,b,A</sup>
9	47,5 $\pm$ 1,1 <sup>b,c,d,e,C</sup>	51,2 $\pm$ 0,1 <sup>d,e,B</sup>	69,6 $\pm$ 1,6 <sup>a,A</sup>	72,4 $\pm$ 1,3 <sup>a,b,A</sup>
12	46,4 $\pm$ 1,8 <sup>d,e,D</sup>	53,7 $\pm$ 1,9 <sup>b,c,d,C</sup>	70,1 $\pm$ 0,6 <sup>a,B</sup>	74,9 $\pm$ 1,1 <sup>a,b,A</sup>
15	46,7 $\pm$ 0,3 <sup>d,e,D</sup>	54,6 $\pm$ 0,7 <sup>a,b,c,C</sup>	69,6 $\pm$ 0,3 <sup>a,B</sup>	75,6 $\pm$ 1,8 <sup>a,A</sup>
20	46,9 $\pm$ 1,3 <sup>c,d,e,D</sup>	53,5 $\pm$ 0,6 <sup>b,c,d,C</sup>	69,4 $\pm$ 2,5 <sup>a,B</sup>	73,8 $\pm$ 1,5 <sup>a,b,A</sup>
25	49,7 $\pm$ 0,7 <sup>a,b,c,C</sup>	57,3 $\pm$ 0,7 <sup>a,B</sup>	68,0 $\pm$ 0,2 <sup>a,A</sup>	65,7 $\pm$ 3,1 <sup>c,A</sup>
29	50,6 $\pm$ 1,0 <sup>a,C</sup>	56,0 $\pm$ 0,7 <sup>a,b,B</sup>	71,1 $\pm$ 3,0 <sup>a,A</sup>	75,1 $\pm$ 0,8 <sup>a,b,A</sup>
60	46,3 $\pm$ 0,7 <sup>e,C</sup>	51,1 $\pm$ 1,4 <sup>d,e,B</sup>	69,4 $\pm$ 1,0 <sup>a,A</sup>	71,6 $\pm$ 0,6 <sup>b,A</sup>
90	49,2 $\pm$ 0,6 <sup>a,b,c,d,D</sup>	53,1 $\pm$ 0,2 <sup>c,d,C</sup>	68,6 $\pm$ 1,1 <sup>a,B</sup>	75,1 $\pm$ 2,0 <sup>a,b,A</sup>
120	49,9 $\pm$ 1,0 <sup>a,b,D</sup>	53,6 $\pm$ 0,5 <sup>b,c,d,C</sup>	70,1 $\pm$ 0,5 <sup>a,B</sup>	74,6 $\pm$ 1,0 <sup>a,b,A</sup>

\*Média  $\pm$  desvio padrão

Médias seguidas por letras iguais minúsculas (maiúsculas) na mesma coluna (linha) não diferem entre si ( $P>0,05$ ).

CC: cru adicionado de corante, CP: cru sem adição de corante, GC: grelhado adicionado de corante, GP: grelhado sem adição de corante.

Em virtude da adição de corante, os tratamentos adicionados de corante tiveram maior intensidade de vermelho ( $a^*$ ) (TABELA 8) nas amostras cruas quando comparada à amostra sem a adição de corante. Entretanto, as amostras grelhadas adicionadas de corante apresentaram menor intensidade de vermelho do que as amostras cruas, porém mais intenso que as demais, o que comprova

que o colorífico confere maior intensidade de vermelho, e que o tratamento térmico não foi capaz de degradar o pigmento mesmo após os 120 dias de armazenamento a -18 °C.

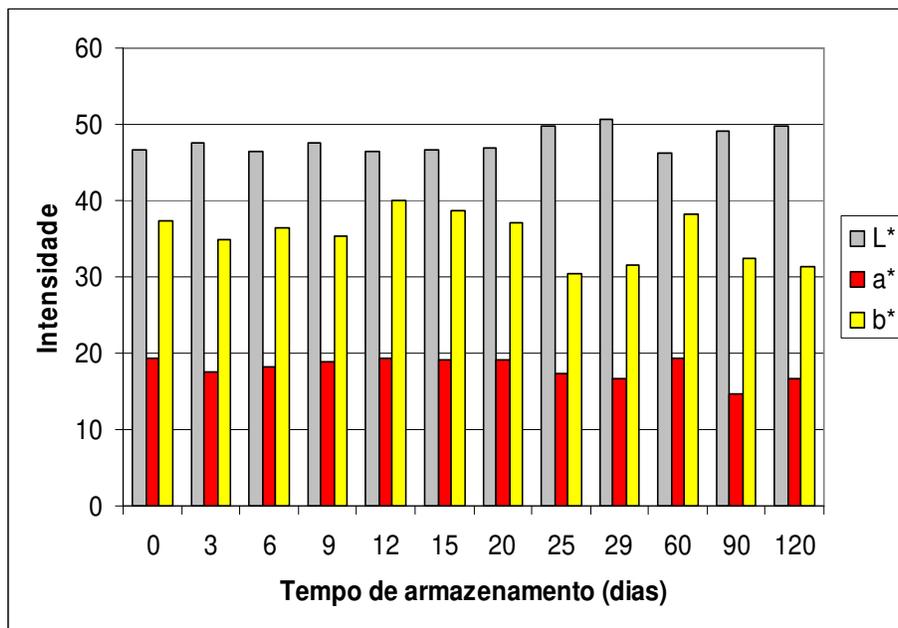


FIGURA 10 – Parâmetros de cor (L\*, a\*, b\*) obtidos em peito de frango cru adicionado de colorífico (CC) armazenado durante 120 dias a -18 °C.

CC: cru adicionado de colorífico, CP: cru sem adição de colorífico, GC: grelhado adicionado de colorífico, GP: grelhado sem adição de colorífico.

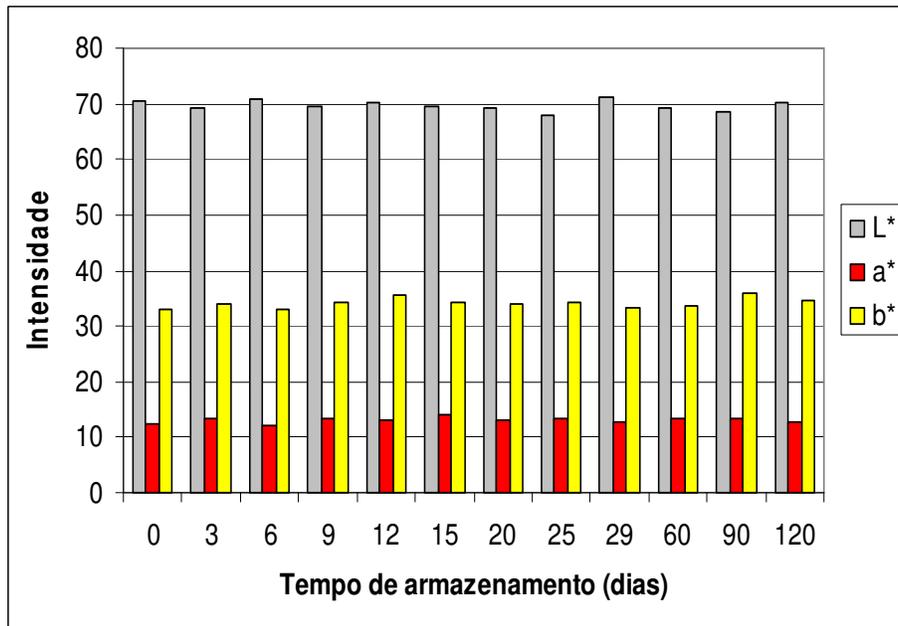


FIGURA 11 – Parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) obtidos em peito de frango grelhado adicionado de colorífico (GC) armazenado durante 120 dias a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

CC: cru adicionado de colorífico, CP: cru sem adição de colorífico, GC: grelhado adicionado de colorífico, GP: grelhado sem adição de colorífico.

TABELA 8: Intensidade de vermelho (a\*) para os tratamentos durante 120 dias de armazenamento a -18 °C.

Tempo (dias)	CC	CP	GC	GP
	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*
0	19,4 ± 0,5 <sup>a,A</sup>	7,3 ± 0,2 <sup>a,b,c,C</sup>	12,5 ± 1,0 <sup>a,B</sup>	5,8 ± 0,7 <sup>b,C</sup>
3	17,6 ± 0,6 <sup>a,b,A</sup>	8,9 ± 0,4 <sup>a,C</sup>	13,3 ± 1,4 <sup>a,B</sup>	4,9 ± 0,5 <sup>b,D</sup>
6	18,2 ± 0,8 <sup>a,b,A</sup>	7,9 ± 0,1 <sup>a,b,c,C</sup>	12,2 ± 0,0 <sup>a,B</sup>	4,5 ± 1,3 <sup>b,D</sup>
9	18,9 ± 0,9 <sup>a,b,A</sup>	6,2 ± 0,0 <sup>c,C</sup>	13,5 ± 0,7 <sup>a,B</sup>	5,7 ± 0,6 <sup>b,C</sup>
12	19,4 ± 0,9 <sup>a,A</sup>	7,6 ± 1,3 <sup>a,b,c,C</sup>	13,1 ± 1,2 <sup>a,B</sup>	4,3 ± 0,3 <sup>b,D</sup>
15	19,1 ± 0,3 <sup>a,A</sup>	8,3 ± 0,2 <sup>a,b,C</sup>	14,1 ± 0,6 <sup>a,B</sup>	4,0 ± 0,6 <sup>b,D</sup>
20	19,1 ± 0,5 <sup>a,A</sup>	7,5 ± 0,3 <sup>a,b,c,C</sup>	13,0 ± 0,6 <sup>a,B</sup>	4,8 ± 1,1 <sup>b,D</sup>
25	17,3 ± 1,0 <sup>a,b,A</sup>	7,3 ± 0,5 <sup>a,b,c,C</sup>	13,4 ± 0,8 <sup>a,B</sup>	9,6 ± 1,9 <sup>a,C</sup>
29	16,6 ± 1,0 <sup>b,c,A</sup>	7,6 ± 0,5 <sup>a,b,c,C</sup>	12,8 ± 1,7 <sup>a,B</sup>	3,9 ± 0,8 <sup>b,D</sup>
60	19,3 ± 1,1 <sup>a,A</sup>	8,5 ± 0,5 <sup>a,b,C</sup>	13,5 ± 0,5 <sup>a,B</sup>	6,3 ± 1,2 <sup>b,C</sup>
90	14,7 ± 0,9 <sup>c,A</sup>	6,8 ± 1,0 <sup>b,c,B</sup>	13,5 ± 0,4 <sup>a,A</sup>	4,3 ± 0,7 <sup>b,C</sup>
120	16,6 ± 0,3 <sup>b,c,A</sup>	6,1 ± 1,1 <sup>c,C</sup>	12,8 ± 0,1 <sup>a,B</sup>	4,6 ± 0,9 <sup>b,C</sup>

\*Média ± desvio padrão

Médias seguidas por letras iguais minúsculas (maiúsculas) na mesma coluna (linha) não diferem entre si (P>0,05).

CC: cru adicionado de colorífico, CP: cru sem adição de colorífico, GC: grelhado adicionado de colorífico, GP: grelhado sem adição de colorífico.

Uma maior intensidade de amarelo (b\*) também foi verificada na amostra crua adicionada de colorífico (TABELA 9). A concentração de pigmentos é muito baixa em carne de peito de frango, e essa baixa concentração, confere aparência amarelo pálido (BREWER, 2004). Entretanto a maior intensidade de amarelo na carne adicionada de colorífico em relação a que não sofreu adição deve-se a pigmentos amarelos naturalmente presentes no colorífico.

TABELA 9: Intensidade de amarelo (b\*) para os tratamentos durante 120 dias de armazenamento a -18 °C.

Tempo (dias)	CC	CP	GC	GP
	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*
0	37,4 ± 2,0 <sup>a,b,c,A</sup>	21,0 ± 0,5 <sup>c,d,C</sup>	32,9 ± 1,9 <sup>a,A</sup>	27,6 ± 2,6 <sup>a,b,B</sup>
3	34,9 ± 1,2 <sup>a,b,c,d,A</sup>	25,0 ± 0,1 <sup>a,B</sup>	34,1 ± 2,4 <sup>a,A</sup>	25,4 ± 0,5 <sup>b,B</sup>
6	36,4 ± 2,8 <sup>a,b,c,d,A</sup>	23,2 ± 0,5 <sup>a,b,c,B</sup>	32,8 ± 0,7 <sup>a,A</sup>	25,8 ± 2,1 <sup>b,B</sup>
9	35,4 ± 3,9 <sup>a,b,c,d,A</sup>	19,7 ± 0,2 <sup>d,B</sup>	34,3 ± 3,7 <sup>a,A,B</sup>	27,4 ± 2,8 <sup>a,b,B</sup>
12	40,0 ± 1,6 <sup>a,A</sup>	25,2 ± 0,7 <sup>a,C</sup>	35,6 ± 1,1 <sup>a,B</sup>	23,1 ± 2,1 <sup>b,C</sup>
15	38,6 ± 1,6 <sup>a,b,A</sup>	24,7 ± 0,5 <sup>a,C</sup>	34,2 ± 0,8 <sup>a,B</sup>	23,2 ± 2,7 <sup>b,C</sup>
20	37,1 ± 1,3 <sup>a,b,c,A</sup>	24,2 ± 0,5 <sup>a,B</sup>	33,8 ± 2,1 <sup>a,A</sup>	24,0 ± 1,6 <sup>b,B</sup>
25	30,4 ± 0,4 <sup>d,A</sup>	19,3 ± 0,6 <sup>d,B</sup>	34,3 ± 2,0 <sup>a,A</sup>	33,9 ± 3,1 <sup>a,A</sup>
29	31,6 ± 1,4 <sup>c,d,A</sup>	21,5 ± 0,9 <sup>b,c,d,B</sup>	33,2 ± 4,0 <sup>a,A</sup>	23,2 ± 1,0 <sup>b,B</sup>
60	38,3 ± 3,8 <sup>a,b,A</sup>	24,4 ± 0,6 <sup>a,B</sup>	33,6 ± 0,5 <sup>a,A</sup>	28,1 ± 0,5 <sup>a,b,B</sup>
90	32,5 ± 1,5 <sup>b,c,d,A</sup>	23,5 ± 2,0 <sup>a,b,B</sup>	35,9 ± 1,1 <sup>a,A</sup>	24,5 ± 4,0 <sup>b,B</sup>
120	31,4 ± 1,1 <sup>c,d,B</sup>	20,8 ± 0,8 <sup>d,D</sup>	34,6 ± 0,6 <sup>a,A</sup>	24,2 ± 1,0 <sup>b,C</sup>

\*Média ± desvio padrão

Médias seguidas por letras iguais minúsculas (maiúsculas) na mesma coluna (linha) não diferem entre si (P>0,05).

