

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
CIÊNCIA E TECNOLOGIA DOS ALIMENTOS**

**USO DE ANTIOXIDANTES NATURAIS NA  
PRESERVAÇÃO DO ESTADO OXIDATIVO DE  
SALSICHAS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Julie Casarotto**

**Santa Maria, RS, Brasil.**

**2013**



# **USO DE ANTIOXIDANTES NATURAIS NA PRESERVAÇÃO DO ESTADO OXIDATIVO DE SALSICHAS**

**Julie Casarotto**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Concentração em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos.**

**Orientador: Prof. Dr. Renius de Oliveira Mello**

**Santa Maria, RS, Brasil.**

**2013**

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Casarotto, Julie

Uso de antioxidantes naturais na preservação do estado oxidativo de salsichas / Julie Casarotto.-2013.

119 p. ; 30cm

Orientador: Renius de Oliveira Mello

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, RS, 2013

1. Cevada. 2. Uva. 3. Resíduos. 4. Cervejaria. Vinificação. 5. Compostos fenólicos I. Mello, Renius de Oliveira II. Título.

---

©2013

Todos os direitos autorais reservados a Julie Casarotto. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho poderá ser feita desde que citada a fonte.

Endereço eletrônico: [juliecasaro@hotmail.com](mailto:juliecasaro@hotmail.com)

---

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Rurais  
Programa de Pós-Graduação em  
Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Dissertação de Mestrado

**USO DE ANTIOXIDANTES NATURAIS NA PRESERVAÇÃO DO  
ESTADO OXIDATIVO DE SALSICHAS**

elaborada por  
**Julie Casarotto**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

**Comissão Examinadora:**

---

**Renius de Oliveira Mello, Dr. (UFSM)**  
(Presidente/Orientador)

---

**Roger Wagner, Dr. (UFSM)**  
(Co-orientador)

---

**Ricardo Zambarda Vaz, Dr. (UFPEl)**

---

**Rosa Cristina Prestes, Dr<sup>a</sup>. (UFSM)**

Santa Maria, 28 de março de 2013.



## AGRADECIMENTOS

À Deus, por me dar força, perseverança e estar sempre ao meu lado, guiando meus passos.

À minha mãe, Enir, pelo exemplo de caráter, pela dedicação, empenho e sacrifício para poder proporcionar a educação e formação dos filhos. Te amo muito!

À minha irmã, Gabriele, pela ajuda, por dividir comigo suas experiências acadêmicas, pelo incentivo e por me conceder hospedagem durante estes 2 anos de mestrado. Obrigada mana!

Ao meu namorado, Alízio, por seu meu maior incentivador e motivador, por sua paciência, pela compreensão das minhas ausências e pelo companheirismo em tempo integral.

Ao meu irmão, minha cunhada e demais familiares e amigos pela torcida e incentivo.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Renius de Oliveira Mello, pela confiança, paciência, ajuda, dedicação e incentivo.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Roger Wagner e aos professores integrantes do meu comitê de orientação, Prof. Dr. José Laerte Nörnberg e Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cláudia Kaehler Sautter, pelos conhecimentos partilhados, apoio, ajuda e estímulo.

A Cotripal, obrigada pela confiança no meu trabalho, por ter me concedido a oportunidade de aperfeiçoar-me, para assim crescermos juntos.

Aos estagiários Luciano Ritt, Edom de Avila Fabricio e Raquel Guidetti Vendrusculo pela ajuda na execução das análises, pela dedicação, esforço e tempo dedicados a esta pesquisa.

À Simone Trindade e à Aline Bezerra pela disponibilidade e pela ajuda.

Aos colegas do curso de pós-graduação, em especial a Débora, pelo incentivo e compartilhamento de ideias, angústias e realizações. Aos colegas do Nidal, pela parceria, estímulo e troca de experiências.

Aos professores e funcionários do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

À todos, muito obrigada!





“Querer vencer significa já ter  
percorrido a metade do caminho.”

Paderewski.



## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos  
Universidade Federal de Santa Maria

### **USO DE ANTIOXIDANTES NATURAIS NA PRESERVAÇÃO DO ESTADO OXIDATIVO DE SALSICHAS**

AUTORA: JULIE CASAROTTO

ORIENTADOR: RENIUS DE OLIVEIRA MELLO

CO-ORIENTADOR: ROGER WAGNER

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 28 de março de 2013.

A oxidação lipídica é uma das principais causas da perda de qualidade dos alimentos. Com o intuito de evitar a deterioração oxidativa e alterações organolépticas nos alimentos, as indústrias lançam mão do uso de agentes antioxidantes. Nos últimos anos, a utilização de antioxidantes naturais obtidos a partir de extratos de plantas, frutos e cereais, tem atraído o interesse de pesquisadores e consumidores por, normalmente, serem mais saudáveis e seguros que os antioxidantes artificiais. Os compostos fenólicos são substâncias aromáticas hidroxiladas de grande diversidade estrutural, que apresentam ação antioxidante e, por isto, vêm sendo muito estudados como antioxidantes naturais em alimentos. A cevada (*Hordeum vulgare*) e as uvas apresentam grande quantidade de compostos fenólicos e possuem reconhecida atividade antioxidante. O objetivo deste trabalho foi extrair os compostos fenólicos de resíduos agroindustriais de cevada e uvas Merlot e Moscato (*Vitis vinifera*), resultantes da produção de cerveja e vinhos, aplicar estes extratos em salsichas e avaliar o seu potencial antioxidante. Como parâmetro para comparação foi utilizado o antioxidante sintético eritorbato de sódio, comumente empregado em produtos cárneos. Foram avaliadas a composição centesimal, pH, a cor, textura, o perfil de ácidos graxos, a estabilidade oxidativa (índice de peróxidos, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico – TBARS e compostos voláteis oriundos da oxidação lipídica) e a qualidade sensorial dos tratamentos ao longo de 60 dias de armazenamento a 4 °C. A estabilidade da cor foi melhorada pela adição de extrato de resíduos de vinificação de uva Merlot, além disso, a adição dos extratos naturais teve pouca influência nos parâmetros de textura das salsichas. Observou-se que os extratos naturais, assim como o eritorbato de sódio, foram eficientes em retardar a oxidação lipídica, avaliada através de TBARS, até o dia 30, sendo o tratamento adicionado de extrato de uva Merlot o mais eficiente. O perfil de ácidos graxos foi significativamente afetado pelo tempo de armazenamento das amostras e pouco afetado pela adição de antioxidantes. Foi observada diminuição nos percentuais de ácidos graxos insaturados e aumento nos saturados ao longo do experimento, o que demonstrou a progressão da oxidação lipídica durante o período. A produção de compostos voláteis ao longo do armazenamento caracterizou cada período, sendo o início do experimento caracterizado por maior presença de aldeídos (hexanal), o dia 30 pela presença do volátil 2-butoxietanol e o dia 60 pela cetona 3-hidroxi-2-butanona. Na análise sensorial somente o tratamento adicionado de extrato de resíduos de cervejaria apresentou baixa aceitabilidade pelos julgadores em todos os períodos quanto ao sabor e odor. Estes resultados demonstram que os extratos de resíduo de vinificação, em especial de uva tinta (Merlot), são antioxidantes eficientes e podem ser utilizados em salsichas, sem causar perdas à qualidade sensorial do produto.

**Palavras-chave:** Cevada. Uva. Resíduos. Cervejaria. Vinificação. Compostos fenólicos.



## ABSTRACT

Master Course Dissertation  
Post-Graduate Course of Food Science and Technology  
Federal University of Santa Maria

### USE OF NATURAL ANTIOXIDANTS IN PRESERVING THE OXIDATIVE STATUS OF SAUSAGES

AUTHOR: JULIE CASAROTTO

ADVISOR: RENIUS DE OLIVEIRA MELLO

CO-ADVISOR: ROGER WAGNER

Defense Place and Date: Santa Maria, March 28<sup>th</sup>, 2013.

Lipid oxidation is one of the main causes of loss in food quality. In order to prevent oxidative deterioration and organoleptic changes in foods, industries use antioxidant agents. In past few years, the use of natural antioxidants derived from plant extracts, fruits and cereals has attracted the interest of researchers and consumers because they are, generally, healthier and safer than artificial ones. Phenolic compounds are hydroxylated aromatic substances of great structural diversity, which have antioxidant activity and, therefore, they have been widely studied as natural antioxidants in foods. Barley (*Hordeum vulgare*) and grapes have large amounts of phenolic compounds and their antioxidant activity is broadly known. The objective of this study was to extract phenolic compounds of agroindustrial residues as barley and Merlot and Moscato grapes (*Vitis vinifera*), from beer and wine production, to apply these extracts in sausages and to evaluate their antioxidant potential. As comparison parameter it was used the synthetic antioxidant sodium erythorbate, generally used in meat products. It were evaluated proximate composition, pH, color, texture, fatty acid profile, oxidative stability (peroxide value, thiobarbituric acid reactive substances – TBARS and volatile compounds derived from lipid oxidation) and sensory quality of treatments along 60 days of storage at 4 °C. Color stability was improved by addition of extract of vinification residues from Merlot grape, furthermore, the addition of natural extracts had little effect on texture parameters of sausages. It was observed that the natural extracts, as well as sodium erythorbate, were effective in delaying lipid oxidation, measured by TBARS, until day 30, and the treatment with Merlot residue extract was the most efficient. The fatty acid profile was significantly affected by the storage time of the samples and slightly affected by the addition of antioxidants. It was observed a reduction in the percentage of unsaturated fatty acids and an increase in saturated ones throughout the experiment, which showed the progression of lipid oxidation during the period. The production of different volatile compounds during storage featured each period, being the start period featured by a greater presence of aldehydes, the day 30 featured by presence of volatile 2-butoxyethanol and the day 60 featured by 3-hydroxy-2-butanone. In sensory analysis, only the treatment with extract of brewery residues was rejected by judges in all periods for taste and odor. These results demonstrate that the extracts of vinification residues, especially from Merlot grape, are efficient antioxidants and its can be effectively used in sausages without causing losses to the sensory quality of the product.

**Key words:** Agroindustrial residues. Barley. Grape. Brewery. Winemaking. Phenolic compounds.



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Formulações empregadas na elaboração das salsichas.....	48
Tabela 2 – Conteúdo de fenólicos totais e atividade antioxidante dos extratos naturais. <sup>1,2</sup> .....	59
Tabela 3 – Composição centesimal de salsichas com diferentes antioxidantes durante a vida de prateleira sob refrigeração a 4 °C.....	62
Tabela 4 – Valores de pH e sinerese em salsichas com diferentes antioxidantes durante a vida de prateleira sob refrigeração a 4 °C.....	63
Tabela 5 – Índices objetivos de cor em salsichas com diferentes antioxidantes durante a vida de prateleira sob refrigeração a 4 °C.....	66
Tabela 6 – Perfil de textura em salsichas com diferentes antioxidantes durante a vida de prateleira sob refrigeração à 4 °C. ....	69
Tabela 7 – Índice de peróxidos e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em salsichas com diferentes antioxidantes durante a vida de prateleira sob refrigeração a 4 °C. ....	72
Tabela 8 – Perfil de ácidos graxos em salsichas com diferentes antioxidantes durante a vida de prateleira sob refrigeração a 4 °C. <sup>1</sup> .....	74
Tabela 9 – Perfil de ácidos graxos em salsichas com diferentes antioxidantes ao longo da vida de prateleira sob refrigeração a 4 °C. <sup>1</sup> .....	76
Tabela 10 –Compostos voláteis de oxidação lipídica em salsichas durante a vida de prateleira sob refrigeração a 4 °C. <sup>1</sup> .....	79
Tabela 11 –Características sensoriais de salsichas com diferentes antioxidantes durante a vida de prateleira sob refrigeração a 4 °C.....	81
Tabela 12 –Índice de aceitabilidade (IA, %) de salsichas com diferentes antioxidantes durante a vida de prateleira sob refrigeração a 4 °C. <sup>1</sup> .....	83





## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Reação em cadeia da oxidação lipídica. ....	33
Figura 2 – Estrutura química dos principais antioxidantes artificiais .....	37
Figura 3 – Estrutura química dos principais antioxidantes naturais .....	39
Figura 4 – Projeção bidimensional de salsichas com diferentes antioxidantes ao longo da vida de prateleira por meio de variáveis canônicas a partir dos compostos voláteis de oxidação lipídica [A] e englobando as demais variáveis estudadas [B]. ....	86



## LISTA DE APÊNDICES

<b>Apêndice A</b> – Termo de consentimento livre e esclarecido .....	109
<b>Apêndice B</b> – Questionário aplicado na análise sensorial .....	111
<b>Apêndice C</b> – Estatística descritiva das variáveis avaliadas.....	112
<b>Apêndice D</b> – Valores probabilísticos para contrastes ortogonais .....	114
<b>Apêndice E</b> – Coeficientes da correlação de Spearman entre as variáveis avaliadas .....	118



## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>AO</b>	– antioxidante
<b>AGS</b>	– ácido graxo saturado
<b>AGI</b>	– ácido graxo insaturado
<b>AGMI</b>	– ácido graxo monoinsaturado
<b>AGPI</b>	– ácido graxo poli-insaturado
<b>BHA</b>	– butil hidroxianisol
<b>BHT</b>	– butil hidroxitolueno
<b>CIE</b>	– Comission Internationale L'Éclairage
<b>FAME</b>	– éster metílico de ácido graxo
<b>AG</b>	– ácido gálico
<b>GP</b>	– galato de propila
<b>H</b>	– hidrogênio
<b>IP</b>	– índice de peróxidos
<b>MANOVA</b>	– análise de variância multivariada
<b>MDA</b>	– malonaldeído
<b>pH</b>	– potencial hidrogeniônico
<b>PS</b>	– peso seco
<b>TBARS</b>	– substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
<b>TBHQ</b>	– terc-butil hidroquinona
<b>TPA</b>	– perfil de textura
<b>VP</b>	– vida de prateleira



# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>23</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>25</b>
2.1 Objetivo geral .....	25
2.2 Objetivos específicos .....	25
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>27</b>
3.1 Embutidos cárneos .....	27
3.1.1 Salsicha .....	28
3.1.1.1 Tecnologia de produção de salsichas .....	28
3.2 Lipídios e oxidação lipídica .....	31
3.3 Antioxidantes .....	35
3.3.1 Antioxidantes naturais .....	38
3.3.1.1 Cevada e uva como fontes de antioxidantes naturais .....	42
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>45</b>
4.1 Materiais .....	45
4.2 Preparação dos extratos .....	45
4.3 Conteúdo de fenólicos totais e atividade antioxidante dos extratos de resíduos agroindustriais .....	46
4.4 Elaboração das salsichas .....	47
4.5 Análises das salsichas .....	49
4.5.1 Composição química e pH .....	49
4.5.2 Sinerese (perda por exsudação) .....	49
4.5.3 Cor objetiva .....	50
4.5.4 Textura objetiva .....	50
4.5.5 Índice de peróxidos (IP) .....	51
4.5.6 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) .....	51
4.5.7 Perfil de ácidos graxos .....	52
4.5.8 Compostos voláteis indicadores de oxidação lipídica .....	53
4.5.9 Análise sensorial .....	54
4.6 Análise estatística .....	54
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>59</b>
5.1 Conteúdo de fenólicos totais e atividade antioxidante dos extratos de resíduos agroindustriais .....	59
5.2 Análises das salsichas .....	60
5.2.1 Composição química, pH e sinerese .....	61
5.2.2 Cor objetiva .....	64
5.2.3 Textura objetiva .....	67
5.2.4 Índice de peróxidos .....	70
5.2.5 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) .....	71
5.2.6 Perfil de ácidos graxos .....	73
5.2.7 Compostos voláteis indicadores de oxidação lipídica .....	78
5.2.8 Análise sensorial .....	80
5.2.9 Análise multivariada dos resultados .....	84
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>91</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>93</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>107</b>





# 1 INTRODUÇÃO

Os embutidos cárneos constituem uma fonte de proteína animal para a dieta de grande parte da população mundial, sendo a salsicha um dos produtos mais consumidos, seja pelo seu sabor característico, facilidade de preparo ou custo acessível.

Ebutidos cárneos cozidos, como as salsichas, apresentam elevado conteúdo lipídico, que pode corresponder a até 30% de sua composição (BRASIL, 2000). Este elevado teor lipídico somado às operações de trituração e tratamento térmico, realizadas durante o processamento, tornam o produto suscetível às reações de oxidação lipídica, com conseqüente desenvolvimento de características organolépticas indesejáveis (ARAÚJO, 2011; GEORGANTELIS et. al, 2007), perda de valor nutricional pela oxidação de vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais e possível produção de substâncias com efeitos tóxicos (BRANNEN; DAVIDSON; SALMINEN, 1990).

Com o objetivo de evitar ou controlar a oxidação lipídica e com isso evitar a rancificação, garantir maior estabilidade da cor e estender a vida de prateleira dos alimentos, as indústrias fazem uso de substâncias com propriedades antioxidantes. Os compostos de ação antioxidante utilizados pelas indústrias de alimentos podem ser sintéticos ou naturais, sendo que os de maior utilização são os de natureza sintética. Contudo, a salubridade de alguns antioxidantes comerciais vem sendo questionada, pois existem estudos demonstrando que os mesmos podem favorecer efeitos mutagênicos e carcinogênicos (BIRCH et al., 2001; MERCADANTE et al., 2010).

Tendo em vista os problemas que podem ser causados pelo consumo de antioxidantes sintéticos, têm-se dirigido pesquisas no sentido de encontrar produtos naturais com atividade antioxidante, que possam substituir os sintéticos (MERCADANTE et al., 2010; ROJAS, BREWER, 2007; SELANI et al., 2011) ou serem associados a eles (BIRCH et al., 2001), com o intuito de diminuir sua quantidade nos alimentos.

Antioxidantes naturais podem ser obtidos de tecidos animais (BEKHIT et al., 2003), de microrganismos (MOURE et al., 2001) e de vegetais (ABE et al., 2007;

BIRCH et al, 2001; LEE et al., 2010), sendo que os compostos fenólicos, os carotenoides e os tocoferóis são os principais compostos de ocorrência natural com atividade antioxidante (BREWER, 2011).

Os compostos fenólicos são substâncias aromáticas hidroxiladas de grande diversidade estrutural, cuja atividade antioxidante relaciona-se ao número de hidroxilas disponíveis em sua estrutura química (ARAÚJO, 2011). São naturalmente encontrados em frutas, cereais, hortaliças e ervas, sendo que a cevada e as uvas, bem como seus resíduos agroindustriais, são reconhecidas fontes destes compostos e, por conseguinte, de antioxidantes naturais (MAILLARD et al, 1996; ABE et al, 2007; BAÑON et al., 2007; LIU ; YAO, 2007; ROJAS; BREWER, 2007; BRANNAN, 2008; BEZERRA, 2009; PEREIRA DE ABREU et al., 2011; SELANI et al., 2011).

O Brasil é um dos três maiores produtores mundiais de cerveja, bebida que tem como matéria-prima a cevada, com um volume de produção anual de aproximadamente 12,6 bilhões de litros (SINDICERV, 2010). Assim como a produção de cerveja, a produção nacional de vinho também é significativa, superando 300 milhões de litros em 2011 (UVIBRA, 2011). Sabe-se que para cada 100 L de cerveja produzidos, são gerados, de 14 a 20 kg de resíduos sólidos (CETESB, 2005; GUPTA; ABU-GHANNAM; GALLAGHAR, 2010), e que para cada 100 L de vinho produzidos são gerados 18 kg de resíduos (ROCKENBACH et al., 2011), o que impacta na produção anual de milhões de quilos de resíduos com pequena ou nenhuma utilização rentável, a não ser na alimentação animal e adubação.

O conhecimento de que estes resíduos agroindustriais apresentam quantidades remanescentes de compostos fenólicos, aliado à crescente preocupação dos consumidores com o impacto socioambiental do que consomem e à busca por alimentos mais saudáveis (com conservantes naturais), desperta o interesse na utilização de tais subprodutos como potenciais fontes de antioxidantes naturais para alimentos e em especial para a indústria cárnea.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar o potencial antioxidante de três extratos naturais, obtidos de resíduos de cervejaria e vinificação de uvas tinta e branca, na estabilidade oxidativa de salsichas embaladas à vácuo e armazenadas sob refrigeração (temperatura de 0 a 4°C) durante 60 dias. Foi utilizado como controle positivo o antioxidante comercial eritorbato de sódio.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Obter os extratos antioxidantes dos resíduos agroindustriais através de extração com solvente hidro-etanólico em banho ultrassônico.
- Determinar o conteúdo de fenólicos nos extratos, bem como a atividade antioxidante dos mesmos.
- Avaliar, ao longo da vida de prateleira, a estabilidade oxidativa, a composição química, o perfil de ácidos graxos, a textura, a cor, o aparecimento de compostos voláteis indicadores de oxidação e a qualidade sensorial em salsichas com antioxidantes naturais.



## 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 3.1 Embutidos cárneos

A produção de carnes desempenha importante papel na economia brasileira, uma vez que o país é o segundo maior produtor mundial de carne bovina, o 4º maior exportador de carne suína e o maior exportador de carne de frango (USDA, 2012).