CC: cru adicionado de colorífico, CP: cru sem adição de colorífico, GC: grelhado adicionado de colorífico, GP: grelhado sem adição de colorífico.

Houben e Gerris (1998) avaliaram o efeito da suplementação de vitamina E na dieta sobre a estabilidade da cor em presunto fatiado pasteurizado e concluíram que na avaliação da descoloração em carne e produtos cárneos os parâmetros a\* e b\* podem ser considerados para quantificar tal fenômeno, enquanto os valores de L\* não são representativos.

Nas amostras grelhadas, a diferença entre as intensidades de amarelo e vermelho (FIGURA 11) foi marcante devido ao processamento térmico, já que nas amostras cruas sem a adição de colorífico (FIGURA 12) esta diferença é menor, sugerindo que o processamento térmico utilizado foi capaz de desnaturar a estrutura da mioglobina.

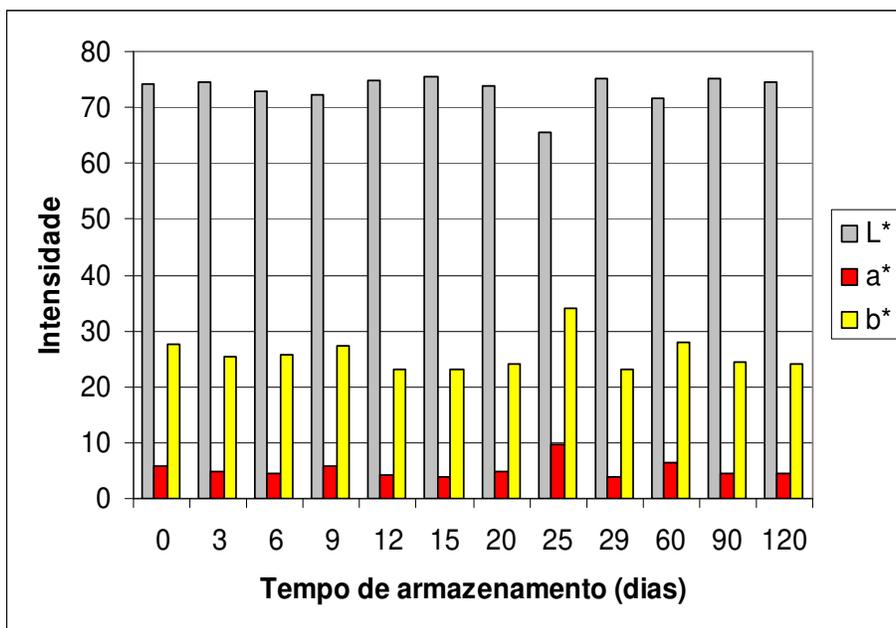


FIGURA 12 – Parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) obtidos em peito de frango grelhado (GP) armazenado durante 120 dias a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

CC: cru adicionado de colorífico, CP: cru sem adição de colorífico, GC: grelhado adicionado de colorífico, GP: grelhado sem adição de colorífico.

Brossi (2007) estudou a qualidade da carne em peito de frango com avaliação da cor, e encontrou valores de luminosidade ( $L^*$ ), bem próximos aos que foram encontrados no presente trabalho. Entretanto, os valores encontrados pelo autor, para os parâmetros  $a^*$  e  $b^*$ , foram inferiores aos aqui descritos, o que pode ser justificado pela diferença entre as amostras, sendo que no presente trabalho a amostra de carne foi triturada e no trabalho citado a avaliação da cor foi avaliada na carne fatiada.

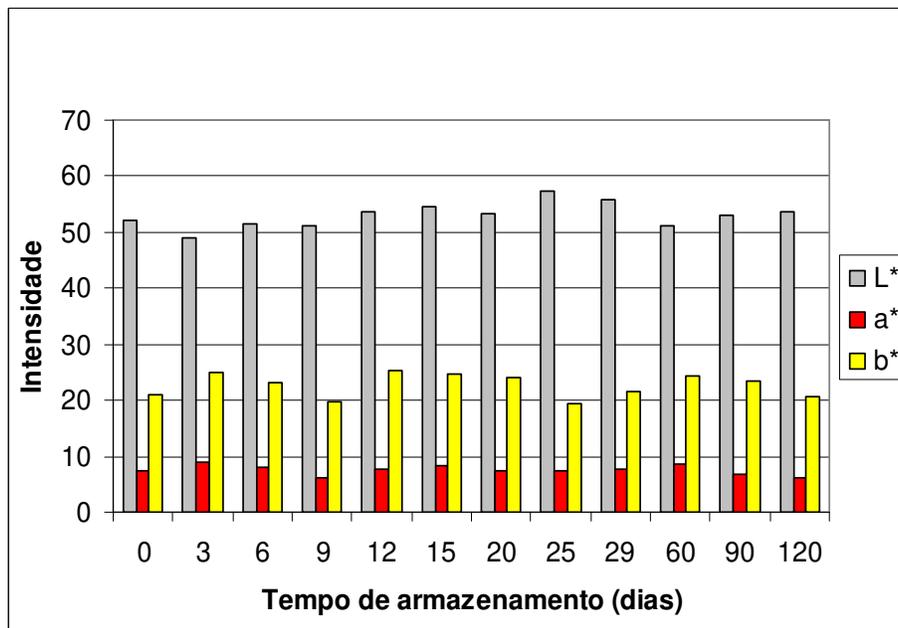


FIGURA 13 – Parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) obtidos em peito de frango cru (CP) armazenado durante 120 dias a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

CC: cru adicionado de colorífico, CP: cru sem adição de colorífico, GC: grelhado adicionado de colorífico, GP: grelhado sem adição de colorífico.

Os valores encontrados para  $a^*$  e  $b^*$  nas amostras grelhadas sem a adição de colorífico estão próximos aos valores obtidos por Jo et al. (2006), e para  $L^*$ , (TABELA 7) foram menores, no entanto, no trabalho de Jo et al. (2006) as amostras de peito foram cozidas em água e concluíram que o aumento da temperatura de cocção implica no aumento da luminosidade e da intensidade de amarelo. Por outro lado, a carne no presente trabalho foi grelhada, submetida a uma temperatura maior que a cozida, que pode favorecer a reação de Maillard, e portanto, a formação de compostos escuros com conseqüente diminuição da luminosidade.

Wattanachant, Benjakul e Ledward (2005) estudaram o efeito do tratamento térmico na estrutura, textura e propriedades na carne de frango e concluíram que o acréscimo da temperatura ( $50\text{--}70\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) usada no tratamento térmico aumentou significativamente ( $P < 0,05$ ) os valores de  $L^*$  e  $b^*$ , porém não observaram mudança significativa ( $P > 0,05$ ) quando utilizaram temperaturas maiores. Os

mesmos autores encontraram valores de  $L^*$  próximos a 50, para carne crua de frango e valores maiores ou iguais a 70 para as amostras cozidas, o que está de acordo com os valores apresentados no presente trabalho.

## **5.6 Quantificação simultânea de colesterol e óxidos de colesterol**

Não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ) no teor de colesterol entre os tempos analisados durante a estocagem tanto para as amostras cruas, como para as grelhadas, independente da presença de colorífico.

Os tratamentos que foram grelhados apresentaram menor concentração de colesterol (base seca) o que pode ser justificado pela oxidação do colesterol, já que o tratamento térmico favorece esta reação. Os valores médios de colesterol em base seca para as amostras CC, CP, GC e GP foram 189, 189, 169 e 169 mg/100g (TABELA 10), e em base úmida: 50, 49, 53 e 53 mg/100g (TABELA 11), respectivamente.

TABELA 10: Teores de colesterol (mg/100g de carne, base seca) em peito de frango, cru ou grelhado, adicionado ou não de colorífico, armazenados a -18 °C durante 120 dias.

Tempo (dias)	CC	CP	GC	GP
	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*
0	185,6 ± 9,2 <sup>a</sup>	185,8 ± 10,0 <sup>a</sup>	175,8 ± 0,6 <sup>a</sup>	171,0 ± 0,6 <sup>a</sup>
1	187,9 ± 3,3 <sup>a</sup>	185,6 ± 9,8 <sup>a</sup>	165,7 ± 1,3 <sup>a</sup>	168,7 ± 7,8 <sup>a</sup>
3	189,6 ± 7,0 <sup>a</sup>	189,2 ± 5,7 <sup>a</sup>	171,0 ± 3,5 <sup>a</sup>	170,3 ± 1,1 <sup>a</sup>
6	186,4 ± 6,6 <sup>a</sup>	187,9 ± 2,2 <sup>a</sup>	173,1 ± 6,8 <sup>a</sup>	173,7 ± 4,7 <sup>a</sup>
12	184,9 ± 8,9 <sup>a</sup>	186,4 ± 4,7 <sup>a</sup>	173,5 ± 4,0 <sup>a</sup>	171,7 ± 3,0 <sup>a</sup>
15	188,9 ± 1,8 <sup>a</sup>	184,4 ± 5,0 <sup>a</sup>	166,5 ± 4,5 <sup>a</sup>	172,3 ± 6,8 <sup>a</sup>
20	182,2 ± 5,1 <sup>a</sup>	187,1 ± 1,2 <sup>a</sup>	168,1 ± 8,1 <sup>a</sup>	164,6 ± 1,4 <sup>a</sup>
25	199,0 ± 7,0 <sup>a</sup>	191,2 ± 8,5 <sup>a</sup>	171,7 ± 1,9 <sup>a</sup>	166,3 ± 3,6 <sup>a</sup>
29	194,9 ± 1,0 <sup>a</sup>	191,3 ± 5,2 <sup>a</sup>	165,7 ± 1,4 <sup>a</sup>	165,5 ± 0,8 <sup>a</sup>
60	195,9 ± 3,6 <sup>a</sup>	188,8 ± 3,7 <sup>a</sup>	163,9 ± 1,8 <sup>a</sup>	177,1 ± 0,6 <sup>a</sup>
90	192,7 ± 6,7 <sup>a</sup>	193,8 ± 4,3 <sup>a</sup>	169,8 ± 8,2 <sup>a</sup>	165,1 ± 1,7 <sup>a</sup>
120	184,5 ± 1,7 <sup>a</sup>	195,7 ± 4,7 <sup>a</sup>	171,0 ± 1,5 <sup>a</sup>	164,6 ± 3,2 <sup>a</sup>

\*Média ± desvio padrão

Médias de amostras em triplicata, comparando CC com CP e GC com GP, seguidas por mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey (P>0,05).

CC: cru adicionado de colorífico, CP: cru sem adição de colorífico, GC: grelhado adicionado de colorífico, GP: grelhado sem adição de colorífico.

TABELA 11: Teores de colesterol (mg/100g de carne, base úmida) em peito de frango, cru ou grelhado, adicionado ou não de colorífico, armazenados a -18 °C durante 120 dias.

Tempo (dias)	CC	CP	GC	GP
	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*
0	47,3 ± 1,4 <sup>a</sup>	46,3 ± 3,7 <sup>a</sup>	56,9 ± 2,1 <sup>a</sup>	55,6 ± 1,5 <sup>a</sup>
1	45,9 ± 3,7 <sup>a</sup>	47,5 ± 2,9 <sup>a</sup>	49,0 ± 0,6 <sup>a</sup>	49,1 ± 1,7 <sup>a</sup>
3	46,8 ± 1,6 <sup>a</sup>	50,0 ± 1,5 <sup>a</sup>	56,5 ± 1,2 <sup>a</sup>	53,4 ± 0,3 <sup>a</sup>
6	50,6 ± 2,3 <sup>a</sup>	53,6 ± 5,3 <sup>a</sup>	55,2 ± 3,5 <sup>a</sup>	52,8 ± 6,8 <sup>a</sup>
12	54,1 ± 8,2 <sup>a</sup>	49,0 ± 1,8 <sup>a</sup>	52,0 ± 1,3 <sup>a</sup>	51,5 ± 6,4 <sup>a</sup>
15	53,2 ± 0,1 <sup>a</sup>	53,9 ± 8,6 <sup>a</sup>	52,7 ± 7,3 <sup>a</sup>	56,8 ± 2,2 <sup>a</sup>
20	47,0 ± 2,1 <sup>a</sup>	47,4 ± 4,2 <sup>a</sup>	52,5 ± 3,9 <sup>a</sup>	52,8 ± 0,7 <sup>a</sup>
25	50,7 ± 5,2 <sup>a</sup>	48,2 ± 2,0 <sup>a</sup>	52,6 ± 0,4 <sup>a</sup>	53,7 ± 2,5 <sup>a</sup>
29	50,5 ± 0,6 <sup>a</sup>	48,6 ± 2,8 <sup>a</sup>	52,4 ± 0,9 <sup>a</sup>	52,3 ± 1,9 <sup>a</sup>
60	50,4 ± 1,1 <sup>a</sup>	49,0 ± 1,5 <sup>a</sup>	51,5 ± 2,3 <sup>a</sup>	55,2 ± 0,3 <sup>a</sup>
90	49,7 ± 1,7 <sup>a</sup>	51,2 ± 1,8 <sup>a</sup>	49,5 ± 1,9 <sup>a</sup>	52,7 ± 2,2 <sup>a</sup>
120	48,1 ± 1,0 <sup>a</sup>	47,7 ± 1,2 <sup>a</sup>	54,9 ± 2,5 <sup>a</sup>	51,4 ± 9,6 <sup>a</sup>

\*Média ± desvio padrão

Médias de amostras em triplicata, comparando CC com CP e GC com GP, seguidas por mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey (P>0,05).