Devido ao grande volume de abate nas plantas frigoríficas, juntamente com as carcaças há também a geração de grande quantidade de matérias-primas menos nobres, como os miúdos/vísceras e aparas/recortes de carnes, que na maioria das vezes são de difícil comercialização no estado fresco ou quando comercializadas geram baixa rentabilidade para as indústrias. A industrialização, ou seja, a incorporação destas carnes em formulações de embutidos apresenta-se como a principal forma de utilização das mesmas, com agregação de valor comercial e extensão dos seus prazos de validade.

Segundo o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), entende-se por embutido cárneo todo produto elaborado com carne ou órgãos comestíveis, curado ou não, condimentado, cozido ou não, defumado e dessecado ou não, tendo como envoltório tripa, bexiga, membrana animal ou película artificial (BRASIL, 1952). Estes produtos são obtidos a partir de um processo inicial de moagem das carnes na granulometria específica para o produto desejado, seguido da adição de condimentação e embutimento da massa em envoltório adequado, sendo que esta última etapa tem como objetivo proteger a massa do meio externo e conferir-lhe forma e estabilidade (EMBRAPA, 2012).

Dependendo do processo de fabricação empregado e de suas características, os embutidos cárneos podem ser classificados ainda em emulsionados ou de massa grossa, frescos, cozidos, fermentados ou defumados, sendo que alguns podem enquadrar-se em mais de uma classificação (TERRA, 1998).

### 3.1.1 Salsicha

Salsicha é “o produto cárneo industrializado obtido da emulsão de carne de uma ou mais espécies de animais de açougue, adicionado de ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial, ou obtido por processo de extrusão, e submetido a processo térmico adequado” (BRASIL, 2000). Esse embutido classifica-se como um produto emulsionado, curado e cozido, ou seja, que recebe adição de nitrito e nitrato (sais de cura), que apresenta elevado grau de divisão de seus constituintes e que ao final de seu processamento passa por uma etapa de cozimento por tempo e temperatura adequados, com o intuito de reduzir sua flora microbiana e lhe conferir maior vida útil (TERRA, 1998).

Produtos cárneos como as salsichas (emulsionados cozidos) constituem um grupo com grande importância comercial (TOBIN et al., 2012). Comprovação disso é o fato das salsichas serem o segundo embutido em aquisição *per capita* no Brasil, com média de 1,154 kg por ano (IBGE, 2010).

#### 3.1.1.1 Tecnologia de produção de salsichas

Para a elaboração de salsichas são utilizadas matérias-primas cárneas oriundas de diferentes animais de açougue e ingredientes não-cárneos, sendo as primeiras, juntamente com o sal, constituintes de adição obrigatória. É permitida a utilização de gordura, carnes mecanicamente separadas (CMS) em percentual máximo de 60%, miúdos comestíveis (percentual máximo de 10%), tendões e pele. Como ingredientes não-cárneos, além do sal, pode-se ter a adição intencional de água, proteína vegetal ou animal, agentes de liga, aditivos intencionais, açúcares, especiarias, aromas e condimentos. No caso das salsichas Frankfurt e Viena permite-se o uso, apenas, de porções musculares de carnes bovina e/ou suína e gordura, não sendo permitida a adição de proteína vegetal. (BRASIL, 2000).

Produtos cárneos emulsionados podem conter até 30% de gordura, sendo a média industrial em torno de 20% (KEETON, 1994). A legislação brasileira permite percentuais máximos de 30% de gordura e 65% de umidade e mínimo de 12% de

proteína em salsichas (BRASIL, 2000). Estes três constituintes são de grande importância na formação da emulsão cárnea durante o processo de cominuição da massa, uma vez que as proteínas agem como agentes emulsificantes, recobrando as gotículas de gordura e formando uma rede contínua de gel capaz de aprisionar a água após o cozimento (WEISS et al., 2010; ÁLVAREZ et al., 2007; TERRA, 1998).

Além das proteínas cárneas, é permitida a adição em salsichas de proteínas não cárneas, como a proteína de soja, em percentual máximo de 4% (BRASIL, 2000). Estas proteínas são utilizadas com o intuito de melhorar a retenção/ligação de água, estabilizar as gorduras e reduzir custos (YOUSSEF; BARBUT, 2011). Também com a intenção de retenção de água, pode ser feita a adição de amido (fécula), que através de sua capacidade de geleificação, contribui para melhorar a textura/firmeza das salsichas e diminuir as perdas no cozimento (LI; YEH, 2003). Contudo, sua adição em salsichas restringe-se a um máximo de 2%, sendo que a quantidade de carboidratos totais não deve ultrapassar 7% da composição do produto (BRASIL, 2000).

A água participa como matéria-prima em muitos produtos cárneos, podendo ser incorporada na forma líquida ou na forma de gelo. Sua aplicação na forma de gelo em salsichas e outros produtos elaborados em *cutter* tem por objetivo controlar a temperatura da massa durante o trabalho mecânico e conferir plasticidade e suculência ao produto final (PARDI et al., 2001).

O sal é um ingrediente essencial em produtos cárneos, pois confere sabor ao alimento e auxilia na extração das proteínas miofibrilares da carne, o que reflete em uma emulsão de melhor qualidade e melhora na textura dos produtos. Além disso, o sal atua também como conservante através da redução da atividade de água do alimento, tornando-o um meio desfavorável para os processos vitais microbianos (TOBIN et al., 2012, WEISS et al., 2010).

Os sais de cura (nitritos e nitratos de sódio ou potássio) atuam como conservadores nos produtos cárneos, inibindo o crescimento de microrganismos patogênicos, em especial o *Clostridium botulinum*. Além disso, o nitrito tem importante efeito no desenvolvimento do sabor e da cor vermelha característicos de produtos curados (WEISS, 2010; HONIKEL et al., 2008). Os limites máximos permitidos para esses aditivos são de 0,03 g/100 g para nitratos e 0,015 g/100 g para nitrito, sendo que se os dois compostos estiverem presentes no embutido, a soma de ambos não poderá ultrapassar 0,015 g/100 g (BRASIL, 1998).

Os aditivos intencionais são ingredientes adicionados aos alimentos sem o propósito de nutrir, mas com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais durante sua produção e distribuição (BRASIL, 1997). Os fosfatos e polifosfatos são aditivos que desempenham a ação de estabilizantes em embutidos cárneos, ou seja, aumentam o pH da carne e causam a dissociação do complexo actomiosina, provocando o aumento da capacidade de retenção de água no alimento (DUSEK et al., 2003).

Os reguladores de acidez são utilizados com a intenção de controlar o pH do alimento e inibir a proliferação microbiana. Os realçadores de sabor são ingredientes que potencializam o sabor dos alimentos e modificam as suas características organolépticas, mascarando os sabores indesejados (POSSARI, [20--]). Os antioxidantes são aditivos utilizados com a função de retardar o aparecimento de alterações oxidativas no alimento (BRASIL, 1997), sendo os sais dos ácidos ascórbico e eritórbico os antioxidantes com maior utilização na indústria cárnea, não havendo dose limite para sua utilização (BRASIL, 1998).

Os condimentos, especiarias e flavorizantes são utilizados com o intuito de conferir o sabor característico e desejado de cada produto cárneo, não havendo limites ou restrições legais para sua utilização. Os corantes são adicionados com a função de tornar o alimento mais atrativo, uma vez que a cor é o primeiro atributo percebido e julgado pelo consumidor (BRANEN; DAVIDSON; SALMINEN, 1990). A legislação brasileira permite apenas a adição de corantes de origem natural em embutidos cárneos e restringe o uso de ácido carmínico (base do corante cochonilha) a no máximo 0,01 g/100 g. (BRASIL, 1998).

A mistura dos ingredientes cárneos e não-cárneos para a produção da massa de salsicha é feita em *cutter*, sendo que num primeiro momento são adicionadas ao equipamento as carnes magras moídas, o sal e a metade do gelo utilizado na formulação. Após a trituração das carnes e extração das proteínas miofibrilares, é feita a adição dos demais ingredientes, com exceção do antioxidante e da fécula, e na sequência é adicionada a gordura, sendo que neste momento começa a ser formada a emulsão. Após alguns minutos é feita adição da fécula, do restante do gelo e do antioxidante (TERRA, 1998; PRANDL et al., 1994), sendo que quando estes forem completamente incorporados à massa e esta se apresentar homogênea o processo de trituração e mistura é finalizado. A cominuição da massa em *cutter* tem por objetivo misturar os ingredientes, reduzir o tamanho das partículas,



promover a emulsificação das gorduras e conferir aparência homogênea ao produto (ÁLVAREZ et al., 2007; ALLAIS et al., 2004) e durante este processo a temperatura não deverá ultrapassar os 12 °C, pois temperaturas superiores favorecem a liquefação das gorduras com conseqüente desestabilização da massa (TERRA, 1998).

Uma vez preparada a massa, a mesma é embutida, com o uso de embutideira, em envoltório apropriado (natural ou artificial, comestível ou não) e submetida a processo térmico (cozimento) com o intuito de promover a pasteurização do produto e torná-lo palatável (com cor, aroma, sabor e textura próprios de produto cárneo cozido). O processo de cozimento pode ser feito em estufa ou em tanque com água aquecida, sendo finalizado quando as salsichas atingirem temperatura interna de 72 a 73 °C. Após o cozimento o produto precisa ser imediatamente resfriado, inicialmente em chuveiros e depois em câmara-fria (TERRA, 1998). Quando atingem temperatura inferior a 5 °C as salsichas são embaladas à vácuo e podem ser comercializadas, contudo, devem ser mantidas sob refrigeração durante todo seu prazo de validade.

Por tratar-se de um produto em que se permite alto percentual de gordura, e que passa por etapas durante o seu processamento que favorecem a oxidação, como diminuição do tamanho de partículas (trituração), incorporação de oxigênio e aquecimento (ARAÚJO, 2011), a oxidação lipídica pode ser considerada um dos principais fatores relacionados com a perda de qualidade das salsichas e redução de sua vida de prateleira.

### **3.2 Lipídios e oxidação lipídica**

Lipídios são um grupo de compostos quimicamente diversos, que ocorrem em praticamente todos os alimentos e que se caracterizam pela sua solubilidade em solventes orgânicos. Conforme sua solubilidade os lipídios podem ser classificados em neutros ou apolares (triglicerídeos, glicerídeos e colesterol) que são encontrados nas células de armazenamento de animais e plantas e em lipídios polares (fosfolipídios), de ocorrência nas membranas biológicas (POKORNY; YANISHLIEVA; GORDON, 2008; ARAÚJO, 2011; PÉREZ-PALACIOS et al., 2008)

Os ácidos graxos são os componentes principais dos lipídios nas membranas e triglicerídeos. Esses compostos possuem um grupamento carboxílico na extremidade polar e uma cadeia de hidrocarbonetos na cauda apolar, podendo ser classificados em ácidos graxos de cadeia curta, média ou longa em função do tamanho da cadeia carbonada e ainda em insaturados ou saturados, dependendo da presença ou não de ligações duplas nesta cadeia. A ocorrência dos ácidos graxos em alimentos se dá principalmente na forma de ésteres com o álcool glicerol, sendo os ésteres predominantes os triglicerídeos. (ARAÚJO, 2011)

Conforme seu estado físico à temperatura ambiente, os lipídios podem ser chamados de gorduras (estado sólido) ou óleos (estado líquido). A presença de insaturações na cadeia carbonada influencia o ponto de fusão dos ácidos graxos, sendo que quanto maior o número de ligações duplas, menor será o seu ponto de fusão (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2008). Entretanto, não é possível dizer se um alimento ou óleo/gordura é saturado ou insaturado apenas pelo seu estado físico; por exemplo, a gordura suína se apresenta sólida à temperatura ambiente e, possui cerca de 60% de ácidos graxos insaturados em sua constituição. Deve-se ter claro que, os óleos e gorduras são, na verdade, uma mistura de diferentes quantidades de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poli-insaturados (ARAÚJO, 2011, GANDEMER, 2002).

Os lipídios têm grande influência na qualidade nutricional e sensorial dos alimentos, pois apresentam elevado valor calórico, são uma fonte de ácidos graxos essenciais e vitaminas lipossolúveis, contribuem para o sabor e a textura e são precursores de compostos de aroma (GANDEMER, 2002; BRANNEN; DAVIDSON; SALMINEN, 1990). Contudo, muitas destas funcionalidades podem ser prejudicadas ou alteradas durante o processamento e vida de prateleira dos alimentos.

A oxidação lipídica é o principal processo envolvido na deterioração dos alimentos gordurosos e resulta na perda de valor nutricional, alterações na cor, sabor e aroma do produto e até mesmo na formação de compostos potencialmente tóxicos (HOAC et al., 2006; POKORNY; YANISHLIEVA; GORDON, 2008; SHAHIDI, 1998; ULU, 2004).

O processo de oxidação lipídica afeta os ácidos graxos insaturados e ocorre na forma de reação em cadeia que se divide em três fases: iniciação, propagação ou auto-oxidação e terminação (COUPLAND; McCLEMENT, 1996; HOAC et al., 2006; PEREIRA DE ABREU et al., 2011). Os produtos da fase inicial da oxidação

(produtos primários de oxidação) são os hidroperóxidos, compostos não voláteis, sem odor e relativamente instáveis, que são formados quando o oxigênio molecular e os ácidos graxos insaturados reagem na presença de um iniciador ou catalisador (ferro, cobre, enzimas, luz, calor, etc.). Durante a fase de propagação, estes hidroperóxidos podem reagir com outros radicais e então se combinar com as gorduras para formar produtos reativos adicionais e/ou então se decompor levando a formação de produtos secundários de oxidação, como alcanos, alcenos, aldeídos, cetonas e alcoóis. Estes compostos são voláteis e responsáveis por alterações no odor dos alimentos como o aparecimento do odor a ranço (PEREIRA DE ABREU et al., 2011; POKORNY; YANISHLIEVA; GORDON, 2008). A reação em cadeia de oxidação só terá fim quando os radicais livres forem removidos através de reação com antioxidantes ou por reações si, formando compostos estáveis e não reativos (HOAC et al., 2006).

Observando o esquema apresentado por Brewer (2011) é possível compreender as etapas do processo de oxidação de lipídios:

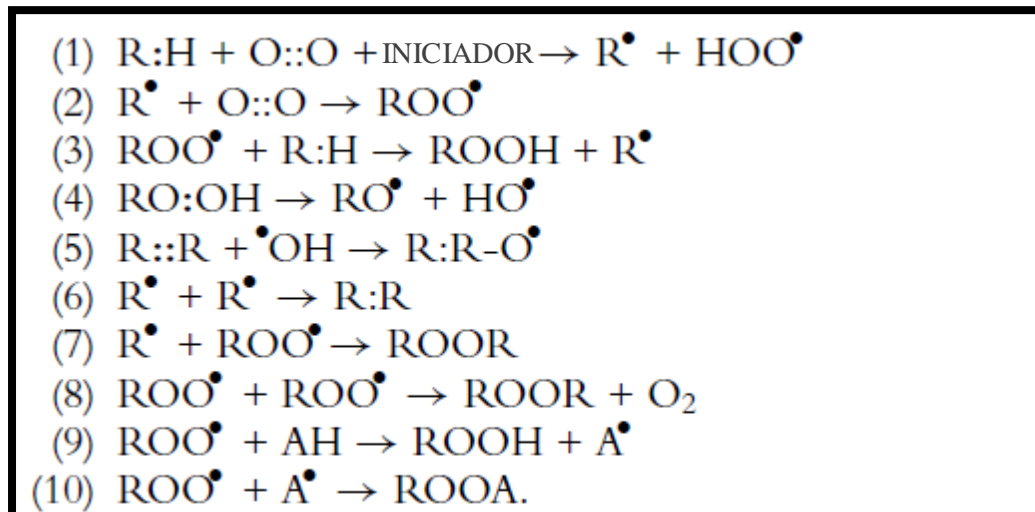


Figura 1 – Reação em cadeia da oxidação lipídica.

Fonte: Brewer, 2011.

O início da oxidação dá-se pela ação de agentes oxidantes (espécies reativas de oxigênio, metais ou enzimas) sobre ácidos graxos insaturados, com remoção de um átomo de H, formando um radical alquil  $R^\bullet$  (1). Este radical torna a reagir com o oxigênio formando o radical peroxil  $ROO^\bullet$  (2), que por sua vez, irá abstrair um átomo

de H de outro ácido graxo insaturado, formando um hidroperóxido e novo radical alquil (3). A partir da degradação de hidroperóxidos formam-se novos radicais alcoxi (RO\*) e hidroxil (OH\*) (4), que irão reagir com novos ácidos graxos, propagando a reação em cadeia de oxidação. O processo só terá fim quando duas espécies radicais reagirem entre si formando um não radical (6 a 8) ou quando o radical reagir com um antioxidante (9 e 10) formando compostos estáveis (BREWER, 2011)

Através da determinação dos produtos primários e secundários é possível avaliar o estado de oxidação de um alimento. Os produtos primários podem ser avaliados através da determinação do índice de peróxidos, hidroperóxidos individuais e dienos e trienos conjugados. Os produtos secundários da oxidação lipídica, responsáveis por alterações sensoriais nos alimentos, podem ser determinados através da quantificação dos hidrocarbonetos como etano e pentano, dos ácidos graxos livres, dos compostos voláteis de oxidação (principalmente aldeídos, cetonas e alcoóis) e de malonaldeído (análise de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico – TBARS) (SHAHIDI, 1998). Este último é o teste mais aplicado em carnes e produtos cárneos, sendo o malonaldeído, um dos principais produtos formados pela oxidação dos ácidos graxos poli-insaturados (GANHÃO; ESTÉVEZ; MARCUONDE, 2011).

A taxa de oxidação lipídica de um alimento pode ser influenciada por vários fatores, como: a composição em ácidos graxos desse alimento, o grau de divisão dos componentes, a presença e concentração de oxigênio, calor, luz, presença de metais de transição e a presença e quantidade de agentes antioxidantes naturais ou adicionados (ARAÚJO, 2011; POKORNY; YANISHLIEVA; GORDON, 2008; WARAH; McCLEMENTS; DECKER, 2011).

A oxidação lipídica de um alimento é dependente do grau de insaturação de seus ácidos graxos constituintes (OLSEN et al., 2005), uma vez que os ácidos graxos insaturados e os fosfolípidios apresentam deficiência de elétrons nos carbonos da dupla ligação, o que os torna mais suscetíveis ao ataque de agentes oxidantes e radicais livres (BREWER, 2011, GANDEMER, 2002 ).

Metais de transição como o ferro e o cobre, catalisam as reações de oxidação lipídica através da transferência dos elétrons durante a alteração do seu estado de oxidação, sendo capazes de causar a quebra dos hidroperóxidos, com a formação de radicais livres que propagarão as reações de oxidação (WEISS, 2010). Por

conterem ferro, os pigmentos cárneos atuam como catalisadores da oxidação lipídica em carnes e produtos cárneos cominuídos (ARAÚJO, 2011).

O oxigênio atmosférico apresenta-se normalmente no estado eletrônico de triplete, sendo este seu estado de menor energia o que faz dele uma espécie pouco reativa. Contudo, ele pode ser excitado pela luz, metais de transição, alterações de temperatura e radiação ultravioleta, passando para o estágio singlete, onde os dois elétrons desemparelhados nos orbitais externos encontram-se em posições antiparalelas, o que resulta num estado de excitação eletrônica. Este oxigênio poderá, então, reagir com os ácidos graxos insaturados, oxidando-os e formando hidroperóxidos (ARAÚJO, 2011; BREWER, 2011; POKORNY; YANISHLIEVA; GORDON, 2008).

Processos como a moagem e trituração, que reduzem o tamanho das partículas durante a fabricação dos alimentos, favorecem a oxidação devido à mistura dos catalisadores, como os metais de transição, com a porção lipídica e também pela maior exposição e incorporação de oxigênio ao produto (ARAÚJO, 2011). O aquecimento ou tratamento térmico aumenta a intensidade da maioria das reações químicas, por isso nos alimentos cozidos ou pasteurizados as reações de auto-oxidação são aceleradas, e a formação de produtos primários e secundários ocorre mais rapidamente (CHOE; MIN, 2009). Além disso, o calor promove o rompimento da estrutura celular e a desnaturação das proteínas, com liberação de agentes oxidantes e dos fosfolipídios das membranas (ARAÚJO, 2011; SAMPAIO et al., 2012).

A oxidação pode ser minimizada através da remoção dos agentes pró-oxidantes do alimento. Contudo, devido a grande dificuldade em conseguir essa completa remoção, as indústrias lançam mão do uso de agentes antioxidantes, com a intenção de evitar ou diminuir a deterioração oxidativa dos alimentos (CHOE; MIN, 2009).

### **3.3 Antioxidantes**

Em alimentos, os antioxidantes podem ser definidos como compostos ou sistemas capazes de inibir ou retardar a formação de radicais livres e,

consequentemente o desenvolvimento de rancidez, odores desagradáveis e deterioração oxidativa (BREWER, 2011; POKORNY; YANISHLIEVA; GORDON, 2008).

Os antioxidantes podem agir de duas maneiras principais: através da remoção dos radicais livres, interrompendo a reação em cadeia de oxidação, e através da remoção de compostos ou intervenção em mecanismos que catalisam ou favorecem as reações de oxidação, como por exemplo, através da remoção de metais de transição e de oxigênio, absorção de radiação UV e desativação do oxigênio singlete (BREWER, 2011; POKORNY; YANISHLIEVA; GORDON, 2008).

A interrupção da reação em cadeia da oxidação por um agente antioxidante se dá pelo fato de que este compete com o lipídio insaturado pelo radical livre, ou seja, ele é capaz de doar um átomo de hidrogênio ao radical, formando compostos estáveis e evitando, assim, a formação de novos radicais e a propagação da oxidação (CHOE; MIN, 2009; POKORNY; YANISHLIEVA; GORDON, 2008). Usualmente, os antioxidantes possuem anéis aromáticos ou fenólicos em sua estrutura e é a deslocalização ressonante do elétron dentro do anel, que irá estabilizar a molécula após a doação de um átomo de hidrogênio (BREWER, 2011). A inativação dos metais de transição por um agente antioxidante dá-se pelo impedimento estérico do contato dos metais com os lipídios, pelo impedimento da transição eletrônica e pela quelação dos metais formando complexos insolúveis. A inativação do oxigênio singlete ocorre pela transferência de energia do antioxidante, elevando o oxigênio ao estado tripleto (menos reativo) ou pela reação do antioxidante com esta espécie reativa de oxigênio (CHOE; MIN, 2009).

Compostos antioxidantes podem estar naturalmente presentes nos alimentos ou serem adicionados a eles. Os antioxidantes endógenos ocorrem no alimento como uma forma de defesa dos tecidos ao estresse oxidativo ou a agentes oxidantes externos, sendo incluídos nesta definição os compostos fenólicos, os tocoferóis, os carotenoides, o ácido ascórbico, peptídeos e as enzimas antioxidantes (BREWER, 2011; CHOE; MIN, 2009; DECKER; MEI, 1996).

Antioxidantes exógenos sintéticos são adicionados aos alimentos com o intuito de reforçar a proteção contra a oxidação lipídica, uma vez que o processamento pode causar a inativação dos antioxidantes naturalmente presentes (DECKER; MEI, 1996). Os principais antioxidantes sintéticos utilizados em alimentos são os sais dos ácidos ascórbico e eritórbico e os compostos fenólicos butil

hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), terc-butil hidroquinona (TBHQ) e ésteres do ácido gálico (GP) (CAPITANI et al., 2009). A figura 2 apresenta a estrutura química destes compostos.

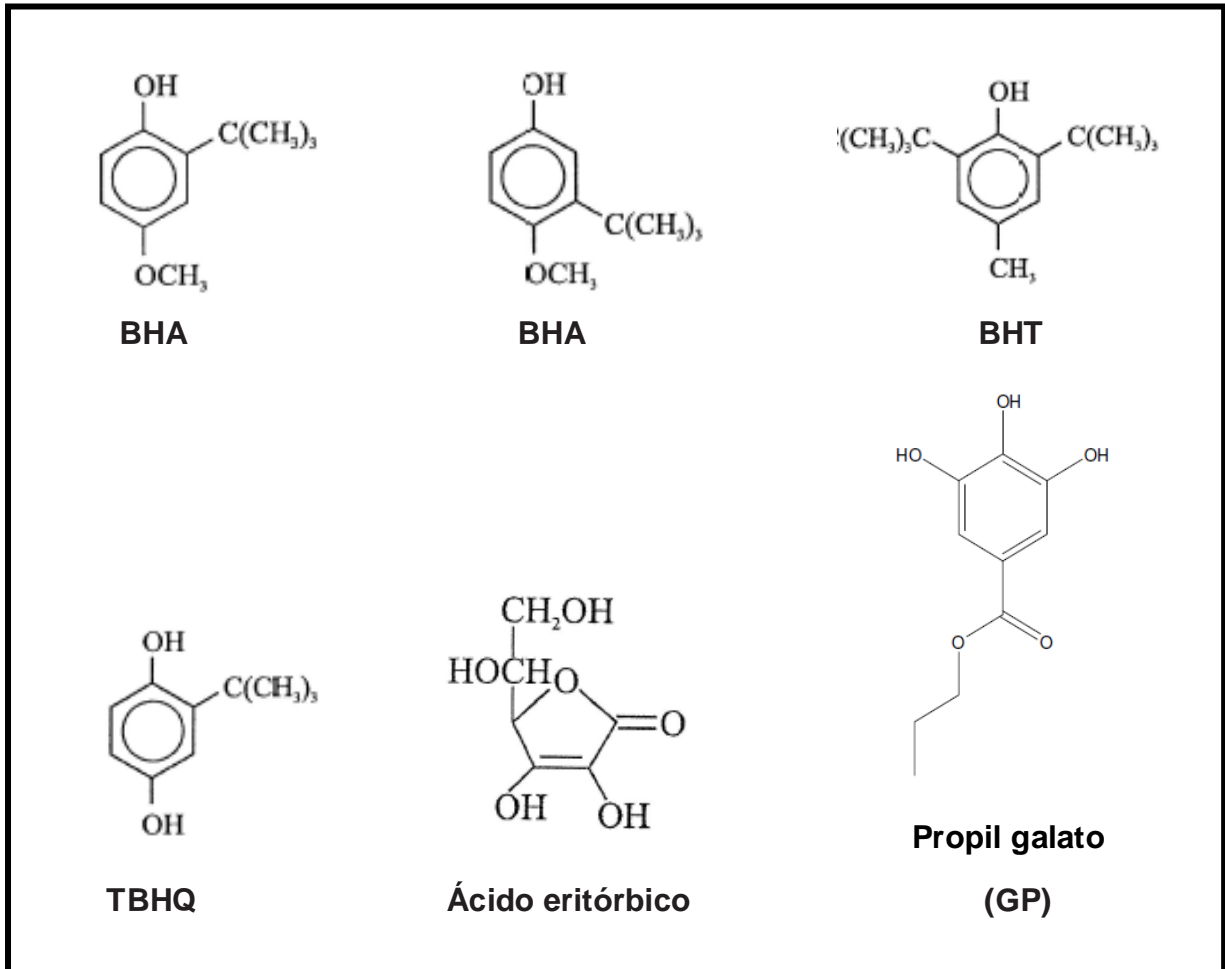


Figura 2 – Estrutura química dos principais antioxidantes artificiais

Fonte: Brewer, 2011; Araújo, 2011.

O ácido eritórbico é o isômero D do ácido ascórbico, não sendo de ocorrência natural em alimentos. Este ácido e seu sal sódico, largamente utilizados na indústria cárnea, são potentes redutores, cuja atividade antioxidante deve-se à capacidade de reduzir o oxigênio molecular, evitando que este atue na formação de radicais livres (ARAÚJO, 2011).

A atividade antioxidante do BHA, BHT, TBHQ e GP deve-se à presença de anel fenólico na molécula, sendo as hidroxilas capazes de doar um átomo de

hidrogênio ao radical livre e assim desativá-lo (ARAÚJO, 2011). O BHA é altamente solúvel em óleos e gorduras e bastante estável ao calor, o que impede sua inativação durante etapas do processamento de alimentos, como o cozimento, pasteurização e fritura (POKORNY; YANISHLIEVA; GORDON, 2008). O BHT apresenta propriedades semelhantes as do BHA, contudo sua atividade antioxidante é inferior devido à presença de dois grupamentos butil, que causam impedimento estérico à hidroxila. O TBHQ é bastante estável ao aquecimento e sua atividade antioxidante é equivalente ou maior que o BHA e BHT, devido à presença de dois grupamentos hidroxila na molécula (ARAÚJO, 2011). À nível mundial, as boas práticas de fabricação limitam o uso destes antioxidantes a um máximo de 0,02% sobre o conteúdo de gordura ou óleo do alimento (DECKER; MEI, 1996), e a legislação brasileira restringe sua utilização em produtos cárneos à no máximo 0,01% (BRASIL, 1998).

Apesar de bastante utilizados, a salubridade de alguns antioxidantes sintéticos vem sendo questionada, uma vez que estes compostos podem favorecer efeitos tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos (BUXIANG; FUKUHARA, 1997; BIRCH et al., 2001; KULAWIK et al, 2012; MERCADANTE et al., 2010). Em função disso, nos últimos anos se tem dirigido muitos estudos com o intuito de descobrir possíveis fontes de antioxidantes naturais e avaliar a ação destes em alimentos (BIRCH et al., 2001; BREWER, 2011; PEREIRA DE ABREU et al., 2010; SELANI et al, 2011).

### 3.3.1 Antioxidantes naturais

O termo antioxidante natural é geralmente empregado para definir antioxidantes que ocorrem naturalmente e que podem ser extraídos de plantas ou tecidos animais (POKORNY; YANISHLIEVA; GORDON, 2008). Os principais antioxidantes naturais usados em alimentos são o ácido ascórbico, os carotenoides e os compostos fenólicos (tocoferóis, flavonoides e ácidos fenólicos) (BREWER, 2011; CHOE; MIN, 2009) (Figura 3).



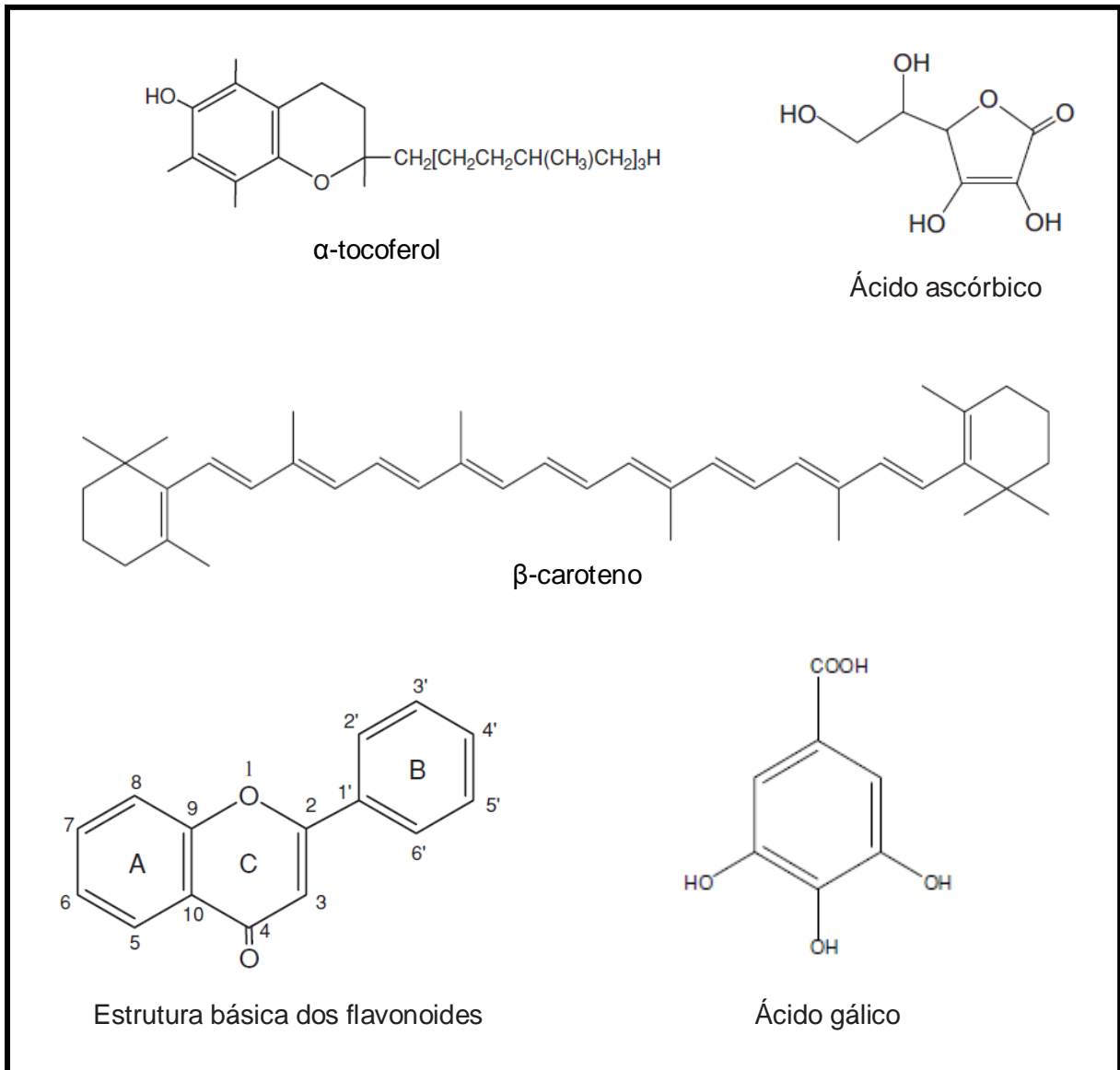


Figura 3 – Estrutura química dos principais antioxidantes naturais

Fonte: Choe; Min, 2009; Brewer, 2011).

O ácido ascórbico, também conhecido como vitamina C, é naturalmente encontrado em frutas e vegetais. Este composto possui quatro grupamentos hidroxila em sua molécula, capazes de doar hidrogênio a sistemas oxidantes e com isso evitar a oxidação dos lipídios. Adicionalmente, sua ação antioxidante, pode se dar devido à capacidade de quelar metais, remover espécies reativas de oxigênio e regenerar antioxidantes fenólicos (BREWER, 2011). Ahn e Nam (2004) avaliaram a ação do ácido ascórbico em carne bovina irradiada e verificaram que este antioxidante reduziu em 40% a formação de substâncias reativas ao ácido

tiobarbitúrico e reduziu também a formação de compostos voláteis (aldeídos), em comparação com um controle sem adição de antioxidante.

Os carotenoides são bastante conhecidos e utilizados como corantes naturais, apresentando colorações que variam do amarelo ao vermelho intenso. Estes compostos também apresentam atividade antioxidante, que pode ocorrer por dois mecanismos de ação: remoção de radicais livres e inativação das espécies reativas de oxigênio. Esta atividade antioxidante, assim como a cor, é decorrente das múltiplas ligações duplas conjugadas presentes em sua estrutura, que permitem que os carotenoides reajam com os radicais livres e o oxigênio no lugar dos ácidos graxos poli-insaturados, evitando assim a iniciação e a propagação das reações de oxidação (SHAMI; MOREIRA, 2004, FONTANA et al. [20--]). Mercadante et al. (2010) avaliaram o efeito antioxidante de quatro carotenoides em salsichas armazenadas sob refrigeração por 45 dias e verificaram que os pigmentos norbixina, zeaxantina e  $\beta$ -caroteno foram mais eficientes em evitar a formação de produtos secundários de oxidação (TBARS) que o eritorbato de sódio.

Os tocoferóis são compostos monofenólicos, constituintes da vitamina E, que podem ser classificados em tocoferóis e tocotrienóis, dependendo da saturação da cadeia lateral isoprenóide (ARAÚJO, 2011). A ocorrência destes compostos é maior em óleos vegetais que em gorduras animais (CHOE; MIN, 2009), contudo, a inclusão de  $\alpha$ -tocoferol na alimentação animal é capaz de aumentar a incorporação deste antioxidante nos tecidos cárneos (BREWER, 2011). Sua atividade antioxidante se deve à capacidade de remover radicais peroxil, através da doação do hidrogênio do grupo hidroxila do anel fenólico (POKORNY; YANISHLIEVA; GORDON, 2008).

Os compostos fenólicos são substâncias aromáticas hidroxiladas, de grande diversidade estrutural (variando desde moléculas fenólicas simples até compostos altamente polimerizados), encontrados naturalmente em cereais, hortaliças, frutas e vegetais, onde contribuem com o *flavor*, cor, sabor, odor e textura. (ARAÚJO, 2011; BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006; NACZK; SHAHIDI, 2006; POKORNY; YANISHLIEVA; GORDON, 2008). Estes compostos exibem propriedades fisiológicas antialérgicas, anti-inflamatórias, antimicrobianas e antioxidantes (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006), sendo que os principais antioxidantes fenólicos são os ácidos fenólicos e os flavonoides.

Os fenóis ácidos dividem-se em derivados do ácido benzoico, cujo principal representante é o ácido gálico, e derivados do ácido hidroxicinâmico (apresentam

cadeia lateral com 3 carbonos), cujo principal representante é o ácido cafeico (ARAÚJO, 2011; BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006). A atividade antioxidante dos fenóis ácidos, de uma maneira geral, é dependente do número de hidroxilas na molécula e deve-se à sua capacidade de remover os radicais livres através da doação de átomos de hidrogênio (BREWER, 2011; BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006).

Os flavonoides são caracterizados por uma estrutura básica composta de dois anéis aromáticos A e B ligados a um anel heterocíclico C (Figura 3). Variações no anel C resultam nas principais classes de flavonoides: flavonóis, flavonas, flavanóis, isoflavonas, flavanonas e antocianidinas; e diferentes substituições nos anéis A e B em compostos de uma mesma classe determinam diferenças em seus potenciais antioxidantes (BREWER, 2011; POKORNY; YANISHLIEVA; GORDON, 2008; BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006).

A atividade antioxidante dos flavonoides é dependente do número e posição de grupamentos hidroxilas nos anéis A e B. A presença de múltiplas hidroxilas no anel B confere maior poder antioxidante aos flavonoides, uma vez que elas serão o primeiro sítio ativo na interrupção da reação em cadeia de oxidação (POKORNY; YANISHLIEVA; GORDON, 2008). Os mecanismos de ação envolvidos na atividade antioxidante dos flavonoides são: remoção de radicais livres, extinção do oxigênio singlete e quelação de metais de transição (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006; BREWER, 2011; CHOE; MIN, 2009; POKORNY; YANISHLIEVA; GORDON, 2008).

Muitos são os estudos avaliando a atividade antioxidante dos compostos fenólicos, potenciais fontes destes compostos e a utilização dos mesmos como antioxidantes para alimentos. Lu et al (2011) avaliaram o conteúdo fenólico e atividade antioxidante de 19 variedades de pimenta comumente utilizadas na culinária chinesa, verificando concentrações de fenólicos que variaram de 3,53 até 58,25 mg EAG/g, sendo que a atividade antioxidante destas pimentas mostrou-se proporcional ao conteúdo de fenólicos, ou seja, quanto maior o conteúdo de fenólicos presentes, maior a atividade antioxidante das pimentas. Dudonné et al. (2009) avaliaram o conteúdo de fenólicos e a atividade antioxidante dos extratos aquosos de 30 plantas de interesse das indústrias cosméticas e alimentícias, e verificaram significativa correlação entre a concentração de compostos fenólicos e a capacidade destes extratos em remover radicais livres, sendo que os extratos de

carvalho, canela, cravo e erva-mate foram identificados como antioxidantes promissores. Masqsood, Benjakul e Balange (2012) extraíram, utilizando etanol como solvente, os compostos fenólicos das cascas de árvores *kiam* (comuns na Tailândia), e aplicaram este extrato evaporado em salsichas de peixe. Os autores avaliaram a ação antioxidante do extrato de *kiam* ao longo de 20 dias de armazenamento refrigerado e verificaram que as salsichas adicionadas de 0,08% de extrato tiveram menor formação de peróxidos e TBARS que o controle sem antioxidante.

Os ácidos fenólicos e os flavonoides tem importante contribuição na atividade antioxidante de certos grãos (NACZK, SHAHIDI, 2006). A cevada apresenta grande conteúdo de fenólicos (0,2 a 0,4%) (BAIK; ULLRICH, 2008), em especial ácidos fenólicos, proantocianidinas e flavonoides e seu extrato se revela como fonte de antioxidantes naturais (LIU; YAO, 2007) com possibilidade de uso em alimentos. Nas frutas, a atividade antioxidante também se deve, principalmente, aos compostos fenólicos (ORAK, 2007), sendo as uvas consideradas umas das principais fontes destes compostos quando comparadas a outros vegetais (ABE et al., 2007). Os principais fenólicos presentes nas uvas são os ácidos fenólicos e os flavonoides (antocianinas, flavonóis e flavanóis) (ANASTASIADI et al., 2010), que possuem reconhecida atividade antioxidante.

### 3.3.1.1 Cevada e uva como fontes de antioxidantes naturais

A cultura da cevada é bastante antiga e importante, sendo um dos cinco grãos de maior produção mundial (GUPTA; ABU-GHANNAM; GALLAGHAR, 2010). Este cereal já foi bastante utilizado na alimentação humana, porém, nos últimos tempos passou a ser mais utilizado para a alimentação animal e produção de malte e cerveja: cerca de 2/3 da cevada produzida no mundo é utilizada para ração, 1/3 para produção de malte e apenas 2% é utilizada diretamente como alimento (BAIK; ULLRICH, 2008).

Recentemente, a cevada tem tido interesse renovado como ingrediente para a produção de alimentos funcionais e como fonte de compostos bioativos, entre eles  $\beta$ -glucanas, tocoferol e tocotrienol (GALLEGOS-INFANTE et al., 2010). Além disso,

o grão possui várias classes de compostos fenólicos e estes tem atraído a atenção de cientistas em alimentos devido à sua atividade antioxidante, (BEZERRA, 2009; LIU; YAO, 2007). Maillard et al. (1996) demonstraram que a ação antioxidante de extratos de cevada é significativa e tem relação com o conteúdo de fenólicos totais do grão. Liu e Yao (2007) avaliaram a ação antioxidante de extratos de cevada com diferentes solventes e observaram que o extrato em acetona 70% demonstrou ação semelhante ao antioxidante sintético BHT.

Assim como o grão não processado, o malte também apresenta compostos fenólicos e significativa atividade antioxidante *in vivo* e *in vitro* (QINGMING et al. 2010). Além disso, o processo de maltagem da cevada para a produção de cerveja aumenta a quantidade de fenólicos totais no grão, bem como sua atividade antioxidante (LU et al, 2007).