CC: cru adicionado de colorífico, CP: cru sem adição de colorífico, GC: grelhado adicionado de colorífico, GP: grelhado sem adição de colorífico.

Os teores de colesterol obtidos em carne crua de frango estão de acordo com Bragagnolo e Rodriguez-Amaya (1995) que encontraram 58 mg/100g em carne branca de frango e com Al-Najdawi e Abdullah (2002) que obtiveram o mesmo valor em carne crua de frango manualmente e mecanicamente separada. Por outro lado, Conchillo, Ansorena e Astiasarán (2005) encontraram concentrações de colesterol maiores em peito de frango (78,93 mg/100g) após armazenamento a -18 °C por 90 dias. Estas discrepâncias são devidas às variações naturais da amostras influenciadas pela linhagem, idade e sistema de criação das aves.

Quando comparamos os teores de colesterol na carne grelhada (base úmida) do presente trabalho com a literatura observamos que valores maiores foram encontrados por Al-Najdawi e Abdullah (2002) que obtiveram 62 mg/100g e por Bragagnolo e Rodriguez-Amaya (1995) que quantificaram 75 mg/100g. Essas diferenças podem ser explicadas pelas diferentes condições de processamento

tais como temperatura de cozimento, temperatura interna da amostra, tempo de cozimento e tamanho da amostra.

Foram identificados e quantificados seis óxidos de colesterol os quais foram 25-OH, 7-ceto,  $\alpha$ -epóxi,  $\beta$ -epóxi, 7 $\alpha$ -OH e 7 $\beta$ -OH (TABELA 12 a 17).

O 25-OH foi detectado em todos os tratamentos e em todos os tempos de análise, exceto no tempo 6 para a amostra grelhada sem a adição de colorífico, com concentrações variando entre 0,41  $\mu\text{g/g}$  e 3,24  $\mu\text{g/g}$  de carne, em base seca (TABELA 12). Em geral, a estocagem não teve efeito nos teores de 25-OH independente do tratamento e também não foi observado aumento deste óxido após o tratamento térmico.

TABELA 12: Teores de 25-OH ( $\mu\text{g/g}$  de carne, base seca) em peito de frango cru ou grelhado, adicionado ou não de colorífico, armazenados a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 120 dias.

Tempo (dias)	CC	CP	GC	GP
	M $\pm$ DP*	M $\pm$ DP*	M $\pm$ DP*	M $\pm$ DP*
0	1,73 $\pm$ 0,31 <sup>b,c,A</sup>	1,65 $\pm$ 0,68 <sup>d,A</sup>	3,24 $\pm$ 0,8 <sup>a,A</sup>	2,00 $\pm$ 0,74 <sup>a,b,A</sup>
1	2,44 $\pm$ 0,05 <sup>a,b,c,A</sup>	0,41 $\pm$ 0,00 <sup>e,C</sup>	0,88 $\pm$ 0,19 <sup>d,B</sup>	2,68 $\pm$ 0,03 <sup>a,A</sup>
3	1,67 $\pm$ 0,81 <sup>b,c,B</sup>	2,96 $\pm$ 0,21 <sup>a,A</sup>	1,10 $\pm$ 0,46 <sup>d,B</sup>	2,08 $\pm$ 0,07 <sup>a,b,A,B</sup>
6	1,78 $\pm$ 0,76 <sup>a,b,c,A</sup>	3,14 $\pm$ 0,05 <sup>a,A</sup>	2,53 $\pm$ 0,87 <sup>a,b,A</sup>	ND
12	2,43 $\pm$ 0,76 <sup>a,b,c,A</sup>	1,70 $\pm$ 0,13 <sup>c,d,A,B</sup>	1,23 $\pm$ 0,31 <sup>c,d,B</sup>	1,97 $\pm$ 0,09 <sup>a,b,A,B</sup>
15	2,18 $\pm$ 0,27 <sup>a,b,c,A</sup>	1,66 $\pm$ 0,14 <sup>d,A,B</sup>	1,36 $\pm$ 0,21 <sup>b,c,d,B</sup>	1,64 $\pm$ 0,24 <sup>b,A,B</sup>
20	1,59 $\pm$ 0,01 <sup>b,c,A</sup>	2,16 $\pm$ 0,13 <sup>b,c,d,A</sup>	1,50 $\pm$ 0,19 <sup>b,c,d,A</sup>	1,87 $\pm$ 0,46 <sup>a,b,A</sup>
25	1,92 $\pm$ 0,55 <sup>a,b,c,A,B</sup>	2,86 $\pm$ 0,52 <sup>a,b,A</sup>	1,45 $\pm$ 0,12 <sup>b,c,d,B</sup>	1,62 $\pm$ 0,38 <sup>b,B</sup>
29	1,48 $\pm$ 0,00 <sup>c,B</sup>	2,44 $\pm$ 0,03 <sup>a,b,c,A</sup>	1,64 $\pm$ 0,36 <sup>b,c,d,B</sup>	2,07 $\pm$ 0,37 <sup>a,b,A,B</sup>
60	2,79 $\pm$ 0,19 <sup>a,b,A</sup>	2,85 $\pm$ 0,02 <sup>a,b,A</sup>	1,55 $\pm$ 0,24 <sup>b,c,d,C</sup>	1,97 $\pm$ 0,00 <sup>a,b,B</sup>
90	2,40 $\pm$ 0,09 <sup>a,b,c,A</sup>	2,16 $\pm$ 0,02 <sup>b,c,d,A</sup>	2,00 $\pm$ 0,43 <sup>a,b,c,d,A</sup>	1,91 $\pm$ 0,14 <sup>a,b,A</sup>
120	3,04 $\pm$ 0,21 <sup>a,A</sup>	2,38 $\pm$ 0,07 <sup>a,b,c,d,B</sup>	2,38 $\pm$ 0,18 <sup>a,b,c,B</sup>	1,79 $\pm$ 0,02 <sup>a,b,C</sup>
Média	2,12	2,18	1,74	2,03

\*Média  $\pm$  desvio padrão

Médias de amostras em triplicata seguidas por mesma letra minúscula (maiúscula) em cada coluna (linha) não diferem entre si pelo teste Tukey ( $P > 0,05$ ). ND: não detectado.

CC: cru adicionado de colorífico, CP: cru sem adição de colorífico, GC: grelhado adicionado de colorífico, GP: grelhado sem adição de colorífico.

Os teores médios de 7-ceto (TABELA 13) nas amostras grelhadas foram menores que nas amostras cruas demonstrando que o tratamento térmico não influenciou a formação deste óxido.

TABELA 13: Teores de 7-ceto ( $\mu\text{g/g}$  de carne, base seca) em peito de frango cru ou grelhado, adicionado ou não de colorífico, armazenados a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 120 dias.

Tempo (dias)	CC	CP	GC	GP
	M $\pm$ DP*	M $\pm$ DP*	M $\pm$ DP*	M $\pm$ DP*
0	0,80 $\pm$ 0,01 <sup>f,A</sup>	ND	0,57 $\pm$ 0,00 <sup>f,B</sup>	ND
1	1,68 $\pm$ 0,03 <sup>f,C</sup>	1,84 $\pm$ 0,00 <sup>e,C</sup>	6,10 $\pm$ 0,98 <sup>c,d,B</sup>	11,90 $\pm$ 0,11 <sup>a,b,A</sup>
3	1,33 $\pm$ 0,01 <sup>f,B</sup>	5,24 $\pm$ 0,00 <sup>d,e,A</sup>	ND	ND
6	18,62 $\pm$ 3,12 <sup>a,A</sup>	10,77 $\pm$ 2,43 <sup>c,d,A</sup>	15,95 $\pm$ 3,67 <sup>a,A</sup>	11,77 $\pm$ 3,28 <sup>a,b,A</sup>
12	10,60 $\pm$ 1,71 <sup>c,d,A,B</sup>	0,60 $\pm$ 0,00 <sup>e,C</sup>	8,55 $\pm$ 0,02 <sup>b,c,B</sup>	16,92 $\pm$ 5,55 <sup>a,A</sup>
15	13,61 $\pm$ 0,18 <sup>b,c,B</sup>	22,18 $\pm$ 0,02 <sup>a,A</sup>	16,60 $\pm$ 0,03 <sup>a,B</sup>	14,31 $\pm$ 3,07 <sup>a,B</sup>
20	14,21 $\pm$ 0,02 <sup>b,A</sup>	3,66 $\pm$ 0,06 <sup>e,C</sup>	0,81 $\pm$ 0,00 <sup>f,D</sup>	5,68 $\pm$ 0,00 <sup>b,c,B</sup>
25	8,16 $\pm$ 0,94 <sup>d,e,B</sup>	16,93 $\pm$ 5,15 <sup>a,b,c,A</sup>	2,42 $\pm$ 0,00 <sup>e,f,B</sup>	2,52 $\pm$ 0,00 <sup>c,B</sup>
29	ND	20,92 $\pm$ 0,09 <sup>a,A</sup>	7,54 $\pm$ 0,01 <sup>b,c,d,B</sup>	3,71 $\pm$ 0,01 <sup>c,C</sup>
60	13,03 $\pm$ 0,46 <sup>b,c,A</sup>	ND	ND	ND
90	12,71 $\pm$ 0,01 <sup>b,c,B</sup>	19,74 $\pm$ 3,81 <sup>a,b,A</sup>	9,68 $\pm$ 0,27 <sup>b,B,C</sup>	6,24 $\pm$ 0,07 <sup>b,c,C</sup>
120	5,61 $\pm$ 0,02 <sup>e,B</sup>	13,99 $\pm$ 2,75 <sup>b,c,A</sup>	4,68 $\pm$ 0,31 <sup>d,e,B</sup>	5,15 $\pm$ 0,47 <sup>b,c,B</sup>
Média	9,12	11,59	7,29	8,69

\*Média  $\pm$  desvio padrão

Médias de amostras em triplicata seguidas por mesma letra minúscula (maiúscula) em cada coluna (linha) não diferem entre si pelo teste Tukey ( $P > 0,05$ ). ND: não detectado.

CC: cru adicionado de colorífico, CP: cru sem adição de colorífico, GC: grelhado adicionado de colorífico, GP: grelhado sem adição de colorífico.

As médias das concentrações de  $7\alpha\text{-OH}$  (TABELA 14) foram maiores nas amostras cruas e grelhadas sem a adição de colorífico do que nas amostras cruas e grelhadas com adição de colorífico. Os teores de  $7\alpha\text{-OH}$  nas amostras grelhadas foram maiores que nas amostras cruas indicando que este óxido foi influenciado pela temperatura. Houve aumento gradativo dos teores de  $7\alpha\text{-OH}$  durante os primeiros 25 dias para todos os tratamentos, no entanto, após este período o comportamento não foi uniforme sendo que nas amostras grelhadas continuou

aumentando e depois diminuiu, nas amostras cruas com colorífico aumentou até 120 dias e nas amostras cruas sem colorífico diminuiu até 120 dias.

TABELA 14: Teores de 7 $\alpha$ -OH ( $\mu\text{g/g}$  de carne, base seca) em peito de frango cru ou grelhado, adicionado ou não de colorífico, armazenados a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 120 dias.

Tempo (dias)	CC	CP	GC	GP
	M $\pm$ DP*	M $\pm$ DP*	M $\pm$ DP*	M $\pm$ DP*
0	1,56 $\pm$ 0,02 <sup>c,d,B</sup>	1,49 $\pm$ 0,10 <sup>c,B</sup>	2,16 $\pm$ 0,00 <sup>e,f,g,A</sup>	1,15 $\pm$ 0,12 <sup>c,C</sup>
1	1,14 $\pm$ 0,00 <sup>d,C</sup>	ND	1,86 $\pm$ 0,20 <sup>f,g,B</sup>	2,46 $\pm$ 0,01 <sup>c,A</sup>
3	1,89 $\pm$ 0,01 <sup>c,B</sup>	1,45 $\pm$ 0,04 <sup>c,C</sup>	1,69 $\pm$ 0,29 <sup>g,B,C</sup>	2,42 $\pm$ 0,02 <sup>c,A</sup>
6	1,59 $\pm$ 0,07 <sup>c,d,A</sup>	1,51 $\pm$ 0,01 <sup>c,A</sup>	1,31 $\pm$ 0,52 <sup>g,A</sup>	1,42 $\pm$ 0,10 <sup>c,A</sup>
12	1,71 $\pm$ 0,02 <sup>c,C</sup>	1,25 $\pm$ 0,01 <sup>c,D</sup>	4,48 $\pm$ 0,01 <sup>c,B</sup>	5,14 $\pm$ 0,08 <sup>a,b,A</sup>
15	1,62 $\pm$ 0,02 <sup>c,d,C</sup>	1,65 $\pm$ 0,16 <sup>c,C</sup>	2,98 $\pm$ 0,38 <sup>e,f,B</sup>	6,14 $\pm$ 0,92 <sup>a,b,A</sup>
20	1,18 $\pm$ 0,01 <sup>d,B</sup>	1,73 $\pm$ 0,46 <sup>c,B</sup>	2,24 $\pm$ 0,00 <sup>e,f,g,B</sup>	4,82 $\pm$ 0,76 <sup>b,A</sup>
25	1,72 $\pm$ 0,19 <sup>c,C</sup>	3,29 $\pm$ 1,10 <sup>b,B,C</sup>	4,88 $\pm$ 0,01 <sup>b,c,A,B</sup>	6,06 $\pm$ 0,87 <sup>a,b,A</sup>
29	1,85 $\pm$ 0,00 <sup>c,B</sup>	4,98 $\pm$ 0,76 <sup>a,A</sup>	4,35 $\pm$ 0,39 <sup>c,d,A</sup>	5,62 $\pm$ 0,64 <sup>a,b,A</sup>
60	ND	ND	5,92 $\pm$ 0,42 <sup>a,b,A</sup>	6,79 $\pm$ 1,30 <sup>a,A</sup>
90	2,39 $\pm$ 0,23 <sup>b,B</sup>	3,05 $\pm$ 0,18 <sup>b,B</sup>	6,28 $\pm$ 0,98 <sup>a,A</sup>	2,71 $\pm$ 0,20 <sup>c,B</sup>
120	4,74 $\pm$ 0,46 <sup>a,A</sup>	1,13 $\pm$ 0,01 <sup>c,C</sup>	3,21 $\pm$ 0,24 <sup>d,e,B</sup>	1,08 $\pm$ 0,06 <sup>c,C</sup>
Média	1,94	2,15	3,45	3,82

\*Média  $\pm$  desvio padrão

Médias de amostras em triplicata seguidas por mesma letra minúscula (maiúscula) em cada coluna (linha) não diferem entre si pelo teste Tukey ( $P > 0,05$ ). ND: não detectado.