Sabendo-se que a cevada é fonte de compostos fenólicos e que seu processamento para a produção de cervejas aumenta a concentração destes compostos bioativos, quantidades remanescentes destes também podem ser encontradas nos resíduos sólidos gerados pelas cervejarias. Pereira de Abreu et al. (2010) e Pereira de Abreu et al. (2011) utilizaram extrato da casca de cevada (resíduo do processo de fermentação do grão) como fonte de compostos antioxidantes para embalagens ativas. Nestes estudos, a embalagem contendo antioxidantes obtidos dos resíduos de cevada mostrou-se eficiente no aumento da estabilidade oxidativa de salmão e carne de tubarão azul.

Todavia, poucos são os estudos avaliando os resíduos agroindustriais de cevada como fonte de compostos fenólicos. Pesquisas são necessárias para avaliar a utilização destes subprodutos como fonte de antioxidantes e ingredientes para alimentos, uma vez que aproximadamente 4 milhões de toneladas de resíduos sólidos são gerados anualmente pelas indústrias cervejeiras apenas na Europa (GUPTA; ABU-GHANNAM; GALLAGHAR, 2010) e a maior parte desse volume não tem utilização ou é usada para fins pouco rentáveis.

As uvas são uma das principais culturas mundiais de frutas e cerca de 80% de sua produção é utilizada pela indústria vinícola, levando à geração de grandes quantidades de resíduos com consequentes problemas ambientais na eliminação destes (YI et al., 2009). Assim como as uvas, os resíduos da fabricação de vinho também se caracterizam por altos conteúdos de compostos fenólicos devido a sua incompleta extração durante a produção da bebida (ROCKENBACH et al., 2011) e,

esta quantidade relativamente alta denota a importância da reutilização dos subprodutos das indústrias vinícolas (Yi et al., 2009).

Os resíduos agroindustriais da produção de vinho são constituídos por sementes, cascas e engace das uvas. A composição das sementes é, basicamente, 40% fibras, 16% lipídios, 11% proteínas e 7% compostos fenólicos. As cascas são fontes de antocianinas e antocianidinas, pigmentos naturais com propriedades antioxidantes e antimutagênicas, e os talos são ricos em compostos fenólicos diversos (CAMPOS et al., 2008). Os resíduos de vinificação podem conter de 5 a 8% de compostos fenólicos (ÖZVURAL; VURAL, 2011).

Yi et al. (2009) demonstraram que resíduos agroindustriais de uvas em pó, apresentam alto conteúdo de compostos fenólicos e que sua atividade antioxidante é proporcional ao conteúdo de fenólicos totais e antocianinas. Os autores concluíram, ainda, que estes resíduos podem ser utilizados como ingredientes com ação antioxidante em alimentos. Özvural e Vural (2011) adicionaram pó de semente de uva (resíduo da produção de vinho) em salsichas e verificaram que este foi eficiente em evitar a oxidação lipídica do produto (avaliada através de análise de TBARS), e que quanto maior a quantidade do ingrediente teste adicionado, maior a proteção oxidativa.

Shirahigue et al. (2010) extraíram compostos fenólicos em resíduos provenientes de indústrias vinícolas, quantificaram e testaram a atividade antioxidante de seu extrato em carne de frango cozida. Os autores verificaram ação antioxidante semelhante ao BHT, quando utilizado na concentração de 60 mg de compostos fenólicos por quilo de carne. Corroborando com esta pesquisa, Selani et al. (2011) demonstraram que os extratos de resíduos de uvas das variedades Isabel e Niagara são tão efetivos quanto o BHT e o eritorbato de sódio na prevenção da oxidação em carne de frango cozida ao longo do tempo de armazenamento.

Diante do conhecimento de que a cevada e as uvas apresentam grandes concentrações de compostos fenólicos em sua constituição e que certa quantidade destes permanecem nos seus resíduos agroindustriais, a pesquisa dos resíduos como fonte de antioxidantes naturais para alimentos é promissora e atende às exigências do mercado consumidor por produtos mais saudáveis, e os apelos mundiais pela diminuição na geração de resíduos.

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Materiais**

Os extratos antioxidantes foram preparados e analisados no Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análises Laboratoriais (NIDAL) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Estes extratos foram preparados a partir de resíduos agroindustriais de cervejaria e vinificação de uvas tinta e branca, os quais foram obtidos junto à cervejaria e vinícolas locais e armazenados a -20 °C até sua utilização. O resíduo de cervejaria constituía-se de grãos de cevada e os resíduos de vinificação consistiram de cascas, sementes e engaces de uvas Merlot (*V. vinifera*) e Moscato (*V. vinifera*), respectivamente, utilizadas na produção de vinhos tinto e branco. As carnes, ingredientes e embalagens utilizados na fabricação das salsichas, inclusive a preparação comercial de eritorbato de sódio utilizada como controle positivo, foram obtidos junto ao frigorífico comercial onde os tratamentos foram elaborados.

Os reagentes utilizados foram todos de grau analítico.

### **4.2 Preparação dos extratos**

Os resíduos congelados foram colocados em ultra-freezer (Thermo Scientific 900 series, USA) a -80 °C por 2 dias e depois foram liofilizados (Terroni LS300, São Carlos, São Paulo, Brasil), e moídos finamente em moinho analítico refrigerado (Marconi, Piracicaba, São Paulo, Brasil) por 2 minutos. Os extratos foram preparados em concentração de 20%, ou seja, vinte gramas de resíduo seco e moído foram misturados com 100 mL de álcool de cereais 80% (v/v) e sonicados em banho de ultrassom (Unique USC 1600, Indaiatuba, São Paulo, Brasil) por 30 minutos à temperatura ambiente (BEZERRA, 2009). Em seguida, os extratos foram

filtrados duas vezes (papel filtro quantitativo 12,5 mm) e armazenados dentro de frascos âmbar sob congelamento (-12 °C) até a utilização.

### **4.3 Conteúdo de fenólicos totais e atividade antioxidante dos extratos de resíduos agroindustriais**

O conteúdo de fenólicos totais foi avaliado antes da aplicação dos extratos nas salsichas, para determinar o volume de extrato a ser adicionado no produto. A análise foi feita conforme método proposto por Singleton e Rossi (1965), em que 0,2 mL da amostra devidamente diluída foram misturados com 1 mL do reagente de Folin-Ciocalteu e após 5 minutos foram adicionados 0,8 mL de carbonato de sódio a 7,5%. Após duas horas de incubação no escuro e à temperatura ambiente, a absorbância foi mensurada em espectrofotômetro colorimétrico (Femto 600, São Paulo, São Paulo, Brasil) a 765 nm. A análise foi realizada em triplicata e a quantificação dos compostos fenólicos foi efetuada utilizando curva padrão de ácido gálico. Os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico por litro de extrato e por 100 g de resíduo peso seco (mg EAG/L e mg EAG/100 g PS).

A capacidade dos extratos de resíduos de cevada e de uvas em remover radicais livres foi avaliada através da metodologia proposta por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). A solução de DPPH (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) foi previamente diluída em etanol até ser obtida absorbância de  $1,10 \pm 0,02$  a 517 nm. Os extratos hidroetanólicos (0,1 mL do extrato devidamente diluído) foram misturados com 3,9 mL de solução de DPPH e incubados no escuro à temperatura ambiente por 24 horas. Após a incubação, a absorbância foi lida a 517 nm (Femto 600, São Paulo, São Paulo, Brasil) e o percentual de inibição do radical foi calculado através da fórmula:

$$\% \text{ inibição} = [(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{EXT}}) / A_{\text{DPPH}}] \times 100$$

em que  $A_{\text{DPPH}}$  é a absorbância da solução contendo apenas DPPH e o solvente (branco) e  $A_{\text{EXT}}$  é a absorbância na presença do extrato.



Além disso, foi calculado também o volume de extrato necessário para inibir em 50% o radical DPPH.

#### 4.4 Elaboração das salsichas

As salsichas foram produzidas em frigorífico comercial. A mesma massa base de salsichas foi utilizada para todos os tratamentos e cinco diferentes tratamentos foram empregados, dependendo do antioxidante utilizado: 1) controle negativo (CON) sem a adição de antioxidante; 2) controle positivo com eritorbato de sódio (ES), antioxidante sintético normalmente empregado pela indústria cárnea na concentração de 0,05%; 3) extrato de resíduo de cervejaria (ERC) como antioxidante natural; 4) extrato de resíduo de vinificação de uva tinta (ERVTV) como antioxidante natural; e 5) extrato de resíduo de vinificação de uva branca (ERVB) como antioxidante natural. O volume de extrato adicionado foi calculado de forma a obter-se concentração de 60 mg de fenólicos totais/kg de salsicha (Shirahigue et al., 2010; Selani et al., 2011). Foram executadas quatro repetições em cada tratamento.

As formulações empregadas na elaboração das salsichas são apresentadas na Tabela 1. As carnes, previamente moídas (disco 12) em moedor industrial TR 200 (Risco, Vicenza, Italy), foram trituradas em *cutter* CT 220 (Incomaf, Germany) juntamente com o sal, o tripolifosfato de sódio e metade do gelo durante 3 minutos. Decorrido este tempo, foram adicionados os demais ingredientes secos e na sequência o retalho gordo. Após mais 3 minutos de trituração, foram adicionados o restante do gelo, a fécula e o regulador de acidez. A massa foi processada por mais alguns minutos, até apresentar aparência homogênea. Esta massa foi porcionada entre os cinco tratamentos (4 repetições por tratamento), e as porções retornaram ao *cutter* para a adição dos antioxidantes, sendo que no CON, no lugar do antioxidante, foi adicionada água e nos demais tratamentos utilizou-se água para igualar o volume de líquido adicionado. O tempo de permanência das massas no *cutter* não ultrapassou 10 minutos, e a temperatura final foi inferior a 12 °C.

Na sequência as salsichas foram embutidas em tripa natural, em gomos de aproximadamente 8 cm, e cozidas em banho de água quente (80 °C) com corante urucum, até atingirem temperatura interna de 72 a 73 °C (aproximadamente 50

minutos). Ao final do cozimento, as amostras foram imediatamente resfriadas em banho de água gelada e depois seguiram para câmara-fria a 4 °C por 2 horas. Após resfriadas, as salsichas foram embaladas à vácuo em embalagens adequadas (nylon-poli multicamadas – baixa permeabilidade a gases e à umidade) e armazenadas sob refrigeração (4 °C) em câmara-fria por 60 dias.

Durante todo o processo de elaboração das salsichas foram seguidas e respeitadas as Boas Práticas de Fabricação (BPF).

As análises laboratoriais, com exceção dos compostos voláteis (1, 30 e 60 dias) e análise sensorial (1, 15 e 30 dias), foram realizadas no dia seguinte ao seu preparo (dia 1) e aos 15, 30, 45 e 60 dias de vida de prateleira.

Tabela 1 – Formulações empregadas na elaboração das salsichas.

Ingredientes (%)	Tratamentos				
	CON	ES	ERC	ERVT	ERVB
Carne bovina	66,86	66,86	66,86	66,86	66,86
Retalho gordo	16,30	16,30	16,30	16,30	16,30
Gelo	8,32	8,32	8,32	8,32	8,32
Sal (NaCl)	2,83	2,83	2,83	2,83	2,83
Sal de cura (NaNO <sub>2</sub> )	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
Fécula de mandioca	1,66	1,66	1,66	1,66	1,66
Proteína texturizada de soja (PTS)	2,49	2,49	2,49	2,49	2,49
Condimento e temperos	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66
Tripolifosfato de sódio	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
Realçador de sabor (glutamato monossódico)	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Mistura comercial corante cochonilha (3%)	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Regulador de acidez (56% ácido láctico)	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42
TOTAL	100	100	100	100	100
Antioxidantes (quantidade/kg salsicha)					
Mistura comercial de eritorbato de sódio (g) <sup>1</sup>	0,00	1,40	0,00	0,00	0,00
Extrato de resíduos de cervejaria – ERC (mL)	0,00	0,00	51,00	0,00	0,00
Extrato de resíduos de uva tinta – ERVT (mL)	0,00	0,00	0,00	6,20	0,00
Extrato de resíduos de uva branca – ERVB (mL)	0,00	0,00	0,00	0,00	7,35
Água (mL) <sup>2</sup>	51,00	49,60	0,00	44,80	43,65

CON: controle (sem antioxidante); ES: eritorbato de sódio; ERC: extrato de resíduo de cervejaria; ERVT: extrato de resíduo de vinificação de uva tinta (Merlot); ERVB: extrato de resíduo de vinificação de uva branca (Moscato).

<sup>1</sup> Mistura comercial de eritorbato de sódio: aproximadamente 35% de eritorbato de sódio; produto na forma de pó.

<sup>2</sup> Utilizou-se água para igualar o volume de líquido adicionado a todos os tratamentos.

## 4.5 Análises das salsichas

### 4.5.1 Composição química e pH

Proteína e cinzas foram determinadas de acordo com os protocolos 960.52 e 923.03, respectivamente, da AOAC (1995) e a umidade foi determinada pela perda de peso em estufa a 105 °C. A gordura foi extraída utilizando hexano e álcool isopropílico, conforme descrito por Hara e Radin (1978), e utilizada para a determinação do teor de gordura, índice de peróxidos e perfil de ácidos graxos. Adicionou-se butil hidroxianisol (BHT) ao hexano para prevenir a oxidação lipídica durante e após a extração das gorduras. Os carboidratos foram determinados por diferença. O pH foi mensurado diretamente nas salsichas, com potenciômetro digital PH-2600 (Icel Manaus, Manaus, Amazônia, Brazil), equipado com eletrodo de penetração (de vidro) e probe de temperatura. Estas análises foram realizadas em duplicata, com exceção do pH que foi em triplicata.

### 4.5.2 Sinerese (perda por exsudação)

A perda de líquido pelas amostras ao longo do período experimental foi avaliada através da diferença entre as massas inicial e final das salsichas: em cada período experimental, realizou-se a pesagem dos pacotes de salsichas fechados e a pesagem das salsichas e das embalagens (devidamente secas com papel absorvente) após a abertura dos pacotes. A diferença entre os pesos foi considerada sinerese. Os resultados foram expressos em % (gramas de líquido liberado/100 g de produto).

#### 4.5.3 Cor objetiva

A cor das salsichas foi analisada usando colorímetro CR-310 (Minolta Ltd., Osaka, Japan) conforme o sistema da *Comission Internationale de L'Éclairage* – CIE, (CIE, 1976) utilizando as coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  ( $L^*$  = luminosidade,  $a^*$  = vermelhidão e  $b^*$  = palidez), iluminante D65 e ângulo de  $10^\circ$ . As análises foram realizadas à temperatura ambiente. Três salsichas de cada repetição por tratamento foram fatiadas e colocadas na abertura do equipamento. Foram realizadas duas leituras na parte interna de cada salsicha, totalizando seis leituras para cada repetição. Foram calculados, ainda, a razão  $a^*/b^*$ , o índice de saturação  $c^*$  (chroma) e a tonalidade  $h^*$ . Para o cálculo de  $c^*$  e  $h^*$  foram utilizadas as seguintes fórmulas:

$$c^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad \text{e} \quad h^* = \tan^{-1} (b^*/a^*)$$

#### 4.5.4 Textura objetiva

A análise do perfil de textura (TPA – *Texture Profile Analysis*) foi realizada em três salsichas para cada repetição por tratamento, sendo que de cada salsicha foram retiradas duas amostras, totalizando seis mensurações em cada repetição por tratamento.

As análises do perfil de textura foram realizadas no texturômetro TA-XT.plus equipado com o aplicativo Texture Exponent 32 (Stable Microsystems Ltd., Surrey, England). Para a análise as salsichas encontravam-se à temperatura ambiente. As amostras com 2 cm de diâmetro e 1 cm de altura foram analisadas em ciclo duplo de compressão utilizando probe cilíndrica com 45 mm de diâmetro e compressão de 50% de sua altura original. As condições utilizadas para a análise do perfil de textura foram as seguintes: velocidade pré-teste de 1 mm/s, velocidade de teste 5,0 mm/s e pós-teste de 5,0 mm/s, força de 1 g e trigger de 5 g. Os parâmetros avaliados foram: dureza (N), coesividade, elasticidade e mastigabilidade (BOURNE, 1978).

#### 4.5.5 Índice de peróxidos (IP)

Os produtos primários da oxidação lipídica foram avaliados pela determinação do índice de peróxidos, utilizando a metodologia da *International Dairy Federation* (IDF) (SHANTA; DECKER, 1994). Para esta determinação foram utilizadas de 0,01 a 0,04 g de lipídios (dependendo do grau de peroxidação) anteriormente extraídos pelo método de Hara e Radin (1978) e sem o solvente (evaporado à temperatura ambiente com o uso de bomba de vácuo). Os lipídios foram pesados dentro de tubos de ensaio e na sequência foram adicionados de 9,8 mL de clorofórmio-metanol (7:3) e agitados em vortex por 2-4 segundos. Em seguida foram adicionados 50 µL de tiocianato de amônia aos tubos e as amostras foram novamente ao vortex por 2-4s. Posteriormente, foram adicionados 50 µL de solução de cloreto ferroso e os tubos foram agitados em vortex por 2-4 s. As amostras foram incubadas à temperatura ambiente e ao abrigo da luz por 5 minutos e então, suas absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro Femto 600 (Femto, São Paulo, Brasil) a 500 nm.

A quantificação do índice de peróxidos foi realizada utilizando uma curva de Fe (III) e os resultados foram expressos em miliequivalentes de peróxidos por quilo de gordura (meq peróxidos/kg gordura).

#### 4.5.6 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico foi realizada conforme método proposto por Raharjo, Sofos e Schmidt (1992), com modificações: 10 gramas de amostra previamente triturada em processador doméstico foram pesados dentro de tubos falcon de 50 mL. À amostra adicionou-se 1 mL de butil-hidroxitolueno (BHT) 0,15%, 4 mL de sulfanilamida 0,5% e 36 mL de ácido tricloroacético (TCA) 5%. Os tubos foram fechados, homogeneizados em vortex por 1 minuto e centrifugados a 2700 g por 10 minutos. Após a centrifugação a solução foi filtrada em papel filtro quantitativo (12,5 mm) e depositada em balão volumétrico de 50 mL. O volume de filtrado no balão foi completado com TCA 5% até 50 mL. De cada balão foram retiradas três alíquotas (triplicata) de 2 mL, que foram colocadas

em tubos de ensaio com tampa e adicionadas de 2 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,08M (cod.1081800025, Merck, Darmstadt, Germany). Os tubos foram aquecidos em banho-maria fervente por 40 minutos e após resfriarem, a absorbância foi lida em espectrofotômetro Femto 600 (Femto, São Paulo, Brasil) a 532 nm.

Os resultados foram calculados a partir de uma curva padrão de 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) (T9889, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) e expressos em miligramas de malonaldeído por kg de amostra (mg MDA/kg salsicha).

#### 4.5.7 Perfil de ácidos graxos

Os triglicerídeos extraídos pela metodologia de Hara e Radin (1978) foram pesados dentro de tubos de ensaio, transesterificados e metilados segundo os procedimentos descritos por Christie (1982). Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram analisados usando cromatógrafo a gás modelo modelo Varian 3400CX equipado com detector de ionização em chama (FID), injetor automático Varian 4200 e coluna capilar HP-88 (Agilent Technologies, California, USA) com 100 m de comprimento x 0,25 mm de espessura e filme de 0,20  $\mu\text{m}$ . O gás de arraste utilizado foi o hidrogênio à pressão constante de 20 psi. As condições cromatográficas adotadas foram: injetor no modo *split* (razão 1:50) e temperatura de 250 °C, temperatura inicial da coluna de 50 °C por 1 minuto, aumentando 15 °C por minuto até 185 °C, depois 0,5 °C por minuto até 205 °C e então 5 °C por minuto até 220 °C, sendo esta temperatura mantida por 10 minutos.

A identificação dos ésteres metílicos de ácidos graxos foi realizada por comparação dos tempos de retenção dos analitos com padrões Sigma (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA): FAME Mix-37 (cód 47885-U), Methyl- cis- 7, 10, 13, 16, 19 docosapentaenoato de etila (cód 47563-U), metil ésteres do ácido vacênico (cód 46905-U), mistura de isômeros C18:3 (cód 47792), mistura de isômeros C18:2 (cód 47791) e os resultados foram expressos em percentual da área total.

#### 4.5.8 Compostos voláteis indicadores de oxidação lipídica

Os compostos voláteis foram extraídos através da técnica de microextração em fase sólida aplicada ao *headspace* da amostra (HS-SPME), com fibra Car/PDMS (carboxen/polidimetilsiloxano) de 75  $\mu\text{m}$  e 1 cm de comprimento (Supelco, Bellefonte, PA, USA). Para a extração, 5 gramas de salsicha previamente triturada foram colocados em frascos âmbar de 20 mL e tampados com septo de PTFE. A extração foi realizada através da exposição da fibra no espaço confinado (*headspace*) entre a amostra e o frasco aquecidos a 60 °C em banho-maria. O tempo de extração foi de 50 minutos, precedidos por 10 minutos de equilíbrio do frasco com a amostra na mesma temperatura de extração, porém sem a exposição da fibra. Antes das análises a fibra foi pré-condicionada conforme as recomendações fornecidas pelo fabricante.

A análise qualitativa dos compostos voláteis adsorvidos pela fibra foi realizada em cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas Shimadzu 2012 *Plus* (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) e utilizando coluna CP-WAX 52 CB (60 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ ) (Agilent Technologies, California, USA). A dessorção térmica da fibra no injetor foi realizada a 250 °C por 10 minutos (no modo *splitless* por 1 minuto). O gás de arraste utilizado foi o hélio, com fluxo constante de 1,4 mL/min. A temperatura inicial da coluna foi de 30 °C e permaneceu por 2 minutos, em seguida aumentou 2 °C por minuto até 80 °C e então 4 °C por minuto até 230 °C, sendo esta temperatura mantida por 4 minutos. A interface GC/MS e a fonte de ionização foram mantidas a 230 °C. O detector de massas foi operado no modo de ionização por elétrons (+70 eV), utilizando o modo de varredura realizado de 35 a 350 m/z.

Uma série homóloga de alcanos (C6 – C24) foi analisada nas mesmas condições cromatográficas, para o cálculo do Índice de Kovats (IK) dos compostos voláteis. A identificação dos voláteis se deu pela comparação dos espectros experimentais com aqueles fornecidos pela biblioteca NIST (National Institute of Standards and Technology) e pela comparação de seus índices de retenção (Índice de Kovats) com aqueles encontrados na literatura (BIANCHI et al., 2007; ACREE; HEINRICH, 2009). Os resultados foram expressos em área do pico do volátil.

#### 4.5.9 Análise sensorial

Os tratamentos foram analisados sensorialmente nos dias 1, 15 e 30 de sua vida de prateleira. Para cada análise sensorial (período) foram utilizados 45 provadores não treinados, devidamente informados sobre o estudo e que consentiram em participar do mesmo. O protocolo da pesquisa foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa local (23081.015330/2011-11).

As salsichas foram aquecidas à temperatura de 60 °C em banho-maria por 2 minutos, fatiadas em rodela com 1 cm de espessura, codificadas com 3 dígitos e oferecidas aleatoriamente aos provadores. O teste transcorreu em cabines individuais. Os provadores avaliaram as amostras quanto à aparência, cor, odor, textura e sabor, utilizando escala hedônica estruturada de 9 pontos (1 = desgostei muitíssimo e 9 = gostei muitíssimo).

Com o intuito de avaliar a aceitabilidade das salsichas em relação à cor, aparência, odor, sabor e textura ao longo de sua vida de prateleira foi calculado o índice de aceitabilidade das amostras através da fórmula  $IA(\%) = (A \times 100) / B$ , em que A é a nota média obtida para um dado atributo da amostra e B é a nota máxima dada ao atributo. A aceitabilidade foi considerada como boa quando  $IA \geq 70\%$  (GULARTE, 2009).

#### 4.6 Análise estatística

Os dados dos diferentes tratamentos (antioxidantes: controle, eritorbato de sódio, extrato de resíduo de cervejaria, extrato de resíduo de vinificação de uva tinta e extrato de resíduo de vinificação de uva branca) nos distintos tempos (vida de prateleira: 0, 15, 30, 45, e 60 dias para as características físico-químicas; 0, 15 e 30 dias para as características sensoriais; e 0, 30 e 60 dias para os compostos voláteis) foram analisados em delineamento inteiramente casualizado com medida repetida no tempo, utilizando o procedimento MIXED e empregando estrutura paramétrica especial nas matrizes de (co)variância, conforme o modelo estatístico:



$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \gamma_k + \alpha\gamma_{ik} + e_{ijk}$$

em que,  $Y_{ijk}$  denota a mensuração ao tempo  $k$  na  $j$ -ésima repetição designada ao tratamento  $i$ ;  $\mu + \alpha_i + \gamma_k + \alpha\gamma_{ik}$  é a média para o tratamento  $i$  ao tempo  $k$ , contendo os efeitos fixos para tratamento, tempo, e interação tratamento  $\times$  tempo;  $e_{ijk}$  é o erro aleatório associado com a mensuração ao tempo  $k$  na  $j$ -ésima repetição designada ao tratamento  $i$ ; tal que  $Var Y = I_k \otimes \Sigma$ , em que  $I_k$  é uma matrix identidade de dimensão igual ao número de repetições e  $\Sigma$  representa a matrix de (co)variância residual devido a obtenção de várias medidas da mesma unidade experimental  $j$ .

As variáveis sensoriais, obtidas em escala hedônica de nove pontos, foram transformadas pelas suas respectivas raízes quadradas para atender aos pressupostos do modelo linear de Gauss-Markov-Normal (GRAYBILL, 1976) e, com isso, permitir o uso de modelos paramétricos.

As estruturas de (co)variância dos erros  $e_{ijk}$  testadas foram: componentes de variância (VC - *Variance Components*), simetria composta (CS - *Compound Symmetry*), simetria composta heterogênea (CSH - *Compound Symmetry Heterogeneous*), desestruturada (UN - *Unstructured*), correlações desestruturadas (UNR - *Unstructured Correlations*), auto regressiva de primeira ordem (AR (1) - *First-Order Autoregressive*), auto regressiva heterogênea de primeira ordem (ARH (1) - *First-Order Autoregressive Heterogeneous*), auto regressiva de primeira ordem com média móvel (ARMA (1,1) - *First-Order Autoregressive Moving-Average*), Toeplitz (TOEP), Toeplitz heterogênea (TOEPH - *Toeplitz Heterogeneous*), ante dependente de primeira ordem (ANTE(1) - *First-Order Ante-dependence*), e Huynh-Feldt (HF). A escolha da estrutura de (co)variância baseou-se na matriz que minimizasse os valores dos critérios de informação de Akaike (AIC - *Akaike's Information Criterion*) e Bayesiano de Schwarz (BIC - *Schwarz's Bayesian Criterion*).

Os componentes de (co)variância e as soluções para os efeitos fixos foram estimados pelo método da máxima verossimilhança residual restrita (REML - *Residual (restricted) maximum likelihood*), e o número de graus de liberdade do denominador para o teste F foram calculados pelo método de Kenward-Rogers.

Utilizou-se a análise de contrastes ortogonais para avaliar diferenças entre tratamentos e para verificar tendências entre a vida de prateleira com os coeficientes

para interpolação dos polinômios ortogonais estimados pelo procedimento IML (*Interactive Matrix Language*).

As médias foram ajustadas pelo método dos quadrados mínimos com o comando LSMEANS (*Least Squares Means*) e comparadas pelo teste Tukey. Além disso, independente da significância da interação tratamento  $\times$  tempo, foi efetuada análise de regressão linear simples e polinomial para investigar as alterações nas variáveis dependentes em função da vida de prateleira. Os parâmetros dos modelos de regressão ajustados foram estimados pelo procedimento MIXED com o comando SOLUTION. Adicionalmente, também foi realizada estatística descritiva e análise de correlação de Spearman entre as variáveis estudadas.

Posteriormente, foi executada análise de variância multivariada com o comando MANOVA, complementada pela técnica discriminante canônica com o procedimento CANDISC (KHATTREE; NAIK, 2000), em delineamento inteiramente casualizado desconsiderando-se o arranjo fatorial, conforme o modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu_k + \alpha_{ik} + \varepsilon_{ijk}$$

em que,  $Y_{ijk}$  = valor observado da  $k$ -ésima variável, sob o  $i$ -ésimo tratamento na  $j$ -ésima repetição;  $\mu_k$  = média geral da  $k$ -ésima variável;  $\alpha_{ik}$  = efeito do  $i$ -ésimo tratamento na  $k$ -ésima variável; e  $\varepsilon_{ijk}$  = efeito aleatório associado à observação  $ijk$ , suposto que  $\varepsilon_{ijk} \stackrel{iid}{\sim} N(0, \sigma^2)$ .

Para tanto, foram obtidas as matrizes  $T$ ,  $H$  e  $E$ , as quais são, respectivamente, matrizes de somas de quadrados e produtos totais, tratamentos e residuais. Em seguida, foi realizado o teste de Wilks para testar a hipótese que os vetores de médias dos tratamentos fossem nulos  $H_0: \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_i$ , como segue:

$$\Lambda = \frac{E}{H + E}$$

em que,  $E$  é o determinante da matriz de somas de quadrados e produtos residuais  $E$ ;  $H + E$  é o determinante da matriz  $H + E$ , sendo  $H$  a matriz de somas de quadrados e produtos associados à hipótese em questão.

A partir da análise multivariada calcularam-se os autovalores determinando as raízes características da equação (HARRIS, 1975):

$$E^{-1}H - \lambda_j I = 0$$

em que,  $E^{-1}$  = inversa comum da matriz das somas de quadrados e de produtos residuais;  $H$  = matriz das somas de quadrados e de produtos referente a tratamentos;  $\lambda_j$  =  $j$ -ésimo autovalor da matriz  $E^{-1}H$ ; e  $I$  = matriz identidade de ordem  $k$ .

Após, estimaram-se os autovetores associados aos autovalores pela solução do sistema linear, conforme a restrição:

$$\ell_j' \frac{E}{n_e} \ell_j = 1$$

em que,  $\ell_j$  =  $j$ -ésimo autovetor (vetor canônico) associado a cada autovalor  $\lambda_j$ ;  $\ell_j'$  = transposta do  $j$ -ésimo vetor canônico;  $E$  = matriz das somas de quadrados e de produtos residuais;  $n_e$  = número de graus de liberdade do resíduo.

Os gráficos *biplot* (*scores* e *loadings*) foram elaborados conforme Lipkovich & Smith (2002) utilizando escalonamento JK (RMP).

O descarte ou seleção de variáveis ( $n = 90$ ) para a análise multivariada baseou-se nos seguintes critérios:

1º) descartou-se uma entre duas variáveis altamente correlacionadas ( $r \geq 0,70$ ) com o intuito de evitar problemas de multicolinearidade ( $n = 43$ ).

2º) descartou-se as variáveis de menor importância ( $n = 31$ ) para a divergência entre os tratamentos, cujos coeficientes de ponderação ( $\varphi_j$ ) foram de maior magnitude em valor absoluto nas últimas variáveis canônicas, de menor importância relativa (menor autovalor), ou seja, que retêm menor proporção da variância total, tal que:

$$\partial_j = c_j \overline{\sigma_j^2}$$

em que,  $\partial_j$  = coeficiente de ponderação associado à  $p$ -ésima variável padronizada  $x_p$ ;  $c_j$  = coeficiente de ponderação associado à  $j$ -ésima variável original  $x_j$ ;  $\sigma_j^2 = \sigma_{jj}$  = quadrado médio do resíduo associado à  $j$ -ésima variável.

3º) descartou-se as variáveis cujos coeficientes de correlação com as duas primeiras variáveis canônicas (*loadings*) não foram significativos ( $n = 23$ ), ou seja, aquelas que não explicaram a dimensão do hiperplano gerado pelas duas primeiras canônicas.

As análises estatísticas foram realizadas no aplicativo SAS® - *Statistical Analysis System* versão 9.0 (SAS Institute Inc., Cary - NC, USA) ao nível de 5% de significância.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Conteúdo de fenólicos totais e atividade antioxidante dos extratos de resíduos agroindustriais

Houve diferença ( $P < 0,05$ ) no conteúdo de fenólicos totais e na inibição do radical DPPH para os distintos extratos dos resíduos agroindustriais (Tabela 2). O extrato de resíduo de vinificação de uva tinta (Merlot) apresentou maior, o extrato de resíduo de vinificação de uva branca intermediário, e o extrato de resíduo de cervejaria menor conteúdo de fenólicos.

Tabela 2 – Conteúdo de fenólicos totais e atividade antioxidante dos extratos naturais.<sup>1,2</sup>

Amostras <sup>4</sup>	Fenólicos totais, mg EAG/L extrato	Fenólicos totais, mg EAG/100g PS <sup>3</sup>	DPPH, % inibição	$\mu$ L extrato inibição 50% DPPH
ERC	1186,2(36,3) <sup>C</sup>	593,1(18,1) <sup>C</sup>	29,8(0,1) <sup>C</sup>	18,6
ERVT	9670,1(69,4) <sup>A</sup>	4835,1(34,7) <sup>A</sup>	83,3(1,6) <sup>A</sup>	5,8
ERVB	8159,2(389,1) <sup>B</sup>	4079,6(154,9) <sup>B</sup>	72,0(1,3) <sup>B</sup>	6,6

<sup>1</sup> Valores expressos como médias (erro padrão da média).

<sup>2</sup> Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna diferem ( $P < 0,05$ ) entre si pelo teste Tukey.

<sup>3</sup> Resultados expressos em mg de ácido gálico em 100g de resíduo (peso seco – PS).

<sup>4</sup> ERC: extrato de resíduo de cervejaria; ERVT: extrato de resíduo de vinificação de uva tinta; ERVB: extrato de resíduo de vinificação de uva branca.

Os resultados de fenólicos totais encontrados para os extratos de resíduos de vinificação de uvas tinta e branca foram superiores aos relatados na literatura para as mesmas variedades da fruta: até 2500 mg EAG/100 g PS em cascas de uvas Merlot e até 1160 mg EAG/100 g PS de cascas de uva Moscato (DENG; PENNER; ZHAO, 2011); e também para outras variedades de uvas tintas e brancas: 784,25 mg EAG/100 g PS para resíduos de uva Isabel e 941,66 mg EAG/100 g PS para resíduos de uva Niágara (SELANI et al., 2011), 825,8 a 3313,5 mg EAG/100 g PS em sementes de uvas brancas e 2612,5 a 2732,4 mg EAG/100 g PS em sementes

de uvas tintas (ANASTASIADI et al., 2010). O extrato de resíduo de cervejaria apresentou quantidade de fenólicos superior aos relatados por Lu et al. (2007), que observaram 243 mg EAG /100 g PS em grãos de cevada antes da maltagem e até cerca de 313 mg EAG/100 g PS em grãos de cevada ao final da maltagem.

O maior conteúdo de fenólicos totais nos extratos avaliados pode ser devido a utilização dos resíduos de forma integral, ou seja, todo o resíduo obtido após a maltagem da cevada, e cascas, sementes e engaces das uvas. Além disso, o método de extração adotado, com uso de banho de ultrassom, parece mais eficiente na extração de fenólicos que métodos tradicionais (BEZERRA, 2009).

O extrato de resíduo de vinificação de uva tinta apresentou a maior capacidade antioxidante em relação aos extratos de resíduos de vinificação de uva branca e de cervejaria. Shirahigue et al. (2010) observaram atividade antioxidante de 89,09 e 92,72% em extratos de resíduos agroindustriais de uvas branca e tinta (300 µg/mL) respectivamente, Liu e Yao (2007) verificaram que 50 µg de extrato evaporado de cevada foram capazes de inibir em até 40% o radical DPPH e Vossen et al. (2012) verificaram atividade antioxidante de 76% (método DPPH) em extrato de *dog rose* com concentração de fenólicos de 5540 mg EAG/L.

As diferenças nas atividades antioxidantes dos extratos se devem às diferenças verificadas nas concentrações de fenólicos totais. Além disso, diferentes classes de fenólicos podem estar presentes nos distintos resíduos e conseqüentemente nos extratos, contribuindo para a maior ou menor atividade antirradical dos mesmos, uma vez que esta atividade é dependente da estrutura do composto (quantidade e posição de hidroxilas na molécula) (FUKUMOTO; MAZZA, 2000).

## 5.2 Análises das salsichas

A estatística descritiva das variáveis avaliadas está demonstrada no Apêndice C, os valores probabilísticos para os contrastes ortogonais encontram-se no Apêndice D e os coeficientes de correlação entre as variáveis estão relacionados no Apêndice E.

### 5.2.1 Composição química, pH e sinerese

Os resultados para a composição química das salsichas (Tabela 3) atenderam a legislação brasileira, que determina percentuais máximos de 65, 30 e 7%, respectivamente, para umidade, gordura e carboidratos; e percentual mínimo de 12% de proteínas (BRASIL, 2000).

Os teores de cinzas e proteínas não foram influenciados ( $P > 0,05$ ) pelos diferentes tratamentos, tendo efeito ( $P < 0,05$ ) somente da vida de prateleira (Tabela 3). Os percentuais de proteínas e cinzas diminuíram linearmente durante a vida de prateleira, sendo observada redução ( $P < 0,05$ ) de proteínas a partir do dia 30 e de cinzas a partir do dia 15. A degradação de proteínas durante o armazenamento pode ter como causas reações enzimáticas, oxidação e a ação de microrganismos deteriorantes (STEELE, 2004).

A interação entre tratamento (antioxidantes) e tempo (vida de prateleira) teve efeito ( $P < 0,05$ ) na umidade, gordura e carboidratos. O percentual de umidade aumentou de forma linear durante a vida de prateleira de todos os antioxidantes, e uma equação comum descreve o comportamento de todos os tratamentos (Tabela 3). Os percentuais de umidade foram maiores ( $P < 0,05$ ) a partir do dia 45, sendo que somente aos 30 dias verificou-se diferença entre os tratamentos, pois ERVT apresentou menor ( $P < 0,05$ ) percentual de umidade que os demais antioxidantes. O maior conteúdo de gordura e o menor de carboidratos ( $P < 0,05$ ) foram verificados aos 60 dias para todos os antioxidantes (Tabela 3). Assim como as proteínas, os carboidratos podem ser degradados durante o armazenamento dos alimentos através da ação de microrganismos que os utilizam como fonte de energia (STEELE, 2004).

A composição química de um alimento, também chamada de composição centesimal é dada em percentual, sendo que se houver redução de um componente, conseqüentemente haverá aumento de outro. As reduções nos percentuais de carboidratos e proteínas verificadas durante a vida de prateleira das salsichas impactou no aumento dos percentuais de gordura e umidade, sendo observada alta correlação negativa entre carboidratos e gordura ( $r = -0,77$ ) e carboidratos e umidade ( $r = -0,71$ ).

Tabela 3 – Composição centesimal de salsichas com diferentes antioxidantes durante a vida de prateleira sob refrigeração a 4 °C.

Antioxidante	Vida de prateleira, dias					Médias	Tendência	
	1	15	30	45	60		L	Q
Umidade, %								
CON	58,9 <sup>b</sup>	60,6 <sup>b</sup>	61,2 <sup>Ab</sup>	63,7 <sup>a</sup>	64,1 <sup>a</sup>	61,7	0,0001	0,7271
ES	60,3 <sup>b</sup>	59,6 <sup>b</sup>	60,5 <sup>Ab</sup>	63,2 <sup>a</sup>	64,1 <sup>a</sup>	61,6	0,0001	0,0375
ERC	60,3 <sup>b</sup>	59,1 <sup>b</sup>	60,9 <sup>Ab</sup>	63,0 <sup>a</sup>	63,4 <sup>a</sup>	61,3	0,0001	0,1300
ERVT	60,7 <sup>bc</sup>	62,7 <sup>abc</sup>	59,5 <sup>Bc</sup>	63,3 <sup>ab</sup>	64,2 <sup>a</sup>	62,1	0,0016	0,0295
ERVB	61,7 <sup>ab</sup>	60,3 <sup>ab</sup>	60,2 <sup>Ab</sup>	62,8 <sup>a</sup>	63,7 <sup>a</sup>	61,8	0,0059	0,0029
Média	60,4	60,5	60,5	63,2	63,9	$y = 59,5727 + 0,0724x$		
Cinzas, %								
CON	5,04	4,74	4,61	4,41	4,27	4,61	0,0001	0,4442
ES	4,82	4,67	4,69	4,23	4,18	4,52	0,0001	0,5185
ERC	5,04	4,68	4,66	4,47	4,18	4,61	0,0001	0,9662
ERVT	4,74	4,48	4,88	4,44	4,30	4,57	0,0168	0,1143
ERVB	5,03	4,87	5,06	4,54	4,48	4,80	0,0005	0,2198
Média	4,93 <sup>a</sup>	4,69 <sup>b</sup>	4,78 <sup>ab</sup>	4,42 <sup>c</sup>	4,28 <sup>d</sup>	$y = 4,9193 - 0,01068x$		
Proteínas, %								
CON	19,0	20,3	17,2	17,0	17,3	18,2	0,0002	0,4965
ES	18,8	18,8	17,9	16,7	17,3	17,9	0,0033	0,5524
ERC	17,9	20,0	17,2	17,3	17,2	17,9	0,0147	0,4721
ERVT	17,7	18,1	18,2	17,3	17,3	17,7	0,3539	0,2840
ERVB	17,4	19,1	17,9	17,5	16,9	17,8	0,0922	0,0264
Média	18,2 <sup>ab</sup>	19,3 <sup>a</sup>	17,7 <sup>b</sup>	17,1 <sup>c</sup>	17,2 <sup>c</sup>	$y = 18,3507 - 0,02101x$		
Gorduras, %								
CON	11,2 <sup>b</sup>	11,2 <sup>ABb</sup>	10,4 <sup>b</sup>	11,3 <sup>b</sup>	13,9 <sup>a</sup>	11,6	0,0001	0,0001
ES	10,6 <sup>b</sup>	11,3 <sup>ABb</sup>	10,4 <sup>b</sup>	10,4 <sup>b</sup>	13,2 <sup>a</sup>	11,2	0,0001	0,0001
ERC	10,3 <sup>c</sup>	12,2 <sup>Ab</sup>	10,5 <sup>c</sup>	10,9 <sup>c</sup>	13,4 <sup>a</sup>	11,5	0,0001	0,0001
ERVT	11,1 <sup>bc</sup>	12,1 <sup>Ab</sup>	10,8 <sup>c</sup>	10,5 <sup>c</sup>	13,8 <sup>a</sup>	11,7	0,0001	0,0001
ERVB	11,2 <sup>b</sup>	10,7 <sup>Bb</sup>	11,2 <sup>b</sup>	10,7 <sup>b</sup>	13,3 <sup>a</sup>	11,4	0,0001	0,0001
Média	10,9	11,5	10,7	10,8	13,6	$y = 11,3861 - 0,07489x + 0,001742x^2$		
Carboidratos, %								
CON	5,84 <sup>ab</sup>	3,13 <sup>bc</sup>	6,60 <sup>a</sup>	3,63 <sup>b</sup>	0,41 <sup>c</sup>	3,92	0,0001	0,0001
ES	5,55 <sup>a</sup>	5,61 <sup>a</sup>	6,43 <sup>a</sup>	5,45 <sup>a</sup>	1,24 <sup>b</sup>	4,85	0,0001	0,0001
ERC	6,48 <sup>ab</sup>	4,08 <sup>bc</sup>	6,77 <sup>a</sup>	4,39 <sup>b</sup>	1,79 <sup>c</sup>	4,70	0,0001	0,0013
ERVT	5,81 <sup>ab</sup>	2,59 <sup>bc</sup>	6,59 <sup>a</sup>	4,44 <sup>b</sup>	0,32 <sup>c</sup>	3,95	0,0001	0,0001
ERVB	4,66 <sup>a</sup>	4,96 <sup>a</sup>	5,48 <sup>a</sup>	4,54 <sup>a</sup>	1,65 <sup>b</sup>	4,26	0,0002	0,0001
Média	5,67	4,07	6,37	4,49	1,08	$y = 5,4654 + 0,1302x - 0,00336x^2$		

CON: controle sem antioxidante; ES: eritorbato de sódio; ERC: extrato de resíduo de cervejaria; ERVT: extrato de resíduo de vinificação de uva tinta; ERVB: extrato de resíduo de vinificação de uva branca; L: tendência linear; Q: tendência quadrática.