CC: cru adicionado de colorífico, CP: cru sem adição de colorífico, GC: grelhado adicionado de colorífico, GP: grelhado sem adição de colorífico.

Para o 7 $\beta$ -OH (TABELA 15) as concentrações médias foram maiores nas amostras cruas e menores nas amostras grelhadas ambas com adição de colorífico. Não houve aumento deste óxido com o tratamento térmico, no entanto, as amostras grelhadas com colorífico apresentaram menores teores do que as amostras grelhadas sem colorífico.

TABELA 15: Teores de 7 $\beta$ -OH ( $\mu\text{g/g}$  de carne, base seca) em peito de frango cru ou grelhado, adicionado ou não de colorífico, armazenados a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 120 dias.

	<b>CC</b>	<b>CP</b>	<b>GC</b>	<b>GP</b>
<b>Tempo (dias)</b>	<b>M <math>\pm</math> DP*</b>	<b>M <math>\pm</math> DP*</b>	<b>M <math>\pm</math> DP*</b>	<b>M <math>\pm</math> DP*</b>
0	2,79 $\pm$ 0,06 <sup>d,C</sup>	4,14 $\pm$ 0,03 <sup>d,e,B</sup>	9,71 $\pm$ 0,01 <sup>a,A</sup>	ND
1	4,41 $\pm$ 0,03 <sup>c,d,B</sup>	2,71 $\pm$ 0,01 <sup>f,C</sup>	ND	11,89 $\pm$ 0,19 <sup>a,A</sup>
3	5,13 $\pm$ 0,05 <sup>c,d,B</sup>	5,31 $\pm$ 0,03 <sup>c,d,A</sup>	ND	ND
6	ND	3,02 $\pm$ 0,01 <sup>e,f,A</sup>	2,02 $\pm$ 0,01 <sup>d,B</sup>	ND
12	16,92 $\pm$ 2,49 <sup>a,A</sup>	ND	7,29 $\pm$ 0,22 <sup>a,b,B</sup>	5,11 $\pm$ 0,81 <sup>d,B</sup>
15	8,17 $\pm$ 1,23 <sup>b,c,A</sup>	6,38 $\pm$ 0,41 <sup>c,B</sup>	5,54 $\pm$ 0,28 <sup>b,c,B</sup>	7,05 $\pm$ 0,21 <sup>c,A,B</sup>
20	ND	ND	ND	ND
25	15,11 $\pm$ 0,81 <sup>a,A</sup>	16,48 $\pm$ 0,35 <sup>a,A</sup>	ND	10,53 $\pm$ 0,35 <sup>b,B</sup>
29	ND	ND	ND	ND
60	16,18 $\pm$ 0,55 <sup>a</sup>	ND	ND	ND
90	5,10 $\pm$ 1,59 <sup>c,d,B</sup>	14,25 $\pm$ 1,48 <sup>b,A</sup>	4,33 $\pm$ 0,43 <sup>c,d,B,C</sup>	2,44 $\pm$ 0,41 <sup>e,C</sup>
120	12,11 $\pm$ 3,85 <sup>a,b,A</sup>	6,02 $\pm$ 0,71 <sup>c,B</sup>	8,05 $\pm$ 2,30 <sup>a,b,A,B</sup>	7,67 $\pm$ 0,37 <sup>c,A,B</sup>
<b>Média</b>	<b>9,55</b>	<b>7,29</b>	<b>6,16</b>	<b>7,45</b>

\*Média  $\pm$  desvio padrão

Médias de amostras em triplicata seguidas por mesma letra minúscula (maiúscula) em cada coluna (linha) não diferem entre si pelo teste Tukey ( $P > 0,05$ ). ND: não detectado.

CC: cru adicionado de colorífico, CP: cru sem adição de colorífico, GC: grelhado adicionado de colorífico, GP: grelhado sem adição de colorífico.

Os teores médios de  $\alpha$ -epóxi (TABELA 16) foram maiores nas amostras com adição de colorífico tanto nas cruas como grelhadas. As amostras grelhadas sem colorífico apresentaram teores médios maiores desde óxido do que as cruas sem colorífico, no entanto, o mesmo o mesmo não foi verificado nas amostras com adição de colorífico.

TABELA 16: Teores de  $\alpha$ -epóxi ( $\mu\text{g/g}$  de carne, base seca) em peito de frango cru ou grelhado, adicionado ou não de colorífico, armazenados a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 120 dias.

	<b>CC</b>	<b>CP</b>	<b>GC</b>	<b>GP</b>
<b>Tempo (dias)</b>	<b>M <math>\pm</math> DP*</b>	<b>M <math>\pm</math> DP*</b>	<b>M <math>\pm</math> DP*</b>	<b>M <math>\pm</math> DP*</b>
0	ND	ND	ND	ND
1	$0,33 \pm 0,01^{f,B}$	ND	ND	$8,30 \pm 0,11^{c,A}$
3	$5,96 \pm 0,04^{d,A}$	$1,65 \pm 0,01^{b,B}$	$6,26 \pm 0,52^{c,A}$	$1,64 \pm 0,00^{e,B}$
6	$16,63 \pm 0,30^{a,A}$	$4,23 \pm 0,92^{b,B}$	$2,26 \pm 0,01^{d,C}$	$1,64 \pm 0,01^{e,C}$
12	ND	ND	ND	ND
15	ND	ND	ND	ND
20	ND	ND	ND	$9,77 \pm 2,13^{b,c}$
25	$7,56 \pm 0,02^{c,d,C}$	$0,16 \pm 0,00^{b,D}$	$9,31 \pm 0,01^{b,B}$	$11,40 \pm 0,05^{b,A}$
29	$8,29 \pm 0,04^{c,A}$	$0,23 \pm 0,00^{b,C}$	ND	$5,90 \pm 0,12^{d,B}$
60	ND	ND	ND	$13,68 \pm 0,23^a$
90	$14,74 \pm 1,57^{b,A,B}$	$16,61 \pm 5,42^{a,A}$	$7,95 \pm 0,01^{b,c,B}$	$15,47 \pm 0,12^{a,A}$
120	$3,08 \pm 0,01^{e,C}$	$10,81 \pm 0,00^{a,B}$	$15,38 \pm 1,37^{a,A}$	$3,39 \pm 0,02^{e,C}$
Média	8,08	5,62	8,23	7,91

\*Média  $\pm$  desvio padrão

Médias de amostras em triplicata seguidas por mesma letra minúscula (maiúscula) em cada coluna (linha) não diferem entre si pelo teste Tukey ( $P > 0,05$ ). ND: não detectado.

CC: cru adicionado de colorífico, CP: cru sem adição de colorífico, GC: grelhado adicionado de colorífico, GP: grelhado sem adição de colorífico.

As maiores concentrações média de  $\beta$ -epóxi (TABELA 17) foram encontradas nas amostras grelhadas sem adição de colorífico. O tratamento térmico não afetou a formação deste óxido nas amostras com adição de colorífico, mas, teve influência nas amostras grelhadas sem adição de colorífico, uma vez que os teores médios encontrados, mas amostras grelhadas foram maiores que nas amostras cruas.

TABELA 17: Teores de  $\beta$ -epóxi ( $\mu\text{g/g}$  de carne, base seca) em peito de frango cru ou grelhado, adicionado ou não de colorífico, armazenados a  $-18\text{ }^\circ\text{C}$  durante 120 dias.

	CC	CP	GC	GP
Tempo (dias)	M $\pm$ DP*	M $\pm$ DP*	M $\pm$ DP*	M $\pm$ DP*
0	ND	ND	ND	ND
1	ND	ND	5,11 $\pm$ 0,03 <sup>e,A</sup>	4,20 $\pm$ 0,04 <sup>e,B</sup>
3	ND	7,98 $\pm$ 0,11 <sup>a,A</sup>	ND	3,13 $\pm$ 0,46 <sup>e,B</sup>
6	3,13 $\pm$ 0,05 <sup>d,B</sup>	5,33 $\pm$ 0,01 <sup>c,A</sup>	ND	ND
12	ND	ND	10,53 $\pm$ 0,02 <sup>b,B</sup>	19,75 $\pm$ 1,51 <sup>c,A</sup>
15	ND	6,89 $\pm$ 0,09 <sup>b,B</sup>	6,96 $\pm$ 0,02 <sup>d,B</sup>	11,49 $\pm$ 1,26 <sup>d,A</sup>
20	ND	ND	ND	18,64 $\pm$ 3,17 <sup>c</sup>
25	ND	ND	ND	28,21 $\pm$ 5,08 <sup>b</sup>
29	ND	ND	8,24 $\pm$ 0,07 <sup>c,B</sup>	36,90 $\pm$ 0,47 <sup>a,A</sup>
60	15,49 $\pm$ 0,07 <sup>a,B</sup>	ND	9,34 $\pm$ 0,09 <sup>c,C</sup>	27,66 $\pm$ 0,08 <sup>b,A</sup>
90	7,13 $\pm$ 0,01 <sup>c,B</sup>	ND	ND	14,41 $\pm$ 1,06 <sup>c,d,A</sup>
120	10,56 $\pm$ 0,07 <sup>b,C</sup>	3,92 $\pm$ 0,42 <sup>d,D</sup>	13,12 $\pm$ 1,04 <sup>a,B</sup>	20,13 $\pm$ 0,97 <sup>c,A</sup>
Média	9,08	6,03	8,88	18,45

\*Média  $\pm$  desvio padrão

Médias de amostras em triplicata seguidas por mesma letra minúscula (maiúscula) em cada coluna (linha) não diferem entre si pelo teste Tukey ( $P > 0,05$ ). ND: não detectado.

CC: cru adicionado de colorífico, CP: cru sem adição de colorífico, GC: grelhado adicionado de colorífico, GP: grelhado sem adição de colorífico.

Nota-se que as concentrações principalmente dos óxidos  $7\alpha$ ,  $7\beta$ ,  $\alpha$ -epóxi e  $\beta$ -epóxi nas amostras cruas, são menores nos tempos iniciais, porém ao longo do tempo de armazenamento as concentrações dos mesmos aumentam e chegam a concentrações semelhantes às encontradas nas amostras submetidas a tratamento térmico. Deste modo, o tempo de armazenamento longo pode ser um fator tão importante quanto o tratamento térmico na formação de óxidos de colesterol.

O colorífico não exerceu efeito protetor na oxidação do colesterol em amostra crua adicionada do mesmo, pois a média total de óxidos de colesterol, para o tratamento cru adicionado de colorífico, foi 39,89  $\mu\text{g/g}$ , superior ao encontrado para a amostra crua sem a adição do colorífico, 34,86  $\mu\text{g/g}$ , após 120 dias de armazenamento a  $-18\text{ }^\circ\text{C}$  (TABELA 18). Por outro lado, para as amostras

grelhadas, a adição de colorífico foi eficiente no controle da oxidação do colesterol, já que houve redução de 35% na formação dos produtos da oxidação do colesterol para o tratamento grelhado com a adição de colorífico.

TABELA 18: Teores totais médios de óxidos ( $\mu\text{g/g}$  de carne, base seca) em peito de frango cru ou grelhado, adicionado ou não de colorífico, armazenados a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 120 dias.

<b>Óxido de colesterol</b>	<b>CC</b>	<b>CP</b>	<b>GC</b>	<b>GP</b>
25-OH	2,12	2,18	1,74	2,03
7-ceto	9,12	11,59	7,29	8,69
7 $\alpha$ -OH	1,94	2,15	3,45	3,82
7 $\beta$ -OH	9,55	7,29	6,16	7,45
$\alpha$ -epóxi	8,08	5,62	8,23	7,91
$\beta$ -epóxi	9,08	6,03	8,88	18,45
Total	39,89	34,86	35,75	48,35

Conchillo, Ansorena e Astiasarán (2003) verificaram aumento nos níveis de óxidos de colesterol com o cozimento. No entanto, observaram que a estocagem a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  resultou em aumento de 4 a 7 vezes maior nas carnes cruas e cozidas.

Mariutti et al. (2008) identificaram e quantificaram pela primeira vez os óxidos 22R-OH, 24S-OH, 22S-OH e 26-OH em carne de frango tanto em amostras cruas como cozidas. Por outro lado, Baggio e Bragagnolo (2005a,b) não verificaram a formação de óxidos de colesterol em produtos de frango processados submetidos a tratamento térmico ou durante a estocagem e concluíram que a presença do antioxidante eritorbato de sódio em todos os produtos evitou a oxidação do colesterol.

Conchillo, Ansorena e Astiasarán (2005), quantificaram os seguintes óxidos de colesterol: 25-OH, 7-ceto, 7 $\alpha$ , 7 $\beta$ ,  $\alpha$ -epóxi,  $\beta$ -epóxi e colestanoetriol, em carne crua e grelhada de frango, 90 dias após o processamento. Os valores encontrados ( $\mu\text{g/g}$ ) para amostras cruas e grelhadas foram, 0,23 e 0,35 para o 25-OH, 0,55 e 12,58 para o 7-ceto, 0,2 e 2,43, para o  $\alpha$ -epóxi, 2,69 e 3,96 para o  $\beta$ -epóxi, 1,31 e

2,47 para o 7 $\alpha$ -OH e 1,49 e 6,32 para o 7 $\beta$ -OH, respectivamente, os quais em geral foram menores que os obtidos no presente trabalho.

A maioria dos trabalhos encontrados em literatura avaliou o efeito protetor de antioxidantes naturais na ração dos animais e outros a degradação oxidativa em carnes adicionadas de antioxidantes naturais, mas não realizaram a quantificação de óxidos de colesterol.

Galvin, Morrissey e Buckley (1998) analisaram a influência de dietas suplementadas de  $\alpha$ -tocoferol e a relação com óxidos de colesterol em carne de frango, e observaram a formação de 7-ceto em carnes, após 12 dias de armazenamento a 4 °C, independente do nível de suplementação. Buckley, Morrissey e Gray (1995) verificaram que a suplementação de  $\alpha$ -tocoferol a partir de 100 mg/kg foi capaz de reduzir significativamente ( $P < 0,05$ ) a formação de 7-ceto, 7 $\beta$ -OH e  $\beta$ -epóxi, em carne suína pré-cozida e refrigerada por 4 dias.

Akhtar et al. (1998) estudaram os efeitos da adição de  $\alpha$ -tocoferol na dieta e aplicação de extrato de alecrim na superfície do músculo antes do cozimento de peixes (truta arco-íris) na formação de óxidos de colesterol. Os autores identificaram e quantificaram 7-ceto,  $\alpha$ -epóxi,  $\beta$ -epóxi e 7 $\beta$ -OH e concluíram que a combinação do  $\alpha$ -tocoferol na dieta e a imersão dos filés em 2% de óleo-resina de alecrim antes do cozimento produziu efeito protetor na estabilidade oxidativa do colesterol.

Britt et al. (1998) avaliaram a influência de duas variedades de cereja na oxidação lipídica em hambúrguer bovino cru e grelhado armazenados no escuro a 4 °C por 4 dias. Para todos os tempos, os óxidos de colesterol foram detectados em maior concentração na amostra sem a adição de cereja sugerindo que os tecidos da cereja possuem compostos com atividade antioxidante na prevenção de produtos da oxidação do colesterol em hambúrgueres cozidos formulados com carne bovina e armazenados sob refrigeração.

## 5.7 Quantificação de ácidos graxos

A análise de ácidos graxos foi realizada em dois tempos, com um intervalo de 60 dias entre cada uma das medidas, cujos resultados expressos em mg/100g de peito de frango encontram-se nas Tabelas 19, 20, 21 e 22.

Foram detectados e quantificados ácidos graxos saturados de cadeia curta (TABELA 19), com 12, 14 e 15 carbonos, sendo que o C14:0 apresentou concentrações superiores aos C12:0 e C15:0, em torno de 12 mg/100g de carne (base seca), apesar dos valores encontrados para estes ácidos graxos não apresentarem diferença significativa ( $P>0,05$ ) entre os tratamentos.

Dentre os ácidos graxos saturados o C16:0 foi o majoritário sendo identificado em todos os tratamentos e tempos de análise. As concentrações não apresentaram diferença significativa ( $P>0,05$ ) entre as amostras cruas bem como entre as amostras grelhadas, além disso, o teor encontrado para o tratamento GC, no tempo inicial não diferiu significativamente ( $P>0,05$ ) das amostras cruas. A concentração de C16:0 variou de 633 a 647 mg/100g e de 561 a 590 mg/100g (em base seca) para as amostras cruas e grelhadas, respectivamente.

O ácido graxo C18:0 foi quantificado em todos os tempos e tratamentos, sendo depois do C16:0 o ácido graxo saturado mais abundante em carne de frango. Os resultados obtidos entre as amostras grelhadas e entre as amostras cruas durante o tempo de armazenamento não diferiram significativamente ( $P>0,05$ ). Os teores encontrados para as amostras cruas foram de 164 a 178 mg/100g, e para as amostras grelhadas de 148 a 153 mg/100g (base seca).

Outros ácidos graxos saturados como C20:0 e C22:0 foram encontrados em menor concentração e os C23:0 e C24:0 foram detectados nas amostras grelhadas, em teores inferiores a 1,3 mg/100g (base seca).

Os principais ácidos graxos monoinsaturados encontrados nas amostras de peito de frango foram C18:1n9, C16:1n7 e C24:1 (TABELA 20). Os ácidos graxos C14:1, C17:1, C20:1 e C22:1n9 foram detectados em concentrações inferiores a 5 mg/100g (base seca).

O ácido palmitoléico (C16:1n7) foi quantificado em todos os tempos e tratamentos, sendo que nas concentrações encontradas para um mesmo tratamento houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre o tempo inicial e final, exceto para o tratamento CC, no qual não houve redução significativa ( $P > 0,05$ ). O C16:1n7 é característico de carne de frango cuja concentração no tempo inicial foi em torno de 70 mg/100g, para todos os tratamentos.

O C18:1n9c foi o monoinsaturado majoritário sendo detectado nas amostras adicionadas de colorífico, na ordem de 481 a 652 mg/100g e nas amostras sem a adição de colorífico de 317 a 562 mg/100g (base seca). No tempo inicial não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre as amostras grelhadas e cruas adicionadas de colorífico, bem como entre as amostras cruas e grelhadas sem a adição.

O ácido graxo C24:1, presente em concentrações superiores a 40 mg/100g (base seca) apresentou diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tempos inicial e final, apenas para o tratamento CP.

Foram encontrados dois ácidos graxos *trans*, C18:1n9t e C18:2n9t (TABELA 21), sendo o C18:1n9t observado em todas as amostras e o C18:2n9t encontrado em concentrações de traços apenas nas amostras grelhadas. As concentrações de C18:1n9t no tempo inicial para todas as amostras não diferiram significativamente ( $P > 0,05$ ) entre si, havendo redução significativa ( $P < 0,05$ ) nas concentrações de C18:1n9t apenas para o tratamento GP. A presença de ácidos graxos *trans* em carne de frango é de origem alimentar, ou seja, a deposição deve-se à presença destes ácidos na dieta ministrada para as aves. Bertuzzi (1998) verificou que a qualidade e o tipo de ácidos graxos adicionados à dieta afetam a qualidade e a composição da gordura corporal de frangos.

O C18:2n6 foi o ácido graxo poliinsaturado (TABELA 22) predominante nas amostras, apresentando concentração inicial superior a 277 mg/100g em todos os tratamentos. No tempo inicial as concentrações de C18:2n6 nas amostras cruas não diferiram entre si ( $P > 0,05$ ), da mesma forma para as amostras grelhadas. Todos os tratamentos apresentaram diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre a concentração inicial e final, exceto o tratamento CC.

Para o C18:3n6 houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre as concentrações encontradas nos tempos iniciais e finais, para o mesmo tratamento, porém, não foi detectada no tratamento CP.

O tratamento CC não apresentou diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre os tempos, para o C18:3n3, para os demais tratamentos houve redução significativa ( $P < 0,05$ ).

Nos tratamentos que foram grelhados as concentrações iniciais de C20:2 não apresentaram diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre si, da mesma forma para o tempo final.

As amostras adicionadas de colorífico não apresentaram redução significativa ( $P > 0,05$ ) de C20:3n6, entre os valores observados nos tempo inicial e final, nos demais tratamentos e tempos a diferença foi significativa ( $P < 0,05$ ).

Ácidos graxos poliinsaturados em menores concentrações foram detectados, tais como C20:3n3 e C22:2, encontrados apenas no tratamento GP, em ambos os tempos, enquanto o C20:4n6 só foi detectado no tratamento CC, em ambos os tempos, e em concentrações de traço nas amostras grelhadas adicionadas de colorífico. O C20:5n3 foi detectado nos tratamentos CC e GP, não apresentando diferença significativa ( $P > 0,05$ ) para cada um dos tempos.

Ocorreu redução significativa ( $P < 0,05$ ) na concentração de C22:6n3 em todos os tratamentos, exceto para o tratamento GC, sendo este o ácido graxo presente nas amostras com o maior número de insaturações.

Considerando a soma total de ácidos graxos insaturados (TABELA 23) podemos verificar que a adição de colorífico em peito de frango foi eficiente em preservar estes ácidos graxos durante o tempo de estocagem das amostras cruas, quando comparadas com as amostras que não foram adicionadas de colorífico apresentaram maior redução do que as com adição de colorífico.

Os teores de ácidos graxos saturados e monoinsaturados, encontrados para carne de peito crua no presente trabalho, foram semelhantes aos reportados na tabela Taco (2006), diferindo no teor de poliinsaturados, pois na tabela foram detectados traços, enquanto no presente trabalho foram quantificados aproximadamente 385 mg/100 g de carne (base seca).

TABELA 19: Concentração de ácidos graxos saturados (mg/100g, base seca) em peito de frango adicionado ou não de colorífico, cru ou grelhado, nos tempos inicial (i) e final (f), após 60 dias.

	<b>CCi</b>	<b>CC f</b>	<b>CP i</b>	<b>CP f</b>	<b>GC i</b>	<b>GC f</b>	<b>GP i</b>	<b>GP f</b>
<b>Ácido graxo</b>	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*
<b>C 12:0</b>	0,99 ± 0,31 <sup>a,b</sup>	0,84 ± 0,05 <sup>a,b</sup>	1,09 ± 0,19 <sup>a,b</sup>	1,14 ± 0,09 <sup>a,b</sup>	0,89 ± 0,07 <sup>a,b</sup>	0,78 ± 0,20 <sup>b</sup>	1,26 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,24 ± 0,12 <sup>a</sup>
<b>C14:0</b>	12,01 ± 0,16 <sup>a</sup>	12,05 ± 0,55 <sup>a</sup>	11,19 ± 0,06 <sup>a</sup>	11,34 ± 0,63 <sup>a</sup>	11,88 ± 0,22 <sup>a</sup>	12,08 ± 0,04 <sup>a</sup>	11,52 ± 0,63 <sup>a</sup>	11,35 ± 1,00 <sup>a</sup>
<b>C15:0</b>	2,01 ± 0,06 <sup>b</sup>	2,39 ± 0,01 <sup>a,b</sup>	ND	ND	2,77 ± 0,11 <sup>a</sup>	2,60 ± 0,12 <sup>a</sup>	2,60 ± 0,45 <sup>a</sup>	2,43 ± 0,00 <sup>a,b</sup>
<b>C16:0</b>	647,19 ± 14,72 <sup>a</sup>	636,82 ± 15,69 <sup>a</sup>	633,37 ± 2,06 <sup>a,b</sup>	634,93 ± 14,11 <sup>a,b</sup>	590,17 ± 21,67 <sup>a,b,c</sup>	570,97 ± 4,71 <sup>b,c</sup>	561,08 ± 40,92 <sup>c</sup>	562,55 ± 37,64 <sup>c</sup>
<b>C17:0</b>	2,09 ± 0,69 <sup>a</sup>	1,79 ± 0,07 <sup>a</sup>	2,38 ± 0,38 <sup>a</sup>	2,22 ± 0,38 <sup>a</sup>	2,94 ± 0,33 <sup>a</sup>	2,21 ± 0,72 <sup>a</sup>	2,37 ± 0,49 <sup>a</sup>	2,41 ± 1,00 <sup>a</sup>
<b>C18:0</b>	175,68 ± 0,98 <sup>a,b</sup>	178,40 ± 1,59 <sup>a</sup>	164,44 ± 0,80 <sup>b,c</sup>	168,41 ± 2,49 <sup>a,b</sup>	150,66 ± 0,82 <sup>d</sup>	153,13 ± 3,41 <sup>c,d</sup>	148,31 ± 11,51 <sup>d</sup>	151,05 ± 5,26 <sup>c,d</sup>
<b>C20:0</b>	4,39 ± 0,37 <sup>a</sup>	4,47 ± 0,03 <sup>a</sup>	ND	ND	4,04 ± 0,05 <sup>a</sup>	3,89 ± 1,16 <sup>a</sup>	3,30 ± 0,07 <sup>a</sup>	3,10 ± 0,44 <sup>a</sup>
<b>C22:0</b>	2,63 ± 0,03 <sup>b</sup>	2,53 ± 0,05 <sup>b</sup>	3,41 ± 0,66 <sup>b</sup>	3,37 ± 0,54 <sup>b</sup>	6,13 ± 0,56 <sup>a</sup>	6,43 ± 1,12 <sup>a</sup>	ND	ND
<b>C23:0</b>	ND	ND	ND	ND	0,65 ± 0,10 <sup>b</sup>	0,73 ± 0,19 <sup>b</sup>	1,25 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,90 ± 0,01 <sup>b</sup>
<b>C24:0</b>	ND	ND	ND	ND	0,81 ± 0,15 <sup>a</sup>	1,11 ± 0,20 <sup>a</sup>	1,05 ± 0,12 <sup>a</sup>	1,01 ± 0,03 <sup>a</sup>

\*Média ± desvio padrão

Médias numa mesma linha seguidas por letras iguais não possuem diferença significativa pelo teste Tukey (P>0,05). ND: não detectado.

CC: cru adicionado de colorífico, CP: cru sem adição de colorífico, GC: grelhado adicionado de colorífico, GP: grelhado sem adição de colorífico.

TABELA 20: Concentração de ácidos graxos monoinsaturados (mg/100g, base seca) em peito de frango adicionado ou não de colorífico nos tempos inicial (i) e final (f), após 60 dias.