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma coluna e letras minúsculas distintas na mesma linha em cada variável avaliada diferem ( $P < 0,05$ ), respectivamente, entre antioxidantes e vida de prateleira pelo teste Tukey.



A interação entre antioxidantes e vida de prateleira teve efeito significativo sobre o pH das salsichas (Tabela 4). De maneira geral, todos os antioxidantes apresentaram comportamento quadrático para pH, com diminuição aos 30 dias, seguido de aumento ao final do armazenamento (dia 60). Durante a vida de prateleira de produtos cárneos, quedas no pH costumam ter como causa a acidificação provocada pelo crescimento de bactérias lácticas, enquanto que o aumento resultada da presença de compostos alcalinos oriundos da decomposição proteica (MOHAN et al., 2008) ou de metabólitos resultantes da ação de microrganismos deteriorantes.

Tabela 4 – Valores de pH e sinerese em salsichas com diferentes antioxidantes durante a vida de prateleira sob refrigeração a 4 °C.

Antioxidante	Vida de prateleira, dias					Médias	Tendência	
	1	15	30	45	60		L	Q
	pH							
CON	6,37 <sup>Aa</sup>	6,28 <sup>Bb</sup>	6,23 <sup>ABb</sup>	6,23 <sup>Bb</sup>	6,41 <sup>a</sup>	6,31	0,3956	0,0001
ES	6,37 <sup>Aa</sup>	6,33 <sup>ABa</sup>	6,27 <sup>ABb</sup>	6,26 <sup>ABb</sup>	6,37 <sup>a</sup>	6,32	0,1803	0,0001
ERC	6,30 <sup>Bb</sup>	6,31 <sup>ABb</sup>	6,28 <sup>Ab</sup>	6,28 <sup>Ab</sup>	6,41 <sup>a</sup>	6,31	0,0005	0,0001
ERVT	6,25 <sup>Cb</sup>	6,36 <sup>Aa</sup>	6,29 <sup>Ab</sup>	6,25 <sup>ABb</sup>	6,45 <sup>a</sup>	6,32	0,0001	0,0013
ERVb	6,31 <sup>Ba</sup>	6,32 <sup>ABa</sup>	6,22 <sup>Bb</sup>	6,16 <sup>Cc</sup>	6,37 <sup>a</sup>	6,27	0,3557	0,0001
Média	6,32	6,32	6,26	6,23	6,40			
	Sinerese, %							
CON	1,39	1,22	1,98	1,46	1,85	1,58	0,4922	0,9043
ES	1,79	1,97	2,62	3,16	3,05	2,52	0,0340	0,6288
ERC	1,24	2,74	2,02	3,19	2,34	2,30	0,1283	0,0839
ERVT	2,15	2,30	2,66	3,99	2,96	2,81	0,0554	0,3564
ERVb	1,79	2,16	1,56	2,60	2,01	2,02	0,6001	0,8633
Média	1,67 <sup>b</sup>	2,07 <sup>ab</sup>	2,17 <sup>ab</sup>	2,88 <sup>a</sup>	2,44 <sup>ab</sup>		$y = 1,6663 + 0,01455x$	

CON: controle sem antioxidante; ES: eritorbato de sódio; ERC: extrato de resíduo de cervejaria; ERVT: extrato de resíduo de vinificação de uva tinta; ERVb: extrato de resíduo de vinificação de uva branca; L: tendência linear; Q: tendência quadrática.

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma coluna e letras minúsculas distintas na mesma linha em cada variável avaliada diferem ( $P < 0,05$ ), respectivamente, entre antioxidantes e vida de prateleira pelo teste Tukey.

Apesar do efeito significativo da interação AO x VP sobre o pH, a variação observada em um mesmo tratamento ao longo da vida de prateleira (0,21) e entre os antioxidantes em cada período (0,12) foi marginal e sem significado prático (Tabela 4), sendo que o fato da variação ter sido pequena pode estar relacionado com a

adição de ácidos orgânicos à massa base, com o intuito de regular a acidez do produto.

A perda de líquido das salsichas por exsudação não foi influenciada ( $P > 0,05$ ) pelos diferentes antioxidantes, mas teve efeito ( $P < 0,05$ ) da VP (Tabela 4). Observou-se um aumento linear no percentual de perda por exsudação ao longo da vida de prateleira, possivelmente devido à perda da capacidade de retenção de água pelas proteínas, em função da oxidação e degradação das mesmas (ESTÉVEZ et al., 2011).

### 5.2.2 Cor objetiva

A adição de antioxidantes promoveu alterações na coloração das salsichas (Tabela 5). Os índices  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $c^*$  e  $h^*$  e a razão  $a^*/b^*$  foram significativamente afetados pela interação entre os antioxidantes e a vida de prateleira, enquanto que o índice  $L^*$  teve efeito do AO e da VP ( $P < 0,05$ ) individualmente.

Os valores de  $L^*$  diminuíram de forma quadrática ao longo da vida de prateleira (Tabela 5), resultando em leve escurecimento das amostras, o que também foi observado por Vossen et al. (2012) durante o *shelf-life* de salsichas de carne suína. Esta alteração na luminosidade pode estar relacionada com a oxidação lipídica das salsichas, posto que durante o armazenamento, os peróxidos ou produtos de sua degradação podem interagir com as proteínas e aminoácidos e formar pigmentos escuros (ARAÚJO, 2011). A adição do extrato de resíduos de cervejaria provocou escurecimento ( $P < 0,05$ ) da amostra em relação ao controle sem antioxidante, provavelmente devido à sua coloração marrom, e a adição de extratos de resíduos de vinificação resultou em amostra com valor de  $L^*$  superior ( $P < 0,05$ ) ao tratamento ES e semelhante ( $P > 0,05$ ) ao CON. Este resultado difere dos observados por Selani et al. (2011), em que a adição de extratos de resíduos de vinificação resultou no escurecimento de carne de frango cozida.

A coloração rosa avermelhada das salsichas deve-se à interação do pigmento cárneo com o nitrito e também à adição do corante carmin de cochonilha à massa (TERRA, 1998), sendo que este corante, ao contrário do pigmento cárneo, é bastante estável ao calor, à luz e à oxidação (ARAÚJO, 2011; ADITIVOS &

INGREDIENTES, [20--]). Os valores de  $a^*$  aumentaram ( $P < 0,05$ ) ao longo da vida de prateleira para o CON e ERVB, demonstrando comportamento com tendência linear, ou seja, com o avanço da vida de prateleira houve aumento na vermelhidão destas salsichas. Apesar disto, o CON apresentou menores valores de  $a^*$  em todos os períodos da vida de prateleira. Não houve diferença ( $P > 0,05$ ) entre CON e ERC em nenhum período e o ERVB diferiu do CON somente aos 15 dias da VP, o que demonstra que estes extratos não foram eficientes na proteção do pigmento e estabilização da cor vermelha em salsichas.

Quando comparados com o controle, ES e ERVT foram os mais eficientes na manutenção da vermelhidão das amostras, apresentando maiores valores de  $a^*$  ( $P < 0,05$ ) durante todo o armazenamento. A eficiência do eritorbato deve-se ao fato deste composto ser um agente redutor capaz de inibir a formação de metamioglobina a partir da mioglobina (BARRINGER; ABU-ALI; CHUNG, 2005) e capaz de interagir com o nitrito em produtos curados, para formar um pigmento rosa estável após o cozimento (MERCADANTE et al., 2010), enquanto que a manutenção da coloração vermelha pelo ERVT pode ser resultado da ação antioxidante e protetora dos fenólicos presentes no extrato sobre o pigmento.

Nos dias 1 e 15 da vida de prateleira não foi verificada diferença ( $P > 0,05$ ) nos valores de  $b^*$  entre os antioxidantes, porém, a partir dos 30 dias, ES passou a apresentar maior ( $P < 0,05$ ) palidez que os demais. Além disso, o índice  $b^*$  aumentou ( $P < 0,05$ ) linearmente em todos os antioxidantes ao longo da vida de prateleira, sendo a maior palidez ( $P < 0,05$ ) observada aos 60 dias. Vossen et al. (2012) também verificaram aumento nos valores de  $b^*$  em salsichas adicionadas de antioxidantes naturais e Viuda-Martos et al. (2010) sugeriram que alterações na matriz do alimento, como no grau de oxidação, podem ter influência neste parâmetro de cor, o que corrobora os resultados encontrados neste experimento, uma vez que alta correlação ( $r = 0,70$ ;  $P < 0,001$ ) foi observada entre as variáveis  $b^*$  e TBARS (indicador de oxidação lipídica).

Tabela 5 – Índices objetivos de cor em salsichas com diferentes antioxidantes durante a vida de prateleira sob refrigeração a 4 °C.

Antioxidante	Vida de prateleira, dias					Médias	Tendência	
	1	15	30	45	60		L	Q
Luminosidade ( $L^*$ )								
CON	56,3	55,8	56,3	56,6	55,9	56,2 <sup>AB</sup>	0,8787	0,2802
ES	56,2	55,6	55,7	56,7	55,8	56,0 <sup>BC</sup>	0,3675	0,4037
ERC	56,4	55,5	55,1	55,9	55,3	55,7 <sup>C</sup>	0,0004	0,0035
ERV	56,9	55,9	56,0	56,7	56,0	56,3 <sup>AB</sup>	0,0599	0,0746
ERVB	56,8	55,9	56,3	56,7	56,3	56,4 <sup>A</sup>	0,7334	0,2306
Média	56,5 <sup>a</sup>	55,7 <sup>b</sup>	55,9 <sup>b</sup>	56,5 <sup>a</sup>	55,9 <sup>b</sup>	$y = 56,5493 - 0,03576x + 0,000399x^2$		
Vermelhidão ( $a^*$ )								
CON	16,4 <sup>Bb</sup>	17,2 <sup>Db</sup>	16,3 <sup>Cb</sup>	18,6 <sup>Ba</sup>	19,2 <sup>Ca</sup>	17,5	0,0001	0,0007
ES	20,8 <sup>Aab</sup>	21,8 <sup>Aa</sup>	20,5 <sup>Ab</sup>	21,1 <sup>Aab</sup>	21,0 <sup>Aab</sup>	21,1	0,5203	0,7258
ERC	17,8 <sup>Bab</sup>	18,2 <sup>CDab</sup>	17,4 <sup>BCb</sup>	19,7 <sup>Ba</sup>	19,8 <sup>BCa</sup>	18,6	0,0001	0,0015
ERV	19,4 <sup>Aab</sup>	20,0 <sup>Ba</sup>	18,6 <sup>Bb</sup>	20,0 <sup>ABa</sup>	19,9 <sup>Ba</sup>	19,6	0,1614	0,0662
ERVB	17,7 <sup>Bbc</sup>	19,3 <sup>BCa</sup>	17,6 <sup>BCc</sup>	18,8 <sup>Bab</sup>	19,5 <sup>BCa</sup>	18,6	0,0001	0,1085
Média	18,4	19,3	18,1	19,6	19,9			
Palidez ( $b^*$ )								
CON	10,3 <sup>b</sup>	10,6 <sup>b</sup>	10,6 <sup>Bb</sup>	10,5 <sup>Bb</sup>	11,1 <sup>Ba</sup>	10,6	0,0001	0,0368
ES	10,1 <sup>d</sup>	10,6 <sup>c</sup>	11,1 <sup>Ab</sup>	11,2 <sup>Ab</sup>	11,7 <sup>Aa</sup>	10,9	0,0001	0,0790
ERC	10,1 <sup>c</sup>	10,4 <sup>b</sup>	10,4 <sup>Bb</sup>	10,3 <sup>Bbc</sup>	10,9 <sup>Ba</sup>	10,4	0,0001	0,0537
ERV	10,1 <sup>c</sup>	10,5 <sup>b</sup>	10,4 <sup>Bbc</sup>	10,4 <sup>Bbc</sup>	11,2 <sup>ABa</sup>	10,5	0,0001	0,0041
ERVB	10,1 <sup>c</sup>	10,5 <sup>ab</sup>	10,5 <sup>Bab</sup>	10,4 <sup>Bbc</sup>	10,9 <sup>Ba</sup>	10,5	0,0001	0,3138
Média	10,2	10,5	10,6	10,5	11,2			
Saturação ( $c^*$ )								
CON	19,3 <sup>Bb</sup>	20,2 <sup>Cb</sup>	19,4 <sup>Cb</sup>	21,4 <sup>Ba</sup>	22,2 <sup>Ba</sup>	20,5	0,0001	0,0003
ES	23,1 <sup>Ab</sup>	24,2 <sup>Aa</sup>	23,4 <sup>Aab</sup>	23,9 <sup>Aab</sup>	24,0 <sup>Aab</sup>	23,7	0,0190	0,5131
ERC	20,5 <sup>Bb</sup>	20,9 <sup>Cb</sup>	20,3 <sup>BCb</sup>	22,2 <sup>Ba</sup>	22,6 <sup>Ba</sup>	21,3	0,0001	0,0008
ERV	21,9 <sup>Aab</sup>	22,6 <sup>Ba</sup>	21,3 <sup>Bb</sup>	22,5 <sup>Ba</sup>	22,8 <sup>Ba</sup>	22,2	0,0038	0,0192
ERVB	20,4 <sup>Bc</sup>	22,0 <sup>Ba</sup>	20,5 <sup>BCbc</sup>	21,4 <sup>Bab</sup>	22,4 <sup>Ba</sup>	21,4	0,0001	0,0863
Média	21,1	22,0	21,0	22,3	22,8			
Tonalidade ( $h^*$ )								
CON	32,3 <sup>Aa</sup>	31,7 <sup>Aa</sup>	32,9 <sup>Aa</sup>	29,3 <sup>b</sup>	29,9 <sup>b</sup>	31,2	0,0001	0,0386
ES	25,9 <sup>Cb</sup>	25,8 <sup>Cb</sup>	28,5 <sup>Ca</sup>	27,9 <sup>a</sup>	29,1 <sup>a</sup>	27,4	0,0001	0,3900
ERC	29,5 <sup>Bab</sup>	29,9 <sup>ABab</sup>	30,8 <sup>Ba</sup>	27,7 <sup>c</sup>	28,9 <sup>bc</sup>	29,4	0,0007	0,0577
ERV	27,6 <sup>BCb</sup>	27,8 <sup>BCab</sup>	29,2 <sup>BCab</sup>	27,6 <sup>b</sup>	29,3 <sup>a</sup>	28,3	0,0008	0,9562
ERVB	29,8 <sup>Bab</sup>	28,5 <sup>Bb</sup>	30,7 <sup>Ba</sup>	28,9 <sup>b</sup>	29,2 <sup>ab</sup>	29,4	0,4734	0,3578
Média	29,0	28,7	30,4	28,3	29,3			
$a^*/b^*$								
CON	1,59 <sup>Cb</sup>	1,62 <sup>Db</sup>	1,54 <sup>Cb</sup>	1,78 <sup>a</sup>	1,74 <sup>a</sup>	1,65	0,0001	0,0654
ES	2,06 <sup>Aa</sup>	2,07 <sup>Aa</sup>	1,84 <sup>Ab</sup>	1,88 <sup>b</sup>	1,80 <sup>b</sup>	1,93	0,0001	0,2260
ERC	1,77 <sup>Bbc</sup>	1,74 <sup>CDbc</sup>	1,68 <sup>Bc</sup>	1,91 <sup>a</sup>	1,81 <sup>ab</sup>	1,78	0,0003	0,0716
ERV	1,92 <sup>ABa</sup>	1,90 <sup>Bab</sup>	1,79 <sup>ABbc</sup>	1,91 <sup>a</sup>	1,78 <sup>c</sup>	1,86	0,0002	0,9668
ERVB	1,75 <sup>Bab</sup>	1,85 <sup>BCa</sup>	1,68 <sup>Bb</sup>	1,81 <sup>a</sup>	1,79 <sup>ab</sup>	1,78	0,5103	0,3921
Média	1,82	1,84	1,71	1,86	1,78			

CON: controle sem antioxidante; ES: eritorbato de sódio; ERC: extrato de resíduo de cervejaria; ERV: extrato de resíduo de vinificação de uva tinteira; ERVB: extrato de resíduo de vinificação de uva branca; L: tendência linear; Q: tendência quadrática.

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma coluna e letras minúsculas distintas na mesma linha em cada variável avaliada diferem ( $P < 0,05$ ), respectivamente, entre antioxidantes e vida de prateleira pelo teste Tukey.

O índice de saturação  $c^*$  (chroma) descreve a intensidade da cor e, no caso das salsichas, quanto maior o seu valor, maior será a saturação da cor vermelha. O antioxidante ES teve maior ( $P < 0,05$ ) saturação da cor vermelha durante toda a vida de prateleira (Tabela 5). Apesar de apresentarem valores de  $c^*$  menores ( $P < 0,05$ ) que o ES, verificou-se aumento linear na saturação de vermelho ao longo da vida de prateleira para os demais antioxidantes e, isto se deve, principalmente, ao aumento na vermelhidão ( $a^*$ ) dos mesmos. No início da VP (dia 1) o CON apresentou tonalidade mais amarelada ( $P < 0,05$ ), enquanto o ES foi mais avermelhado ( $P < 0,05$ ). Entretanto, ao longo do armazenamento refrigerado, a tonalidade ( $h^*$ ) aumentou ( $P < 0,05$ ) linearmente no ES e ERVT, e diminuiu linearmente no CON e ERC, sendo que a partir dos 45 dias não foi evidenciada diferença de tonalidade ( $P > 0,05$ ) entre todos os tratamentos (Tabela 5).

A análise da razão  $a^*/b^*$  permite interpretar o estado de oxidação do pigmento cárneo, sendo que maiores valores indicam que maior quantidade do pigmento encontra-se na forma reduzida, ou seja, não oxidada, e mais vermelha é a coloração da amostra. Os antioxidantes ES, ERC, ERVT e ERVB apresentaram razão  $a^*/b^*$  maior ( $P < 0,05$ ) que o controle nos dias 1 a 30 (Tabela 5), pressupondo menor oxidação do pigmento nos tratamentos adicionados de antioxidantes. Contudo, após este período todos os tratamentos apresentaram resultado semelhante ( $P > 0,05$ ), o que indica semelhança no grau de oxidação do pigmento. Segundo Selani et al. (2011), a oxidação do pigmento pode estar relacionada com a oxidação lipídica, uma vez que os radicais livres formados a partir dos ácidos graxos podem reagir com os átomos de ferro da mioglobina e assim alterar a coloração do alimento. Tal comportamento foi evidenciado neste estudo, sendo observada correlação negativa ( $P < 0,001$ ) entre os valores de  $a^*$  ( $r = -0,62$ ) e  $a^*/b^*$  ( $r = -0,40$ ) com o índice de peróxidos.

### 5.2.3 Textura objetiva

Houve efeito ( $P < 0,05$ ) da interação AO x VP na dureza e elasticidade das salsichas, ao passo que coesividade e mastigabilidade foram afetadas ( $P < 0,05$ ) somente pela vida de prateleira (Tabela 6).