Ácido graxo	CC i	CC f	CP i	CP f	GC i	GC f	GP i	GP f
	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*
<b>C14:1</b>	4,01 ± 0,73 <sup>a</sup>	2,27 ± 0,15 <sup>c,d</sup>	ND	ND	2,63 ± 0,35 <sup>b,c,d</sup>	1,58 ± 0,33 <sup>d</sup>	3,60 ± 0,48 <sup>a,b</sup>	2,98 ± 0,09 <sup>a,b,c</sup>
<b>C16:1n7</b>	75,96 ± 2,90 <sup>a,b</sup>	70,13 ± 2,17 <sup>a,b</sup>	73,34 ± 1,63 <sup>a,b</sup>	30,85 ± 0,05 <sup>c</sup>	65,42 ± 0,67 <sup>b</sup>	53,42 ± 10,40 <sup>c</sup>	79,88 ± 3,99 <sup>a</sup>	66,20 ± 0,20 <sup>c</sup>
<b>C17:1</b>	ND	ND	ND	ND	2,54 ± 0,32 <sup>a</sup>	tr	2,72 ± 0,50 <sup>a</sup>	tr
<b>C18:1n9c</b>	652,47 ± 6,33 <sup>a</sup>	604,83 ± 7,44 <sup>a,b</sup>	516,08 ± 8,34 <sup>c</sup>	317,43 ± 1,57 <sup>e</sup>	591,25 ± 53,33 <sup>a,b</sup>	481,99 ± 2,73 <sup>d</sup>	562,03 ± 40,54 <sup>b,c</sup>	506,68 ± 0,58 <sup>c,d</sup>
<b>C20:1</b>	5,00 ± 0,16 <sup>b</sup>	5,55 ± 0,08 <sup>a,b</sup>	4,85 ± 0,06 <sup>b</sup>	4,73 ± 0,06 <sup>b</sup>	7,17 ± 1,54 <sup>a</sup>	ND	ND	ND
<b>C22:1n9</b>	3,34 ± 0,01 <sup>b,c</sup>	2,52 ± 0,02 <sup>b,c</sup>	ND	ND	5,66 ± 0,09 <sup>a</sup>	4,95 ± 1,81 <sup>a,b</sup>	4,22 ± 0,97 <sup>a,b,c</sup>	2,16 ± 0,01 <sup>c</sup>
<b>C24:1</b>	77,45 ± 1,07 <sup>a</sup>	73,22 ± 0,11 <sup>a</sup>	53,30 ± 0,01 <sup>b</sup>	40,35 ± 0,30 <sup>d</sup>	52,19 ± 0,07 <sup>b,c</sup>	51,8 ± 5,15 <sup>b,c</sup>	50,89 ± 4,04 <sup>b,c</sup>	45,99 ± 0,16 <sup>c,d</sup>

\*Média ± desvio padrão

Médias numa mesma linha seguidas por letras iguais não possuem diferença significativa pelo teste Tukey (P>0,05). ND: não detectado. tr: traços.

TABELA 21: Concentração de ácidos graxos *trans* (mg/100g, base seca) em peito de frango adicionado ou não de colorífico nos tempos inicial (i) e final (f), após 60 dias.

Ácido graxo	CC i	CC f	CP i	CP f	GC i	GC f	GP i	GP f
	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*
<b>C18:1n9t</b>	9,38 ± 0,09 <sup>a,b</sup>	7,76 ± 0,16 <sup>a,b</sup>	11,09 ± 7,77 <sup>a,b</sup>	5,91 ± 0,91 <sup>a,b</sup>	8,55 ± 0,08 <sup>a,b</sup>	3,30 ± 0,68 <sup>b</sup>	12,83 ± 0,92 <sup>a</sup>	3,42 ± 0,09 <sup>b</sup>

Médias numa mesma linha seguidas por letras iguais não possuem diferença significativa pelo teste Tukey (P>0,05). ND: não detectado.

TABELA 22: Concentração de ácidos graxos poliinsaturados (mg/100g, base seca) em peito de frango adicionado ou não de colorífico nos tempos inicial (i) e final (f), após 60 dias.

	<b>CCi</b>	<b>CC f</b>	<b>CP i</b>	<b>CP f</b>	<b>GC i</b>	<b>GC f</b>	<b>GP i</b>	<b>GP f</b>
<b>Ácido graxo</b>	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*	M ± DP*
<b>C18:2n6c</b>	342,87 ± 10,37 <sup>a</sup>	347,40 ± 3,77 <sup>a</sup>	347,31 ± 0,84 <sup>a</sup>	187,91 ± 5,63 <sup>c</sup>	277,05 ± 1,41 <sup>b</sup>	131,88 ± 18,54 <sup>d</sup>	300,43 ± 20,96 <sup>b</sup>	93,90 ± 0,44 <sup>e</sup>
<b>C18:3n6</b>	4,77 ± 0,36 <sup>b</sup>	3,89 ± 0,05 <sup>b</sup>	ND	ND	8,32 ± 0,71 <sup>a</sup>	3,37 ± 1,12 <sup>b,c</sup>	4,85 ± 0,46 <sup>b</sup>	2,08 ± 0,08 <sup>c</sup>
<b>C18:3n3</b>	15,93 ± 0,30 <sup>a</sup>	15,82 ± 0,26 <sup>a</sup>	10,29 ± 0,01 <sup>b</sup>	4,25 ± 0,44 <sup>d</sup>	9,65 ± 0,05 <sup>b</sup>	7,25 ± 1,73 <sup>c</sup>	7,47 ± 0,64 <sup>c</sup>	3,47 ± 0,66 <sup>d</sup>
<b>C20:2</b>	8,67 ± 0,11 <sup>c</sup>	7,96 ± 0,06 <sup>d</sup>	14,66 ± 0,25 <sup>a</sup>	11,34 ± 0,36 <sup>b</sup>	7,24 ± 0,05 <sup>e</sup>	6,77 ± 0,52 <sup>e,f</sup>	7,47 ± 0,26 <sup>d,e</sup>	6,63 ± 0,02 <sup>f</sup>
<b>C20:3n6</b>	13,69 ± 0,24 <sup>c</sup>	12,64 ± 0,03 <sup>c,d</sup>	13,91 ± 0,03 <sup>a</sup>	10,80 ± 0,64 <sup>b</sup>	9,66 ± 0,01 <sup>d,e,f</sup>	6,56 ± 0,01 <sup>e,f</sup>	9,07 ± 0,17 <sup>d,e</sup>	7,18 ± 0,07 <sup>f</sup>
<b>C20:3n3</b>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1,26 ± 0,25 <sup>a</sup>	0,59 ± 0,06 <sup>b</sup>
<b>C20:4n6</b>	9,10 ± 0,33 <sup>a</sup>	3,62 ± 0,11 <sup>b</sup>	ND	ND	Tr	Tr	ND	ND
<b>C22:2</b>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,98 ± 0,24 <sup>a</sup>	0,58 ± 0,02 <sup>b</sup>
<b>C20:5n3</b>	2,39 ± 0,00 <sup>a</sup>	2,13 ± 0,17 <sup>a</sup>	ND	ND	ND	ND	2,49 ± 0,29 <sup>a</sup>	2,21 ± 0,12 <sup>a</sup>
<b>C22:6n3</b>	7,88 ± 0,10 <sup>a</sup>	4,65 ± 0,01 <sup>c</sup>	8,64 ± 0,38 <sup>a</sup>	3,77 ± 0,07 <sup>d</sup>	4,71 ± 0,15 <sup>b,c</sup>	4,24 ± 0,42 <sup>c,d</sup>	5,47 ± 0,49 <sup>b</sup>	4,03 ± 0,14 <sup>c,d</sup>

\*Média ± desvio padrão

Médias numa mesma linha seguidas por letras iguais não possuem diferença significativa pelo teste Tukey (P>0,05). ND: não detectado. tr: traços. CC: cru adicionado de colorífico, CP: cru sem adição de colorífico, GC: grelhado adicionado de colorífico, GP: grelhado sem adição de colorífico.

TABELA 23: Concentração média (mg/100g, base seca) de ácidos graxos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados e ácidos graxos *trans* em peito de frango adicionado ou não de colorífico, analisados crus e grelhados.

mg / 100g	CC i	CC f	Média ± DP	CP i	CP f	Média ± DP	GC i	GCf	Média ± DP	GPI	GP f	Média ± DP
<b>Saturados</b>	847,00	839,29	843,14± 5,44	815,88	821,41	818,6 ± 3,91	768,17	751,33	759,75± 11,91	732,74	736,39	734,39 ± 2,33
<b>Monoinsaturados</b>	824,72	766,04	795,38 ± 41,49	658,75	394,99	526,87± 186,51	725,77	591,52	658,65 ±94,93	711,37	624,01	667,69 ±61,77
<b>PUFA n6</b>	370,43	367,55	368,99 ± 2,04	361,22	198,71	279,96 ± 114,91	295,03	140,12	217,57 ± 109,54	314,5	103,16	± 149,33
<b>PUFA n3</b>	26,20	22,60	24,40 ± 2,54	18,93	8,02	13,47 ± 7,71	14,36	11,49	12,92 ± 2,03	16,69	10,30	13,49 ± 4,52
<b>PUFA</b>	405,3	398,11	401,71± 5,08	394,81	218,07	306,44± 124,97	316,63	158,38	237,51± 111,9	339,64	120,67	230,16± 154,84
<b>Ácidos graxos <i>trans</i></b>	9,38	7,76	8,57 ± 1,14	11,09	5,91	8,50± 3,66	8,55	3,30	5,92 ± 3,71	12,83	3,42	8,12 ± 6,65
<b>Insaturados</b>	1239,4	1171,91	1205,66± 47,72	1064,65	618,97	841,81 ± 315,14	1050,95	753,2	902,08 ± 210,54	1063,84	748,1	905,97 ± 223,26
<b>Relação</b>												
<b>PUFA n6/ PUFA n3</b>	14,14	16,26	15,20 ±1,50	19,08	24,78	21,93 ± 4,03	20,55	12,20	16,37± 5,90	18,84	10,01	14,43± 6,24
<b>PUFA / SAT</b>	0,48	0,47	0,48± 0,00	0,48	0,27	0,38± 0,15	0,41	0,21	0,31± 0,14	0,46	0,16	0,31± 0,21

CC: cru adicionado de colorífico, CP: cru sem adição de colorífico, GC: grelhado adicionado de colorífico, GP: grelhado sem adição de colorífico.

## 6. CONCLUSÕES

Os tratamentos adicionados de colorífico apresentaram maior intensidade de vermelho ( $a^*$ ) deixando o peito de frango mais colorido. A adição de 0,4% de colorífico em peito de frango foi suficiente para reduzir a formação de TBARS em amostras grelhadas e durante a estocagem destas amostras, no entanto, não foi verificado o mesmo efeito nas amostras cruas. O teor de bixina foi superior nas amostras cruas, evidenciando que o tratamento térmico utilizado foi capaz de degradar a bixina. A presença do colorífico foi capaz de manter o teor de vitamina E nas amostras submetidas a tratamento térmico, mas não durante a estocagem da carne grelhada. Foram identificados e quantificados 6 óxidos de colesterol sendo 25-OH, 7-ceto,  $\alpha$ -epóxi,  $\beta$ -epóxi,  $7\alpha$ -OH e  $7\beta$ -OH cujos teores nas carnes grelhadas adicionadas de colorífico foram menores que as carnes sem colorífico. Por outro lado, o tempo de armazenamento e o tratamento térmico favoreceram a degradação oxidativa do colesterol, elevando as concentrações de alguns destes óxidos. O processamento térmico adotado reduziu os teores de ácidos graxos poliinsaturados, independente da adição de colorífico, entretanto, as amostras adicionadas de colorífico apresentaram valores mais elevados de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados durante o armazenamento do que as amostras sem adição de colorífico. Os resultados obtidos confirmam o efeito antioxidante do colorífico na carne de frango.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADDIS, P. B.; PARK, P.W.; GUARDIOLA, F.; CODONY, R. Analysis and health effects of cholesterol oxides. In: McDONALD, R. E.; MIN, D.B.J.; eds. **Food Lipids and Health**. New York: Marcel Dekker, 99-240, 1996.

AKHTAR, P.; GRAY, I.; BOOREN, A. M.; GOMAA, E. A. The effects of dietary and surface application of oleoresin rosemary on lipid oxidation and cholesterol oxide formation in cooked rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle. **Journal of Food Lipids**, 5: 59-71, 1998.

AL-NAJDAWI, R.; ABDULLAH, B. Proximate composition, selected minerals, cholesterol content and lipid oxidation of mechanically and hand-deboned chickens from the Jordanian market. **Meat Science**, 61: 243-247, 2002.

ALMEIDA, J. C.; PERASSOLO, M.S.; CAMARGO, J. L.; BRAGAGNOLO, N.; GROSS, J. L. Fatty acid composition and cholesterol content of beef and chicken meat in Southern Brazil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 42 (1): 109-117, 2006.

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of the **Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 16. ed. Washington: AOAC, 1997.

AOCS – **American Oil Chemists' Society. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society**, 5 ed., edited by D. Firestone, Champaign, Official Method Ce 8-89, 1-5, 1997.

ARES, M.P.; PORN-ARES, M.I.; MOSES, S.; THYBERG, J.; JUNTTI-BERGGREN, L.; BERGGREN, P.; HULTGARTH-NILSSON, A.; KALLIN, B.; NILSSON, J. 7 $\beta$ -hydroxycholesterol induces Ca<sup>2+</sup> oscillations, MAP kinase activation and apoptosis in human aortic smooth muscle cells. **Arteriosclerosis**, 153: 23-25, 2000.

BAGGIO, S. R.; BRAGAGNOLO, N. Cholesterol oxides, cholesterol, total lipid and fatty acid contents in processed meat products during storage. **Food Science and Technology**, 39: 513-520, 2006a.

BAGGIO, S. R.; BRAGAGNOLO, N. Fatty acids, cholesterol oxides and cholesterol in Brazilian processed chicken products. **Italian Journal of Food Science**, 18(2): 1-10, 2006b.

BAGGIO, S. R.; BRAGAGNOLO, N. The effect of heat treatment on the cholesterol oxides, cholesterol, total lipid and fatty acid contents of processed meat products. **Food Chemistry**, 95: 611-619, 2006c.

BALL, R.; STOWERS, E.; BURTON, J.; CARY, N., SKEPPER, J.; MICHINSON, M. Evidence that the death of macrophage foam cells contributes to the lipid core of atheroma. **Atherosclerosis**, 114: 45-54, 1995.

BARBUT, S.; JOSEPHSON, D. B.; MAURER, A. J. Antioxidant properties of rosemary oleoresin in turkey sausage. **Journal of Food Science**, 50(5): 1356-1359, 1985.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Oxidative stress: relations between the formation of reactive species and the organism's defense. **Química Nova**, 29:1,113-123, 2006.

BELTRAN, E.; PLA, R.; YUSTE, J.; MOR-MUR, M. Use of antioxidants to minimize rancidity in pressurized and cooked chicken slurries. **Meat science**, 66: 719-725, 2004.