Não foi observada diferença ( $P > 0,05$ ) entre os antioxidantes quanto à dureza até os 45 dias, sendo que aos 60 dias ES mostrou-se mais macio ( $P < 0,05$ ) que o CON e ERC. Apesar de não diferirem ( $P > 0,05$ ) dos demais antioxidantes, as salsichas adicionadas de extrato de resíduos de vinificação de uva Moscato, apresentaram variações, com tendência quadrática, na dureza ao longo da vida de prateleira, sendo o resultado obtido aos 45 dias menor ( $P < 0,05$ ) que os valores encontrados no início e final da vida de prateleira. Tal variação em ERVB somente no dia 45 pode estar associada a alguma particularidade na amostra avaliada neste período, como diferente compactação da amostra no embutimento e presença/ausência de fragmentos de tecido conjuntivo mal triturado. Quanto à elasticidade, foi verificada diferença entre antioxidantes aos 45 dias, quando o ERVB mostrou-se menos elástico ( $P < 0,05$ ) que o ERVT, sendo que os demais antioxidantes não diferiram ( $P > 0,05$ ) destes. Para CON, ES e ERVT observou-se tendência quadrática na elasticidade durante a vida de prateleira, sendo a maior ( $P < 0,05$ ) elasticidade verificada aos 45 dias. Não foi observada variação ( $P > 0,05$ ) na elasticidade para o ERVB ao longo da vida de prateleira (Tabela 6).

A mastigabilidade pode ser definida como a energia requerida para mastigar um alimento sólido e fornece uma avaliação global da textura do alimento (HAYES et al., 2011). A adição de antioxidantes não teve efeito ( $P > 0,05$ ) sobre a mastigabilidade das salsichas, que foi afetada ( $P < 0,05$ ) apenas pela vida de prateleira (Tabela 6). A mastigabilidade no dia 1 foi menor ( $P < 0,05$ ) que nos demais períodos da vida de prateleira e não foi observada variação ( $P > 0,05$ ) entre os 15 e 60 dias. Aumento ( $P < 0,05$ ) nos valores de coesividade também foi verificado durante a vida de prateleira, sendo que o menor valor ( $P < 0,05$ ) foi observado no dia 1 e o maior ( $P < 0,05$ ) no dia 60. Tais resultados diferem dos verificados por Hayes et al. (2011) que observaram diminuição na mastigabilidade e coesividade ao longo do armazenamento de salsichas adicionadas de antioxidantes naturais e atribuíram esta redução ao efeito protetor dos antioxidantes sobre as proteínas.

Tabela 6 – Perfil de textura em salsichas com diferentes antioxidantes durante a vida de prateleira sob refrigeração à 4 °C.

Antioxidante	Vida de prateleira, dias					Médias	Tendência	
	1	15	30	45	60		L	Q
Dureza, N								
CON	164,9	155,7	162,3	152,0	177,7 <sup>A</sup>	162,5	0,1297	0,0173
ES	155,1	167,7	173,7	144,4	154,4 <sup>B</sup>	159,1	0,0889	0,0728
ERC	177,9	164,0	154,5	142,8	178,6 <sup>A</sup>	163,6	0,1978	0,0001
ERVT	164,6	158,5	161,9	158,5	164,6 <sup>AB</sup>	161,6	0,9877	0,4210
ERVB	177,6 <sup>a</sup>	158,8 <sup>ab</sup>	152,6 <sup>ab</sup>	137,2 <sup>b</sup>	159,3 <sup>ABa</sup>	157,1	0,0003	0,0012
Média	168,0	160,9	161,0	147,0	166,9			
Elasticidade, cm								
CON	1,09 <sup>b</sup>	1,12 <sup>ab</sup>	1,10 <sup>b</sup>	1,26 <sup>ABa</sup>	1,06 <sup>b</sup>	1,13	0,3449	0,0033
ES	1,04 <sup>b</sup>	1,14 <sup>ab</sup>	1,10 <sup>ab</sup>	1,25 <sup>ABa</sup>	1,11 <sup>ab</sup>	1,13	0,0019	0,0058
ERC	1,06 <sup>b</sup>	1,10 <sup>ab</sup>	1,09 <sup>ab</sup>	1,24 <sup>ABa</sup>	1,11 <sup>ab</sup>	1,12	0,0026	0,0748
ERVT	1,06 <sup>b</sup>	1,14 <sup>b</sup>	1,09 <sup>b</sup>	1,35 <sup>Aa</sup>	1,10 <sup>b</sup>	1,15	0,0006	0,0003
ERVB	1,10	1,15	1,10	1,15 <sup>B</sup>	1,13	1,13	0,4851	0,7334
Média	1,07	1,13	1,10	1,25	1,10			
Mastigabilidade, N•cm								
CON	130,9	133,2	134,8	144,3	143,2	137,3	0,0304	0,9815
ES	120,1	140,7	141,6	133,3	129,7	133,1	0,4855	0,0163
ERC	137,5	138,2	129,6	133,6	149,7	137,7	0,2155	0,0619
ERVT	126,6	135,3	133,9	159,5	139,9	139,0	0,0026	0,1854
ERVB	141,9	137,7	127,4	120,6	137,6	133,0	0,1188	0,0458
Média	131,4 <sup>b</sup>	137,0 <sup>a</sup>	133,5 <sup>a</sup>	138,3 <sup>a</sup>	140,0 <sup>a</sup>			
Coesividade, adimensional								
CON	0,73	0,76	0,76	0,75	0,76	0,75	0,0622	0,2895
ES	0,74	0,74	0,75	0,75	0,76	0,75	0,0487	0,8681
ERC	0,73	0,76	0,76	0,75	0,76	0,75	0,0765	0,0362
ERVT	0,73	0,75	0,76	0,75	0,78	0,75	0,0010	0,6211
ERVB	0,73	0,76	0,76	0,77	0,77	0,76	0,0017	0,0417
Média	0,73 <sup>c</sup>	0,75 <sup>b</sup>	0,75 <sup>b</sup>	0,75 <sup>b</sup>	0,76 <sup>a</sup>			

CON: controle sem antioxidante; ES: eritorbato de sódio; ERC: extrato de resíduo de cervejaria; ERVT: extrato de resíduo de vinificação de uva tinta; ERVB: extrato de resíduo de vinificação de uva branca; L: tendência linear; Q: tendência quadrática.

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma coluna e letras minúsculas distintas na mesma linha em cada variável diferem ( $P < 0,05$ ), respectivamente, entre antioxidantes e vida de prateleira pelo teste Tukey.

Durante a vida de prateleira, a oxidação proteica e a formação de ligações cruzadas e agregações entre proteínas, podem levar à perda de funcionalidade das mesmas, com conseqüente aumento nos parâmetros de textura (ESTÉVEZ; VENTANAS; CAVA, 2005), o que pode explicar os incrementos na mastigabilidade e coesividade verificados nas salsichas. Além disso, em produtos cárneos, a diferença nos perfis de textura, usualmente, está associada a diferenças de formulação, na quantidade e funcionalidade das proteínas e quantidade e composição da gordura

(ESTÉVEZ; MARCUONDE; CAVA, 2006), sendo que o fato das salsichas terem a mesma formulação base explica a pequena variação de textura entre os antioxidantes e o maior efeito da vida de prateleira.

#### 5.2.4 Índice de peróxidos

Houve interação ( $P < 0,05$ ) entre antioxidantes e vida de prateleira para o índice de peróxidos (Tabela 7), produto primário da oxidação lipídica. A variação no índice de peróxidos durante a vida de prateleira apresentou tendência quadrática para todos os antioxidantes. O CON, bem como ERC, ERVT e ERVB apresentaram aumento ( $P < 0,05$ ) no IP até os 30 dias, seguido de diminuição ( $P < 0,05$ ) a partir dos 45 dias. O incremento observado até os 30 dias deve-se, provavelmente, a uma taxa de formação de peróxidos superior à de degradação durante o período, haja visto que hidroperóxidos são produtos primários e caracterizam as etapas iniciais da oxidação lipídica (SOYER, et al., 2010). Maqsood, Benjakul e Balange (2012) também verificaram aumento seguido de declínio no índice de peróxidos ao longo do armazenamento de salsichas de peixe.

Quando comparados com o controle, os antioxidantes naturais apresentaram menores ( $P < 0,05$ ) índices de peróxidos somente em períodos específicos da vida de prateleira: aos 45 dias para ERC, aos 30 e 45 dias para ERVT e aos 15 e 45 dias para ERVB. Apenas ES não apresentou variação ( $P > 0,05$ ) no IP ao longo da vida de prateleira (Tabela 7) e isto pode ser devido à eficiência deste antioxidante em inibir a oxidação lipídica ou ainda, ao equilíbrio entre as taxas de formação e degradação dos hidroperóxidos. Além disso, a diminuição ( $P < 0,05$ ) no índice de peróxidos para CON, ERC, ERVT e ERVB a partir dos 45 dias pode ser explicada pelo fato de que, possivelmente, a partir deste período a taxa de degradação dos hidroperóxidos tenha sido superior à sua taxa de formação (GEORGANTELIS et al., 2007), uma vez que, com a propagação da oxidação lipídica, os peróxidos que são altamente reativos, tendem a se decompor em produtos secundários ou reagir com outros compostos presentes nos alimentos (BOU et al., 2008).



### 5.2.5. Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A interação entre os antioxidantes e a vida de prateleira teve efeito significativo na oxidação das salsichas avaliada por TBARS, método que quantifica produtos secundários da oxidação lipídica (Tabela 7). Foi verificado aumento ( $P < 0,05$ ) nos valores de TBARS durante a vida de prateleira das salsichas, sendo que as variações apresentaram tendência quadrática para CON e ERC e linear para ES, ERVT e ERVB. O aumento nas quantidades de TBARS deve-se a decomposição dos hidroperóxidos em produtos secundários (YARNPAKDEE et al., 2012), conforme evidenciado neste estudo, posto que o maior acréscimo ( $P < 0,05$ ) dos valores de TBARS (a partir dos 45 dias) coincidiu com a diminuição no índice de peróxidos (Tabela 7) e que, correlação negativa foi verificada entre as duas variáveis ( $r = -0,44$ ;  $P < 0,001$ ).

Em comparação com o controle (sem antioxidante), todos os antioxidantes (sintético ou naturais), foram eficientes em retardar a oxidação lipídica até os 30 dias da vida de prateleira ( $P < 0,05$ ), sendo que os extratos de resíduos agroindustriais foram tão ou mais eficientes que o eritorbato de sódio (Tabela 7). Isto demonstra que a dosagem testada foi suficiente para manter a estabilidade oxidativa das salsichas (avaliada por TBARS) por 30 dias de armazenamento refrigerado. Selani et al. (2011) avaliaram a ação antioxidante de extratos de resíduos de vinificação, eritorbato de sódio e BHT em carne de frango cozida armazenada sob congelamento e verificaram que os extratos naturais foram tão eficientes em evitar a formação de TBARS quanto os antioxidantes artificiais. Da mesma forma, Shirahigue et al. (2010) verificaram a eficiência de extratos de resíduos de vinificação em inibir a oxidação lipídica em carne de frango refrigerada. Extratos de resíduos de cevada incorporados a embalagens ativas também se mostraram eficientes na inibição da oxidação lipídica em salmão e carne de tubarão azul congelados (PEREIRA DE ABREU et al., 2010; PEREIRA DE ABREU et al., 2011).

Tabela 7 – Índice de peróxidos e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em salsichas com diferentes antioxidantes durante a vida de prateleira sob refrigeração a 4 °C.

Antioxidante	Vida de prateleira, dias					Médias	Tendência	
	1	15	30	45	60		L	Q
Índice de Peróxidos (meq peróxidos/Kg gordura)								
CON	2,82 <sup>ABCb</sup>	4,30 <sup>ABb</sup>	9,32 <sup>Aa</sup>	3,59 <sup>Ab</sup>	0,58 <sup>Bc</sup>	4,12	0,0001	0,0001
ES	1,72 <sup>C</sup>	2,55 <sup>BC</sup>	2,68 <sup>C</sup>	1,54 <sup>B</sup>	0,51 <sup>B</sup>	1,80	0,0001	0,0008
ERC	3,92 <sup>Ab</sup>	4,61 <sup>Ab</sup>	8,50 <sup>ABa</sup>	1,21 <sup>Bc</sup>	1,18 <sup>Ac</sup>	3,88	0,0001	0,0001
ERVT	2,46 <sup>BCb</sup>	2,73 <sup>ABCb</sup>	5,86 <sup>Ba</sup>	1,15 <sup>Bc</sup>	1,05 <sup>Ac</sup>	2,65	0,0001	0,0001
ERVB	2,87 <sup>ABb</sup>	1,80 <sup>Cbc</sup>	8,98 <sup>ABa</sup>	1,25 <sup>Bc</sup>	1,08 <sup>Ac</sup>	3,19	0,0001	0,0001
Média	2,76	3,20	7,07	1,74	0,88			
TBARS (mg MDA/kg salsicha)								
CON	0,67 <sup>Ac</sup>	2,15 <sup>Ab</sup>	2,77 <sup>Aa</sup>	1,27 <sup>Bbc</sup>	2,53 <sup>ABab</sup>	1,88	0,0032	0,0090
ES	0,56 <sup>ABd</sup>	1,75 <sup>ABc</sup>	2,18 <sup>Bbc</sup>	2,89 <sup>Aab</sup>	4,73 <sup>Aa</sup>	2,42	0,0001	0,0942
ERC	0,54 <sup>Bb</sup>	1,63 <sup>Ba</sup>	1,88 <sup>Ba</sup>	2,31 <sup>ABa</sup>	2,13 <sup>Ba</sup>	1,70	0,0002	0,0121
ERVT	0,54 <sup>Bc</sup>	1,44 <sup>Bb</sup>	0,96 <sup>Cbc</sup>	2,91 <sup>Aa</sup>	4,25 <sup>ABa</sup>	2,02	0,0001	0,0013
ERVB	0,56 <sup>ABc</sup>	1,56 <sup>Bb</sup>	2,14 <sup>Bb</sup>	2,57 <sup>ABab</sup>	4,40 <sup>Aa</sup>	2,24	0,0001	0,1107
Média	0,57	1,70	1,98	2,39	3,61			

CON: controle sem antioxidante; ES: eritorbato de sódio; ERC: extrato de resíduo de cervejaria; ERVT: extrato de resíduo de vinificação de uva tinte; ERVB: extrato de resíduo de vinificação de uva branca; L: tendência linear; Q: tendência quadrática.

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma coluna e letras minúsculas distintas na mesma linha em cada variável avaliada diferem ( $P < 0,05$ ), respectivamente, entre antioxidantes e vida de prateleira pelo teste Tukey.

Durante a vida de prateleira, o malonaldeído pode ser oxidado a outros ácidos orgânicos ou alcoóis, que não reagem com o ácido tiobarbitúrico, levando a uma diminuição nos valores de TBARS (LIU et al., 2009). Significativa diminuição nos valores de TBARS foi verificada no controle aos 45 dias, porém aos 60 dias os valores tornaram a subir e não diferiram ( $P > 0,05$ ) em relação aos demais antioxidantes (Tabela 7). Nos estágios finais da vida de prateleira, em especial no dia 60, foi verificada perda de eficiência dos antioxidantes e todos apresentaram valores de TBARS elevados e semelhantes ao controle ( $P > 0,05$ ). A progressão da oxidação lipídica nas etapas finais do armazenamento pode estar relacionada ao decréscimo na concentração dos compostos antioxidantes, devido ao consumo/oxidação dos mesmos. Esta possibilidade é embasada por estudos de Liu et al. (2009), que verificaram a diminuição na concentração de compostos fenólicos e aumento de TBARS ao longo do armazenamento em linguiça frescal de frango

com alecrim como antioxidante natural. Apesar da dosagem de compostos fenólicos adicionada nos tratamentos ERC, ERVT e ERVB ser a mesma (60mg fenólicos / kg salsicha) as diferenças verificadas nas suas atividades antioxidantes podem ser devido à diferenças no perfil de compostos fenólicos de cada extrato, uma vez que a estrutura dos compostos representa papel determinante em sua atividade antioxidante (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006).

O maior incremento nos valores de TBARS em função da vida de prateleira foi verificado para ES ( $y = 0,4941 + 0,06314x$ ). Este antioxidante, largamente utilizado na indústria cárnea, foi eficiente na inibição da oxidação lipídica até os 30 dias, contudo, aos 60 dias apresentou o maior valor de TBARS (4,73 mg MDA/kg salsicha). Diferentemente do observado neste estudo até os 30 dias, Mercadante et al. (2010) não verificaram ação antioxidante do eritorbato de sódio em salsichas e, além disso, Capitani et al. (2009) observaram diminuta eficiência do eritorbato em evitar a formação de MDA em homogeneizado de carne de frango.

Greene e Cumuze (1982) relataram como 2,0 mg MDA/kg e Al-Kahtani et al. (1996) como 3,0 mg MDA/kg o limite máximo aceitável de malonaldeído em produtos cárneos, acima do qual o *flavour* de oxidação começa a ser detectado sensorialmente. Neste estudo, valores acima de 2,0 mgMDA/kg começaram a ser identificados a partir dos 30 dias e acima de 3,0 mgMDA/kg somente no dia 60, no entanto não foi possível estabelecer uma relação entre valores de MDA e a perda da aceitabilidade dos produtos, uma vez que as análises sensoriais foram realizadas somente até o dia 30 devido à elevada carga microbiana verificada.

#### 5.2.6 Perfil de ácidos graxos

As amostras de salsichas apresentaram perfil de ácidos graxos condizente com as matérias-primas utilizadas (carne bovina e toucinho), ou seja, apresentaram elevado percentual de ácidos graxos saturados e monoinsaturados (PINHO et al., 2011; GANDEMER, 2002). Foram identificados 27 ésteres metílicos de ácidos graxos nas amostras: 7 saturados, 9 monoinsaturados e 11 poli-insaturados, sendo que os ácidos graxos mais abundantes foram o ácido 9-octadecenóico (18:1n9 ou

oléico), ácido hexadecanóico (16 ou palmítico) e o ácido 9,12-octadecadienóico (18:2n6 ou linoléico).

A interação AO x VP foi significativa somente para os ácidos graxos 9-hexadecenóico (16:1n7 ou palmitoléico), ácido 9,12-octadecadienóico (18:2n6 *cis9-cis12* ou linoléico) e ácido 11,14,17-eicosatrienóico (20:3n3 ou di-homo-alfa-linolênico) (Tabela 8).

Tabela 8 – Perfil de ácidos graxos em salsichas com diferentes antioxidantes durante a vida de prateleira sob refrigeração a 4 °C.<sup>1</sup>

Antioxidante	Vida de prateleira, dias					Média	Tendência	
	1	15	30	45	60		L	Q
Ácido 9-hexadecenóico (16:1 n7)								
CON	2,28 <sup>ab</sup>	2,28 <sup>ab</sup>	2,21 <sup>b</sup>	2,32 <sup>a</sup>	2,30 <sup>ab</sup>	2,28	0,1872	0,0172
ES	2,28 <sup>ab</sup>	2,28 <sup>ab</sup>	2,22 <sup>b</sup>	2,28 <sup>a</sup>	2,27 <sup>ab</sup>	2,27	0,5042	0,1252
ERC	2,29	2,27	2,24	2,29	2,32	2,28	0,2004	0,0030
ERVT	2,30 <sup>a</sup>	2,28 <sup>a</sup>	2,20 <sup>b</sup>	2,27 <sup>a</sup>	2,35 <sup>a</sup>	2,28	0,0644	0,0001
ERVB	2,30 <sup>a</sup>	2,24 <sup>ab</sup>	2,22 <sup>b</sup>	2,28 <sup>a</sup>	2,32 <sup>a</sup>	2,27	0,1906	0,0001
Média	2,29	2,27	2,22	2,29	2,31			
Ácido 9,12-octadecadienóico (18:2 n6 <i>c9-c12</i> )								
CON	0,11	0,10	0,11	0,09	0,10	0,10	0,0345	0,1336
ES	0,11	0,11	0,11	0,11	0,10	0,11	0,4300	0,4934
ERC	0,11 <sup>a</sup>	0,11 <sup>ab</sup>	0,10 <sup>ab</sup>	0,09 <sup>b</sup>	0,11 <sup>ab</sup>	0,10	0,0077	0,0030
ERVT	0,11	0,10	0,11	0,11	0,10	0,11	0,1736	0,8380
ERVB	0,12	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,2497	0,1029
Média	0,11	0,10	0,11	0,10	0,10			
Ácido 11,14,17-eicosatrienóico (20:3 n3)								
CON	0,07	0,08	0,07 <sup>B</sup>	0,07	0,07	0,07	0,4874	0,5986
ES	0,08	0,07	0,08 <sup>AB</sup>	0,08	0,07	0,07	0,4874	0,1572
ERC	0,07	0,08	0,08 <sup>A</sup>	0,07	0,07	0,07	0,2480	0,1103
ERVT	0,09	0,07	0,08 <sup>AB</sup>	0,08	0,07	0,08	0,3659	0,8316
ERVB	0,07	0,09	0,08 <sup>AB</sup>	0,09	0,05	0,08	0,0686	0,0007
Média	0,08	0,08	0,08	0,07	0,07			

<sup>1</sup>Valores expressos como percentual da área total de ácidos graxos.

CON: controle sem antioxidante; ES: eritorbato de sódio; ERC: extrato de resíduo de cervejaria; ERVT: extrato de resíduo de vinificação de uva tinteira; ERVB: extrato de resíduo de vinificação de uva branca; L: tendência linear; Q: tendência quadrática.

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma coluna e letras minúsculas distintas na mesma linha em cada variável avaliada diferem ( $P < 0,05$ ), respectivamente, entre antioxidantes e vida de prateleira pelo teste Tukey.