BERLINER, J. A.; HEINECKE, J. W. The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. **Free Radical Biology and Medicine**, 20(5): 707-727, 1996.

BERTUZZI, S. Los consumidores aceptan que los broilers tengan un poco de grasa. **Revista Avícola**, 4: 25-26, 1998.

BEST, P. J. M.; HASDAI, D.; SANGIORGI, G.; SCHWARTZ, R.S.; HOLMES, D.R.Jr; SIMARI, R.D. LERMAN, A. Apoptosis, basic concepts and implications in coronary artery disease. **Artherosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, 19: 14-22, 1998.

BOHM, V.; PUSPITASARI-NIENABER, N. L.; FERRUZZI, M. G.; SCHWARTZ, S. J. Trolox equivalent antioxidant capacity of different geometrical isomers of  $\alpha$ -

carotene,  $\beta$ -carotene, lycopene and zeaxanthin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50: 221-226, 2002.

BONOLI, M.; CABONI, M. F.; RODRIGUES-ESTRADA, M. T.; LERCKER, G. Effect of feeding fat sources on the quality and composition of lipids of precooked ready-to-eat chicken patties. **Food Chemistry**, 101: 1327-1337, 2007.

BOU, R.; CODONY, R.; BAUCCELLS, M. D.; GUARDIOLA, F. Effect of heated sunflower oil and dietary supplements on the composition, oxidative stability, and sensory quality of dark chicken meat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53: 7792-7801, 2005.

BRAGAGNOLO, N.; DANIELSEN, B.; SKIBSTED, L. H. 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, 2005.

BRAGAGNOLO, N.; DANIELSEN, B.; SKIBSTED, L. H. Rosemary as antioxidant in pressure processed chicken during subsequent cooking as evaluated by electron spin resonance spectroscopy. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 8: 24-29, 2007.

BREUER, O.; BJÖRHKEM, I. Use of an  $^{18}\text{O}_2$  inhalation technique and mass isotopomer distribution analysis to study oxygenation of cholesterol in rat. Evidence for in vivo formation of 7-oxo-7 $\beta$ -hydroxy-, 24-hydroxy-, and 25-hydroxycholesterol. **Journal of Biological Chemistry**, 270: 20278-20284, 1995.

BREWER, S. Irradiation effects on meat color – a review. **Meat Science**, 68: 1-17, 2004.

BRITT, C.; GOMAA, E. A.; GRAY, J. I.; BOOREN, A. M. Influence of cherry Tissue on Lipid Oxidation and Heterocyclic Aromatic Amine Formation in Group Beef Patties. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 46: 4891-4897, 1998.

BROOKS, J. The oxidation of haemoglobin to methaemoglobin by oxygen. The relation between the rate of oxidation and the partial pressure of oxygen, **Proceedings Royal Society**, 118: 560–577, 1935.

BROSSI, C. **Qualidade de carne de frango: efeito do estresse severo pré abate, classificação pelo uso da cor e marinação.** 2007. Dissertação (mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 108p., 2007.

BROWN, O. JESSUP, W.; Oxysterols and atherosclerosis. **Atherosclerosis**, Shannon, 142: 1-28, 1999.

BRUM, A. A. S. **Métodos de extração e qualidade da fração lipídica.** 2004. Dissertação (mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, São Paulo, 79p., 2004.

BUCKLEY, D. J.; MORRISSEY, P. A.; GRAY, J. I. Influence of dietary vitamin E on the oxidative stability and quality of pig meat. **Journal of Animal Science**, 73:3122-3130,1995.

BURTON, G. W.; INGOLD, K. U. Autoxidation of Biological Molecules. The antioxidant activity of vitamin E and related chain-breaking phenolic antioxidants in vitro. **Journal of the American Chemical Society**, 103: 6472-6477, 1981.

CARPENTER, K.L.H.; TAYLOR, S.E.; van der VEEN, C.; WILLIAMSON, B.K.; HALLIWELL, B.; MITCHINSON, M.J. Lipids and oxidized lipids in human atherosclerotic lesions at different stages of development. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1256: 141-150, 1995.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, 30(2): 441-449, 2007.

CONCHILLO, A., ANSORENA, D., ASTIASARÁN, I. Combined effect of cooking (grilling and roasting) and chilling storage (with and without air) on lipid and cholesterol oxidation in chicken breast. **Journal of Food Protection**, 66: 840-846, 2003.

CONCHILLO, A.; ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I. Intensity of lipid oxidation and formation of cholesterol oxidation products during frozen storage of raw and cooked chicken. **Journal of the Food Science and Agriculture**, 85:141-146, 2005.

CRISBY, M.; NILSSON, J.; KOSTULAS, V.; BJORKHEN, I.; DSICZFALUSY, U. Localization of sterol 27-hydroxylase immunoreactivity in human atherosclerotic plaques. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1344: 278-285, 1997.

CUVELIER, M. E.; CLAUDETTE, B.; RICHARD, H. Antioxidant constituents in Sage (*Salvia officinalis*). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 42: 665-669, 1994.

DEVARAJ, S.; ADAM, S-HUET,.; FULLER, C.J.; JIALAL, I. Dose-Response Comparison of *RRR*- $\alpha$ -Tocopherol and All-Racemic  $\alpha$ -Tocopherol on LDL Oxidation. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, 17: 2273-2279, 1997.

DI MASCIO, P. D.; KAISER, S.; SIES, H. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 274: 532-538, 1989.

DOLZ, S. Utilización e grasas y subproductos lipídicos en monogástricos. In: Curso de especialización Fedna. **Avances en Nutrición y Alimentación Animal**. Madrid: Fedna, 327: 25-38, 1996.

ECHARTE, M.; ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I. Consequences of microwave heating and frying on the lipid fraction of chicken and beef patties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51: 5941-5945, 2003.

EITENMILLER, R.; LEE, J. **Vitamin E - Food Chemistry, Composition, and Analysis**. Marcel Dekker, 2004.

ERICKSON, M. C. Lipid oxidation of muscle foods. In: **Food Lipids**. AKOH, C. C.; MIN, D. B., ed, Marcel Dekker, Inc., 2 ed, p.365-411, 2002.

FALANDYSZ, J. Manganese, Cooper, Zinc, Iron, Cadmium, Mercury and Lead in Muscle Meat, Liver and Kidneys of Poultry, Rabbit and Sheep Slaughtered in the Northern Part of Poland, 1987. **Food Additives and Contaminants**, 8(1): 71-83, 1991.

FAO/WHO. Food and Nutrition Paper 25. Rome, p.22, 1982.

FENAILLE, F.; VISANI, P.; FUMEAUX, R.; MILO, C.; GUY, P. A. Comparison of mass spectrometry-based electronic nose and solid phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry technique to assess infant formula oxidation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51: 2790-2796, 2003.

FINOCCHIARO, E. T.; RICHARDSON, T. Sterol oxides in foods: A review. **Journal of Food Protection**, 46: 917-925, 1983.

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

GALVIN, K.; MORRISSEY, P. A.; BUCKLEY, D. J.; Cholesterol oxides in processed chicken muscle as influenced by dietary  $\alpha$ -tocopherol supplementation. **Meat Science**, 48(1/2): 1-9, 1998.

GARCIA-CRUISET, S.; CARPENTER, K.L.H.; GUARDIOLA, F.; STEIN, B.K.; MITCHINSON, M.J. Oxysterol profile of normal arteries, fatty streaks and advanced lesions. **Free Radical Research**, 35: 31-41, 2001.

GIRAO, H.; MOTA, M.C.; PAMALHO, J. PEREIRA, P. Cholesterol oxides accumulation in human cataracts. **Experimental Eye Research**, 66: 645-652, 1998.

GOODRIDGE, C. F.; BEAUDRY, R. M.; PESTKA, J. J.; SMITH, D. M. Solid phase microextraction-gas chromatography for quantifying headspace hexanal above freeze-dried chicken myofibrils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51: 4185-4190, 2003.

GUARDIOLA, F.; CODONY, R.; ADDIS, P.B.; RAFECAS, M.; BOATELLA, J. Biological effects of oxysterols: current status. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, 34(2): 193-211, 1996.

GUMULKA, J.; PYREK, J. S.; SMITH, L. L. Interception of discrete oxygen species in aqueous media by cholesterol: formation of cholesterol epoxides and chosterols. **Lipids**, 17: 197, 1982.

HAILA, K. M.; LIEVONEN, S. M.; HEINONEN, M.I. Effects of lutein, lycopene, annatto, and  $\gamma$ -tocopherol on autoxidation of triglycerides. **Journal of Agricultural & Food Chemistry**, 44: 2096-2100, 1996.

HOAC, T.; DAUN, C.; TRAFIKOWSKA, U.; ZACKRISSON, J.; AKESSON, B. Influence of heat treatment on lipid oxidation and glutathione peroxidase activity in chicken and duck meat. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, 7(1-2): 88-93, 2006.

HOUBEN, J. H; GERRIS, C. V. M. Effect of dietary supplementation with vitamin E on colour stability of packaged, sliced pasteurized ham. **Meat Science**, 50(4): 421-428, 1998.

HU, F. B.; MANSON, J. E.; WILLET, W. C. Types of dietary fat and risk of coronary heart disease: a critical review. **Journal of the American College of Nutrition**, 20(1): 5-9, 2001.

HOYLAND, D. V.; TAYLOR, A. J. A review of the methodology of the 2-thiobarbituric acid test. **Food Chemistry**, 40(3): 271-291, 1991.

HULAN, H.W. The effects of different dietary fat sources on general performance and carcass fatty acid composition on broiler chickens. **Poultry Science**, 63: 324-332, 1984.

IBARRA, B.M.; NEUCERE, N.J.; SUMRELL, G. Evaluation of two pigmentation programs in broilers. **Poultry Science**, 70(1): 57, 1991.

JIALAL, I.; GRUNDY, S. M. Influence of antioxidant vitamins on LDL oxidation. **Annals of the New York Academy of Sciences**, 669 (1): 237-247, 1992.

JO, S-C.; NAM, K-C.; MIN, B-R.; AHN D-U.; CHO, S-H.; PARK, W-P.; LEE, S-C. Antioxidant activity of Prunus mume extract in cooked chicken breast meat. **International Journal of Food Science and Technology**, 41(1): 15-19, 2006.

JOSEPH, J. D.; ACKMAN, R. G. Capillary column gas chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethyl esters: collaborative study. **Journal of AOAC International**, 75: 488-506, 1992.

KIOKIAS, S.; GORDON, M. H. Antioxidant properties of annatto carotenoids. **Food Chemistry**, 83: 523-529, 2003.

KOLSCH, H.; LUTJOHANN, D.; TULKE, A.; BJORKHEM, I.; RAO, M.L. The neurotoxic effect of 24-hydroxycholesterol on SH-SY5Y human neuroblastoma cells. **Brain Research**, 818: 171-175, 1999.

KORAHANI, V.; BASCOUL, J.; PAULET, A. C. Autoxidation of cholesterol fatty acid esters in solid state and aqueous dispersion. **Lipids**, 17(10): 703-708, 1982.

LAI, S-M.; GRAY, J. I.; SMITH, D. M.; BOOREN, A. M.; CRACKEL, R. L.; BUCKLEY, D. J. Effects of oleoresin rosemary, tertiary butylhydroquinone, and sodium tripolyphosphate on the development of oxidative rancidity in restructured chicken nuggets. **Journal of Food Science**, 56(3): 616-620, 1991.

LARA, W. H. (editor). Monografias de Corantes Naturais para Fins Alimentícios. **Padrões de Identidade e Qualidade**, São Paulo, p. 22-29, 1984.

LERCKER, G.; RODRIGUEZ-ESTRADA, M.T. Cholesterol oxidation: presence of 7- ketocholesterol in different food products. **Journal of Food Composition and Analysis**, Roma, 13(4): 625-631, 2000.

LIZARD, G.; MONIER, S.; CORDELET, C.; GESQUIÉRE, L.; DECKET, V.; LAGROST, L.; GAMBERT, P. Characterization and comparison of the mode of death, apoptosis versus necrosis, induced by 7 $\beta$ -hydroxycholesterol and 7-ketocholesterol in the cells of the vascular wall. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, 19: 1190-1200, 1999.

LUTJOHANN, D.; PAPASSOTIROPOULOS, A.; BJORKHEM, I.; LOCATCKKI, S.; BAGLI, M.; OEHRING, R.D.; SCHLEGEL, U.; JESSEN, F.; RAO, M.L.; von BERGMANN, K.; HEUN, R. Plasma 24S-hydroxycholesterol (cerebrosterol) is increased in Alzheimer and vascular demented patients. **Journal of Lipid Research**, 41:195-198, 2000.

MADRUGA, M. S.; FIGUEIREDO, M.J.; NUNES, M.L.; LIMA, F.M.S. Teores de colesterol de lingüiças "Light" e tradicionais submetidas a diferentes condições de estocagem. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 24(4): 527-531, 2004.

MAHROUR, A.; CAILLET, S.; NKETSIA-TABIRI, J.; LACROIX, M. The antioxidant effect of natural substances on lipids during irradiation of chicken legs. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 80(7): 679-684, 2003.

MARASCHIELLO, C.; ESTEVE, E.; GARCIA-REGUEIRO, J. A. Cholesterol oxidation in meat from chickens fed  $\alpha$ -tocopherol and  $\beta$ -carotene-supplemented diets with different unsaturation grades. **Lipids**, 33: 705-713, 1998.

MARIUTTI, L. R. B.; NOGUEIRA, G. C.; SANTOS, R. S.; BRAGAGNOLO, N. 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**, 2008 (submetido).

MARIUTTI, L. R. B.; ORLIEN, V.; BRAGAGNOLO, N.; SKIBSTED, L. H. Effect of sage and garlic on lipid oxidation in high-pressure processed chicken meat. **European Food Research and Technology**, 2007. (DOI 10.1007/s00217-007-0726-5). Acessado em 20 de fevereiro de 2008.

MARTINS, R. T.; CASCABULHO, A. R.; BAIÃO, N. C.; AFONSO R. J. C. F. Efeito do tipo de óleo de soja na composição em ácidos graxos da carcaça de frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 55 (1): 92-98, 2003.

MARTÍNEZ-TOMÉ, M.; JIMÉNEZ, A. M.; RUGGIERI, S.; FREGA, N.; STRABBIOLI, R.; MURCIA, M. A. Antioxidant properties of mediterranean spices compared with common food additives. **Journal of Food Protection**, 64(9): 1412-1419, 2001.

MATEOS, G.G. Nutrición y calidad de los productos avícolas: contenido en colesterol y modificación del perfil lipídico. In: **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Anais, 36:155-166, 1999.

MIELNIK, M. B.; SEM, S.; EGELANDSDAL, B.; SKREDE, G. By-products from herbs essential oil production as ingredient in marinade for turkey thighs LWT. **Food Science and Technology**, 41(1): 93-100, 2008.

MILES, R. D. Eggs important in diet, unfairly criticized as heart disease risk. **Feedstuffs**, p. 26-51, 1989.

MONTENEGRO, M. A., RIOS, A. DE O., MERCADANTE, A. Z., NAZARENO, M. A.; BORSARELLI, C. D. Model studies on the photosensitized isomerization of bixin. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 52: 367-373, 2004.

MUNTEANU, A., ZINGG, J. M., AZZ, A. Anti-atherosclerotic effects of vitamin E – myth or reality?. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, 8:1, 59-76, 2004.

NELSON, D. L., COX, M. M. **Lehninger Princípios de Bioquímica**. 3ª Edição, New York, p.608-609, 2002.

NISH, W.A.; WHISMAN, B.A.; GOETZ, D.W.; RAMIREZ, D.A. Anaphylaxis to annatto dye: a case report. **Annals of Allergy**, 66:129-131, 1991.

NISSEN, L. R.; MANSSON, L.; BERTELSEN, G.; HUYNH-BA, T.; SKIBSTED, L. H. Protection of dehydrated chicken meat by natural antioxidants as evaluated by electron spin resonance spectrometry. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 48(11): 5548-5556, 2000.

NOGUEIRA, G. C.; MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. Alteração da relação  $\omega 6/\omega 3$  de coxas de frango submetidas a diferentes métodos de cozimento. **Anais do XII Congresso Latino-Americano de Óleos e Gorduras**. CD, 2: 1-6, 2007a.

NOGUEIRA, G. C.; MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. Relação entre o método de cozimento e a composição de ácidos graxos em peito de frango. **Anais do XII Congresso Latino-Americano de Óleos e Gorduras**. CD, 15: 1-6, 2007b.

NORTHCUTT, J; K. Factors Affecting Poultry Meat Quality. **The University of Georgia College of Agricultural and Environmental Sciences and the U.S. Department of Agriculture cooperating**, 1157: Jun,1997.

NUTRIENT requirements of poultry, **Washington: National Academy Press**, 9.ed. 155p., 1994.

OHTANI, K.; TERADA, E.; KAMEL, M.; MATSUI-YUASA, I. Cytotoxicity of cholestane  $3\beta$ ,  $5\alpha$ ,  $6\beta$ - triol on cultured intestinal crypt cells (IEC-6). **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**. 61(4): 573-576, 1997.

OHTANI, K.; MIYABARA, K.; OKAMOTO, E.; KAMEL, M.; MATSUI-YUASA, I. Cytotoxicity of 7-cetocholesterol toward cultured rat hepatocytes and the effect of vitamin E. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**. 60(12): 1989-1993, 1996.

OSADA, K. Cholesterol oxidation products other biological effects. In: GUARDIOLA, F. DUTTA, P.C.; CODONY, R., SAVAGE, G.P., eds. Cholesterol and phytosterol oxidation products analysis, occurrence, and biological effects. **American Oil Chemistry Society**, 14: 279-318, 2002.

OSADA, K.; HOSHINA, S.; NAKAMURA, S.; SUGANO, M. Cholesterol oxidation in meat products and its regulation by supplementation of sodium nitrite and Apple polyphenol before processing. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, 48(9): 3823-3829, 2000.

PARK, A. W.; ADDIS, P. B. Cholesterol oxidation products in some muscle foods. **Journal of Food Science**, 52: 1500-1503, 1987.

PATEL, R.P.; DICZFALUSY, U.; DZELETOVIC, S.; WILSON, M.T.; DARLEY-USMAR, V.M. Formation of oxysterols during oxidation of low density lipoprotein by peroxyxynitrite, myoglobin, and copper. **Journal of Lipid Research**, 37: 2361-2371, 1997.

PANIANGVAIT, P.; KING, A. J.; JONES, A. D.; GERMAN, B.G. Cholesterol oxides in foods of animal origin. **Journal of Food Science**, 60: 1159-1174, 1995.

PEARSON, A.M.; GRAY, I.J.; WOLZAK, A.M.; HORENSTEIN, N.A. Safety implications of oxidized lipids in muscle foods. **Food Technology**. 37(7): 121-130, 1983.

PEDRIELLI, P.; HOLKERI, L. M.; SKIBSTED, L. H. Antioxidant activity of (+)-catechin. Rate constant for hydrogen-atom transfer to peroxy radicals. **European Food Research and Technology**, 213(4-5): 405-408, 2001.

PEDRIELLI, P.; SKIBSTED, L. H. Antioxidant synergy and regeneration effect of quercetin, (-)-epicatechin, and (+)-catechin on  $\alpha$ -tocopherol in homogeneous solutions of peroxidating methyl linoleat. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, 50: 7138-7144, 2002.

PENG, S. -K.; HU, B.; MORIN, R.J. Angiotoxicity and atherogenicity of cholesterol oxides. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**. New York, 5:144-152, 1991.

PENG, S. -K.; TAYLOR, C. B, HILL, J. C., MORIN, R. J. Cholesterol oxidation derivatives and arterial endothelial damage. **Atherosclerosis**, 54(2): 121-133, 1985.

PEREIRA, A.V.; ARIKI, J.; KISHIBE, R. Deposição de pigmentos em frangos de corte alimentados com ração à base de sorgo e bixina. In: **Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícola**, 2001, Campinas. Anais. Campinas: FACTA, p.33, 2001.

PÉREZ-VENDRELL, A.M., Hernandez, J.M., Llaurodo, L., Schierle, J., Brufau, J. Influence of source and ratio of xanthophyll pigments on broiler chicken pigmentation and performance. **Poultry Science**, 80: 320-326, 2001.

PIE, J. E.; SPAHIS, K.; SEILLAN, C. Evaluation of oxidative degradation of cholesterol in food and food ingredients: identification and quantification of cholesterol oxides. **Journal Agricultural and Food Chemistry**. 38: 973-979, 1990.

POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M. H. **Antioxidants in food: practical applications**, Woodhead Publishing Limited, 2001.

PRESTON, H. D.; RICKARD, M. D. Extraction and chemistry of annatto. **Food Chemistry**, 5(1), 47-56, 1980.

RACANICCI, A. M. C.; DANIELSEN, B.; MENTEN, J. F. M.; REGITANO-d' ARCE; SKIBSTED, L. H. Antioxidant effect of dittany (*Origanum dictamnus*) in pre-cooked chicken meat balls during chill-storage in comparison rosemary (*Rosmarinus officinalis*). **European Food Research and Technology**, 218(6): 521-524, 2004.

RACANICCI, A. M. C.; DANIELSEN, B.; SKIBSTED, L. H. Mate (*Ilex paraguariensis*) as a source of water extractable antioxidant for use in chicken meat. **European Food Research and Technology**, 2008 (in press).

RAMASAMY, S., BOISSONNEULAT, G. A., HENNING, B. Oxysterol-induced endothelial cell dysfunction in culture. **Journal of the American College of Nutrition**, 11(5): 532-538, 1992.

RUIZ, C.; ALEGRÍA, A.; BARBERÁ, R.; FARRÉ, R.; LAGARDA, M. J. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in patients type 1 diabetes mellitus. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, 59: 99-106, 1999.

SALDANHA, T., SAWAYA, A. C. H. F., EBERLIN, M. N., BRAGAGNOLO, N. HPLC separation and determination of 12 cholesterol oxidation products in fish: comparative study of RI, UV and APCI-MS detectors. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 54: 4107-4113, 2006.

SAVAGE, G., DUTRA, P., RODRIGUEZ-ESTRADA, M. T. Cholesterol oxides: their occurrence and methods to prevent their generation in foods. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, 11(1): 72-78, 2002.

SCHROEDER, M. T.; BECKER, E. M.; SKIBSTED, L. H. Molecular mechanism of antioxidant synergism of tocotrienols and carotenoids in palm oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54(9): 3445-3453, 2006.

SEVANIAN, A.; PETERSON, A, R. The cytotoxic and mutagenic properties of cholesterol oxidation products. **Food and Chemical Toxicology**, 24(10/11): 1103-1110, 1986.

SMITH, L.L., Cholesterol autoxidation. **Chemistry and Physics of Lipids**, 44(2-4): 87-125, 1987.

SMITH, L.L.; JOHNSON, B.H. Biological activities of oxysterols. **Free Radical Biology and Medicine**, 7(3): 285-332, 1989.

SONG, W.; PIERCE Jr., W.M.; SAEKI, Y.; REDINGER, R.N.; PROUGH, R.A. Endogenous 7-oxocholesterol in an enzymatic product: characterization of 7 $\alpha$ -hydroxycholesterol dehydrogenase activity of hamster liver microsomes, **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 328: 272-282, 1996.

SOUZA, P. A.; SOUZA, H. B. A.; PELICANO, E. R. L.; GARDINI, C. H. C.; OBA, A.; LIMA, T. M. A. Efeito da suplementação de vitamina E no desempenho e na qualidade da carne de frangos de corte. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, 101(557-558): 87-94, 2006.

StatSoft, Inc. (2000). **STATISTICA for Windows [Computer program manual]**. Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 2300 East 14th Street, Tulsa, OK 74104, phone: (918) 749-1119, fax: (918) 749-2217, email: info@statsoft.com, WEB: <http://www.statsoft.com>

STEVENSON, M.H.; PEARCE, J.; JACKSON, N. The effects of dietary intake and of dietary concentration of copper sulphate on the laying domestic fowl: effects on laying performance and tissue mineral contents. **British Poultry Science**, 24(3): 327-335, 1983.

TACO – Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos, Campinas: **Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação – NEPA**, 2<sup>a</sup> ed. 114p., 2006.

TAI, C.Y.; CHEN, Y.C.; CHEN, B.H. Analysis, formation and inhibition of cholesterol oxidations products in foods: an overview (part I). **Journal of Food and Drug Analysis**, 7(4): 243-257, 1999.

THOMAIDIS, N. S.; GEORGIU, C. A. Edible oil analysis by flow injection. **Laboratory Automation and Information Management**, 34: 101-114, 1999.

TANG, S. Z.; KERRY, J. P.; SHEEHAN, D.; BUCKLEY, D. J.; MORRISEY, P. A. Antioxidative effect of added tea catechins on susceptibility of cooked red meat, poultry and fish patties to lipid oxidation. **Food Research International**, 34: 651-657, 2001a.

TANG, S. Z.; KERRY, J. P.; SHEEHAN, D.; BUCKLEY, D. J.; MORRISEY, P. A. Antioxidative effect of dietary tea catechins on lipid oxidation of long-term frozen stored chicken meat. **Meat Science**, 57(3): 331-336, 2001b.

TANG, S.; SHEEHAN, D.; BUCKLEY, D. J.; MORRISEY, P. A.; KERRY, J. P. Antioxidant activity of added tea catechins on lipid oxidation of raw minced red meat poultry and fish muscle. **International Journal of Food Science and Technology**, 36: 685-692, 2001c.

THOMAS, S. R.; STOCKER, R. Molecular action of vitamin E in lipoprotein oxidation: implications for atherosclerosis. **Free Radical Biological Medicine**, 28: 1795-1805, 2000.

TORRES, E. A. F. S., CAMPOS, N. C., DUARTE, M. GARBELOTTI, L., PHILIPPI, S. T., RODRIGUE, R. S. M-. Composição centesimal e valor calórico de alimentos de origem animal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 20 (2): 145-150, 2000.

VIEIRA, S.L.; MORAN, E.T. JR. Broiler yields using chicks from egg weight extremes and diverse strains. **Journal of Applied Poultry Research**, 7:339-346, 1998.

VOS, G.; LAMMERS, H.; KAN, C.A. Cadmium and Lead in Muscle Tissue and Organs of Broilers, Turkeys and Spent Hens and in Mechanically Deboned Poultry Meat. **Food Additives and Contaminants**, 7 (1): 83-91, 1990.

WATTANACHANT, S.; BENJAKUL, S.; LEDWARD, D. A. Effect of heat treatment on changes in texture, structure and properties of Thai indigenous chicken muscle. **Food Chemistry**, 93: 337-348, 2005.

WHEATLEY, R. A. Some trends in the analytical chemistry of lipid peroxidation. **Trends in Analytical Chemistry**, 19(10): 617-628, 2000.

YAMASAKI, S.; OZAWA, N.; HIRATSUKA, A.; WATANABE, T. quantitative determination of cholesterol 5 $\alpha$ -, 7 $\alpha$ -, and 7 $\beta$ -hydroperoxides in rat skin. **Free Radical Biology and Medicine**, 27: 110-118, 1999.

YAO, P.; TABAS, I. Free cholesterol loading of macrophages induces apoptosis involving the fas pathway. **Journal of Biological Chemistry**, 275: 23807-23813, 2000.

YOUNG, J. F.; STAGSTED, J.; JENSEN, S. K.; KARLSSON, A. H.; HENCKEL, P. Ascorbic acid,  $\alpha$ -tocopherol, and oregano supplements reduce stress-induced deterioration of chicken meat quality. **Poultry Science**, 82(8): 1343-1351, 2003.

ZHANG, J.; DRICU, A.; SJOVALL, J. Studies on the relationships between 7 $\alpha$ -hydroxylation and the ability of 25 and 27-hydroxycholesterol to suppress the

activity of HMG-CoA reductase. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1344: 241-249, 1997.