Não foi verificada diferença ( $P > 0,05$ ) entre os antioxidantes para o ácido palmitoléico, porém, CON, ES, ERVT e ERVB apresentaram diminuição ( $P < 0,05$ ) no

percentual deste ácido graxo aos 30 dias seguido de aumento ( $P < 0,05$ ) aos 45 dias, sendo que não houve diferença ( $P > 0,05$ ) dos seus percentuais entre os dias 1, 15, 45 e 60. Nas salsichas com extrato de resíduos de cervejaria foi observada diminuição ( $P < 0,05$ ) no percentual de 18:2n6 *cis9-cis12* no dia 45, entretanto, não se observou diferença ( $P > 0,05$ ) de seus percentuais entre os tratamentos antioxidantes durante a vida de prateleira. Não foi observada variação ( $P > 0,05$ ) nos percentuais de 20:3n3 (ácido di-homo-alfa-linolênico) para nenhum tratamento durante a vida de prateleira, sendo que, aos 30 dias ERC apresentou maior percentual deste ácido graxo que CON. Apesar de significativas ( $P < 0,05$ ) estas variações foram marginais e pouco representativas quando comparadas aos resultados observados para os demais ácidos graxos durante a vida de prateleira (Tabela 9).

A vida de prateleira teve efeito significativo em grande parte dos ácidos graxos identificados nas salsichas (Tabela 9), o que demonstra que os antioxidantes não exerceram efeito protetor sobre os lipídios. De maneira geral, observou-se que o percentual de ácidos graxos insaturados (AGI) diminuiu linearmente, enquanto que o percentual de ácidos graxos saturados (AGS) aumentou linearmente durante a vida de prateleira das salsichas (Tabela 9).

A significativa diminuição nos percentuais de ácidos graxos mono e poli-insaturados e o incremento ( $P < 0,05$ ) no percentual de ácidos graxos saturados evidenciam a progressão da oxidação lipídica ao longo da vida de prateleira das salsichas, posto que os ácidos graxos insaturados, devido à deficiência de elétrons na dupla ligação, são suscetíveis à oxidação, podendo ser degradados à hidroperóxidos e produtos secundários como aldeídos, cetonas e alcoóis (BREWER, 2011). Essa observação é reforçada, ainda, pela correlação positiva ( $r = 0,65$ ,  $P < 0,001$ ) verificada entre AGS com TBARS e correlação negativa ( $P < 0,001$ ) verificada entre ácidos graxos insaturados AGI ( $r = -0,60$ ), AGMI ( $r = -0,57$ ) e AGPI ( $r = -0,52$ ) com TBARS. Estévez, Ventanas e Cava (2004) observaram significativo decréscimo em AGPI e aumento de TBARS durante armazenamento refrigerado de carne suína cozida e, de forma semelhante, Sampaio et al. (2012), também observaram decréscimo no perfil de AGPI durante o armazenamento de carne de frango cozida adicionada de antioxidantes naturais e atribuíram tal ocorrência ao desenvolvimento de reações oxidativas.

Tabela 9 – Perfil de ácidos graxos em salsichas com diferentes antioxidantes ao longo da vida de prateleira sob refrigeração a 4 °C.<sup>1</sup>

Éster metílico	Tempo de armazenamento, dias					Média <sup>2</sup> ou equação de regressão <sup>3</sup>
	1	15	30	45	60	
10	0,05 <sup>b</sup>	0,05 <sup>b</sup>	0,04 <sup>c</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,06 <sup>a</sup>	$y = 0,04836 + 0,000164x$
12	0,06 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a</sup>	0,05 <sup>b</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a</sup>	$y = 0,06 + 0,000128x$
14	1,37 <sup>ab</sup>	1,33 <sup>b</sup>	1,25 <sup>c</sup>	1,45 <sup>a</sup>	1,45 <sup>a</sup>	$y = 1,3879 - 0,0089x + 0,000167x^2$
15	0,18 <sup>a</sup>	0,18 <sup>a</sup>	0,17 <sup>a</sup>	0,41 <sup>a</sup>	0,18 <sup>a</sup>	$y = 0,1805 - 0,00038x + 0,00681x^2$
16	22,2 <sup>bc</sup>	22,3 <sup>b</sup>	22,2 <sup>c</sup>	22,9 <sup>a</sup>	23,0 <sup>a</sup>	$y = 22,1983 + 0,01136x$
17	0,69 <sup>c</sup>	0,70 <sup>b</sup>	0,72 <sup>a</sup>	0,65 <sup>d</sup>	0,67 <sup>d</sup>	$y = 0,6946 + 0,0006x$
18	14,2 <sup>c</sup>	14,8 <sup>b</sup>	15,1 <sup>a</sup>	14,5 <sup>bc</sup>	14,8 <sup>ab</sup>	$y = 14,1897 + 0,0453 - 0,0061x^2$
14:1 n5	0,11 <sup>b</sup>	0,09 <sup>c</sup>	0,09 <sup>c</sup>	0,11 <sup>ab</sup>	0,11 <sup>a</sup>	$y = 0,1021 - 0,00089x + 0,000019x^2$
17:1 n7	0,53 <sup>ab</sup>	0,54 <sup>a</sup>	0,54 <sup>a</sup>	0,51 <sup>b</sup>	0,52 <sup>b</sup>	$y = 0,5475 - 0,00038x$
Σ 18:1	39,3 <sup>a</sup>	38,8 <sup>b</sup>	39,1 <sup>ab</sup>	38,4 <sup>c</sup>	38,5 <sup>c</sup>	$y = 39,3369 - 0,01315x$
18:1 n7	0,19 <sup>a</sup>	0,18 <sup>a</sup>	0,19 <sup>a</sup>	0,13 <sup>b</sup>	0,11 <sup>b</sup>	$y = 0,2083 - 0,00158x$
18:1 n9	39,1 <sup>a</sup>	38,7 <sup>b</sup>	38,9 <sup>ab</sup>	38,3 <sup>c</sup>	38,4 <sup>bc</sup>	$y = 39,1173 - 0,01172x$
Σ 18:2	11,5 <sup>a</sup>	11,3 <sup>b</sup>	11,3 <sup>b</sup>	11,3 <sup>b</sup>	11,4 <sup>b</sup>	$y = 11,5366 - 0,01269x + 0,000173x^2$
18:2 n6 (c9-t12)	11,0 <sup>a</sup>	10,9 <sup>b</sup>	10,9 <sup>ab</sup>	10,8 <sup>b</sup>	11,0 <sup>ab</sup>	$y = 11,0409 - 0,00957x + 0,000141x^2$
18:2 n6 (t9-c12)	0,10 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,10 <sup>a</sup>	0,11 <sup>a</sup>	0,10 <sup>a</sup>	$y = 0,10$
18:2 n7 (c9-t11)	0,29 <sup>a</sup>	0,23 <sup>bc</sup>	0,22 <sup>c</sup>	0,24 <sup>b</sup>	0,21 <sup>d</sup>	$y = 0,2946 - 0,00348x + 0,000036x^2$
Σ 18:3	0,97 <sup>a</sup>	0,96 <sup>ab</sup>	0,94 <sup>b</sup>	0,93 <sup>b</sup>	0,90 <sup>c</sup>	$y = 0,9783 - 0,00119x$
18:3 n6	0,21 <sup>a</sup>	0,21 <sup>ab</sup>	0,19 <sup>b</sup>	0,20 <sup>b</sup>	0,18 <sup>b</sup>	$y = 0,2085 - 0,00037x$
18:3 n3	0,77 <sup>a</sup>	0,76 <sup>ab</sup>	0,75 <sup>b</sup>	0,73 <sup>bc</sup>	0,72 <sup>c</sup>	$y = 0,7685 - 0,00082x$
20:1 n9	0,64 <sup>a</sup>	0,61 <sup>b</sup>	0,60 <sup>bc</sup>	0,59 <sup>c</sup>	0,58 <sup>c</sup>	$y = 0,6324 - 0,00093x$
20:2 n6	0,45 <sup>a</sup>	0,42 <sup>b</sup>	0,41 <sup>b</sup>	0,41 <sup>bc</sup>	0,39 <sup>c</sup>	$y = 0,4456 - 0,00098x$
20:3 n6	0,11 <sup>a</sup>	0,12 <sup>a</sup>	0,11 <sup>a</sup>	0,13 <sup>a</sup>	0,10 <sup>a</sup>	$y = 0,11$
20:5 n3	0,06 <sup>b</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,07 <sup>ab</sup>	0,07 <sup>b</sup>	0,06 <sup>b</sup>	$y = 0,06788 + 0,000436x - 0,0000095x^2$
22:1 n9	0,35 <sup>a</sup>	0,36 <sup>a</sup>	0,33 <sup>b</sup>	0,33 <sup>ab</sup>	0,29 <sup>c</sup>	$y = 0,3553 - 0,00082x$
22:5 n3	0,18 <sup>b</sup>	0,19 <sup>ab</sup>	0,20 <sup>ab</sup>	0,21 <sup>a</sup>	0,17 <sup>b</sup>	$y = 0,1705 + 0,001961x - 0,00003x^2$
22:6 n3	0,02 <sup>ab</sup>	0,03 <sup>a</sup>	0,02 <sup>ab</sup>	0,02 <sup>b</sup>	0,00 <sup>c</sup>	$y = 0,02879 - 0,00036x$
24:1 n9	0,11 <sup>a</sup>	0,11 <sup>a</sup>	0,10 <sup>a</sup>	0,11 <sup>a</sup>	0,10 <sup>a</sup>	$y = 0,11$
Σ AGS	38,8 <sup>c</sup>	39,4 <sup>b</sup>	39,4 <sup>b</sup>	40,1 <sup>a</sup>	40,3 <sup>a</sup>	$y = 38,8216 + 0,02212x$
Σ AGI	56,7 <sup>a</sup>	56,0 <sup>bc</sup>	56,1 <sup>b</sup>	55,5 <sup>c</sup>	55,5 <sup>c</sup>	$y = 56,5169 - 0,01663x$
Σ AGMI	43,3 <sup>a</sup>	42,8 <sup>b</sup>	43,0 <sup>b</sup>	42,4 <sup>c</sup>	42,4 <sup>c</sup>	$y = 43,3062 - 0,01328x$
Σ AGPI	13,4 <sup>a</sup>	13,2 <sup>b</sup>	13,2 <sup>b</sup>	13,1 <sup>b</sup>	13,0 <sup>b</sup>	$y = 13,3164 - 0,00499x$
Σ n6	12,0 <sup>a</sup>	11,8 <sup>b</sup>	11,8 <sup>b</sup>	11,8 <sup>b</sup>	11,8 <sup>b</sup>	$y = 12,0044 - 0,01081x + 0,000132x^2$
Σ n3	1,11 <sup>a</sup>	1,13 <sup>a</sup>	1,11 <sup>a</sup>	1,10 <sup>a</sup>	1,01 <sup>b</sup>	$y = 10,101 + 0,003041x - 0,00008x^2$
n6/n3	10,9 <sup>b</sup>	10,4 <sup>b</sup>	10,7 <sup>b</sup>	10,7 <sup>b</sup>	11,7 <sup>a</sup>	$y = 10,9011 - 0,03612x + 0,00081x^2$
AGCC	0,05 <sup>b</sup>	0,05 <sup>b</sup>	0,04 <sup>c</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,06 <sup>a</sup>	$y = 0,4836 + 0,000164x$
AGCM	26,2 <sup>b</sup>	26,3 <sup>b</sup>	25,9 <sup>c</sup>	27,2 <sup>a</sup>	27,1 <sup>a</sup>	$y = 26,1806 - 0,01388x$
AGCL	68,5 <sup>b</sup>	68,4 <sup>bc</sup>	68,9 <sup>a</sup>	67,6 <sup>c</sup>	68,0 <sup>c</sup>	$y = 68,6025 - 0,00783x$
AGCML	0,66 <sup>a</sup>	0,69 <sup>a</sup>	0,65 <sup>a</sup>	0,66 <sup>a</sup>	0,56 <sup>b</sup>	$y = 0,6621 + 0,002085x - 0,00006x^2$

<sup>1</sup>Valores expressos como percentual da área total de ácidos graxos.

<sup>2</sup>Média para ésteres metílicos cujo percentual não variou ( $P > 0,05$ ) durante a vida de prateleira.

<sup>3</sup>Equação de regressão para ésteres metílicos cujo percentual variou ( $P < 0,05$ ) durante a vida de prateleira

Σ AGS: somatório ácidos graxos saturados; Σ AGI: somatório ácidos graxos insaturados; Σ AGMI: somatório ácidos graxos monoinsaturados; Σ AGPI: somatório ácidos graxos poli-insaturados; AGCC: ácidos graxos de cadeia curta (C10); AGCM: ácidos graxos de cadeia média Σ(C12 – C17); AGCL: ácidos graxos de cadeia longa Σ(C18 – C20); AGCML: ácidos graxos de cadeia muito longa Σ(C22 – C24).

Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem ( $P < 0,05$ ) pelo teste Tukey.

Aumentos ( $P < 0,05$ ) nos percentuais de ácidos graxos de cadeias curta e média também foram verificados ao longo da vida de prateleira e isto se deve principalmente, ao fato de incluírem-se nestas classificações a maioria dos ácidos graxos saturados, que são pouco suscetíveis às reações de oxidação. Significativos decréscimos em ácidos graxos de cadeia longa podem ser verificados durante o processamento (GANDEMER, 2002), isto porque esta classificação contempla grande parte dos AGPI, bastante suscetíveis à oxidação. Em concordância com isto, significativa redução nos AGCL foi verificada a partir dos 45 dias (Tabela 9).

A oxidação lipídica é um dos principais fatores relacionados com a perda de qualidade e aceitabilidade dos alimentos durante a vida de prateleira, ocasionando perda de valor nutricional e a produção de compostos secundários responsáveis por alterações sensoriais desagradáveis, como odor a ranço. A diminuição do valor nutricional das amostras durante a vida de prateleira ficou evidente através da redução ( $P < 0,05$ ) nos percentuais de ácidos graxos essenciais para o organismo humano, como o C18:2n6 (ácido linoléico) e o C18:3n3 (ácido alfa linolênico).

Além disso, ácidos graxos potencialmente benéficos à saúde, como o C22:6n3 (ácido docosohexaenóico – DHA) que auxilia na prevenção de aterosclerose, ataque cardíaco e depressão e o C18:2n7 *cis9-trans11* (ácido linoléico conjugado – CLA), que está associado à redução no risco de câncer, aterosclerose e diabetes (DALEY et al., 2010), apresentaram redução ( $P < 0,05$ ) durante a vida de prateleira, sendo que o primeiro não foi mais detectado aos 60 dias (Tabela 9).

Ácidos graxos n6 apresentam propriedades pró-inflamatórias, que podem estar relacionadas com o desenvolvimento de doenças cardíacas e câncer, enquanto que os ácidos graxos n3 parecem capazes de modular a resposta inflamatória, apresentando efeitos benéficos na prevenção destas doenças (MACRAE; O'REILLY; MORGAN, 2005). Em função disto, dietas com menores razões n6/n3 (até 4) são consideradas mais benéficas à saúde. Contudo, neste estudo, devido à oxidação e perda ( $P < 0,05$ ) dos ácidos graxos n3, observou-se durante a vida de prateleira das salsichas aumento ( $P < 0,05$ ) na proporção n6/n3, que já era superior à ideal, o que também contribuiu para a diminuição da qualidade nutricional do produto.

### 5.2.7 Compostos voláteis indicadores de oxidação lipídica

Os compostos de odor em salsichas podem ser derivados das matérias-primas (carne e gordura), da condimentação utilizada (temperos), bem como da fumaça aplicada (CHEVANCE; FARMER, 1999). Os voláteis originados pela oxidação lipídica possuem baixo limiar (*threshold*) de percepção, sendo responsáveis por alterações inaceitáveis no odor e *flavour* dos alimentos e, por isso, constituem-se em fator limitante na vida de prateleira de carnes e produtos cárneos.

Cerca de 390 compostos foram isolados no *headspace* das salsichas, dos quais, com base em estudos publicados (CHEVANCE; FARMER, 1999; ESTÉVEZ et al. 2005; PARK et al., 2007), 19 foram identificados e selecionados como representantes de oxidação lipídica (Tabela 10). Destes 19 compostos selecionados, 8 são alcoóis, 4 cetonas, 4 aldeídos e 3 compostos de outros grupamentos químicos.

A adição de antioxidantes às salsichas, bem como a interação AO x VP não tiveram efeito ( $P > 0,05$ ) sobre a produção dos compostos voláteis de oxidação lipídica selecionados e o efeito da vida de prateleira ( $P < 0,05$ ) pode ser verificado apenas para hexanal, 3-hidroxi-2-butanona e 2-butoxietanol (Tabela 10).

Os aldeídos talvez sejam os voláteis de oxidação com maior importância sensorial, pois possuem odores desagradáveis percebidos mesmo em baixas concentrações (FLORES et al., 1997). O hexanal é formado a partir da oxidação de ácidos graxos insaturados, em especial os *n6* (WETTASINGHE et al., 2001), se caracteriza por notas aromáticas de grama verde e rancidez, e é considerado um dos principais indicadores de oxidação lipídica (CHEVANCE; FARMER, 1999). Ao contrário do verificado por Estévez et al. (2005), onde a adição de óleo essencial de alecrim (caracterizado por grandes quantidades de compostos fenólicos) evitou a produção de hexanal em salsichas, nenhum efeito protetor dos extratos antioxidantes frente a produção de hexanal foi observado. Todavia, observou-se que ao longo da vida de prateleira ocorreu diminuição ( $P < 0,05$ ) deste volátil no *headspace* das salsichas: a maior ( $P < 0,05$ ) área de hexanal foi verificada no início da vida de prateleira e a menor ao final (dia 60) (Tabela 10). De maneira semelhante, Lorenzo, Bedia e Bañon (2013) observaram diminuição nas áreas do aldeído decanal e aumento seguido de diminuição nas áreas de hexanal e pentanal durante a vida de prateleira de lingüiça semi-maturada. Durante o armazenamento



dos alimentos, os aldeídos podem ser oxidados a seus ácidos correspondentes ou reduzidos à alcoóis (SUN et al., 2010), o que explica a redução ( $P < 0,05$ ) nas áreas de hexanal verificada durante a vida de prateleira das salsichas.

Tabela 10 – Compostos voláteis de oxidação lipídica em salsichas durante a vida de prateleira sob refrigeração a 4 °C.<sup>1</sup>

Composto Volátil	IK <sup>2</sup>	I <sup>3</sup>	Vida de prateleira, dias			Média <sup>4</sup> ou equação de regressão <sup>5</sup>
			1	30	60	
2-propanol	944	A	1,01	0,31	0,51	$y = 0,61$
Pentanal	987	A	1,02	0,24	0,00	$y = 0,42$
2,3-pentanodiona	1075	A	0,15	0,07	0,15	$y = 0,12$
Hexanal	1092	A	4,44 <sup>A</sup>	2,68 <sup>B</sup>	1,02 <sup>C</sup>	$y = 4480686 - 57939x$
2-heptanona	1187	A	0,25	0,18	0,27	$y = 0,23$
2-pentilfuran	1226	A	0,18	0,13	0,18	$y = 0,16$
Pentanol	1265	A	0,89	0,45	0,43	$y = 0,59$
3-hidroxi-2-butanona	1289	A	0,00 <sup>B</sup>	0,11 <sup>B</sup>	4,51 <sup>A</sup>	$y = 69216 - 71644x - 2428,86x^2$
6-metil-5-hepten-2-one	1345	A	0,44	0,45	0,36	$y = 0,42$
1-hexanol	1362	A	1,13	1,12	1,29	$y = 1,18$
Nonanal	1391	A	2,47	2,04	0,69	$y = 2651457 - 30174x$
2-butoxietanol	1405	A	4,97 <sup>B</sup>	16,39 <sup>A</sup>	14,80 <sup>A</sup>	$y = 4353843 + 628076x - 7566,52x^2$
1-octen-3-ol	1451	A	0,92	0,37	1,28	$y = 0,86$
2-etil-1-hexanol	1619	A	0,71	0,72	0,61	$y = 0,68$
Decanal	1490	A	0,16	0,30	0,24	$y = 0,23$
1-octanol	1499	A	0,65	0,83	0,59	$y = 0,69$
2-octenol	1562	A	0,03	0,04	0,03	$y = 0,03$
Ácido octanóico	2435	B	0,05	0,01	0,09	$y = 0,05$
Ácido nonanóico	2581	B	0,03	0,04	0,17	$y = 0,08$

Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem ( $P < 0,05$ ) pelo teste Tukey

<sup>1</sup> Valores expressos como média da área cromatográfica  $A \times 10^6$ .

<sup>2</sup> IK representa o Índice de Kovats experimental.

<sup>3</sup> Identificação dos compostos: A: através do espectro de massas e do Índice de Kovats de acordo com a literatura; B: espectro de massas de acordo com a biblioteca NIST.

<sup>4</sup> Média para voláteis cuja área não variou ( $P > 0,05$ ) durante a vida de prateleira.

<sup>5</sup> Equação de regressão para voláteis cuja área variou ( $P < 0,05$ ) durante a vida de prateleira

Algumas cetonas, em especial metilcetonas e cetonas com 5 a 10 carbonos, são formadas a partir da oxidação lipídica (GANDEMER, 2002). Neste estudo 4 cetonas foram selecionadas como indicadores de oxidação: 2,3- pentanodiona, 2-heptanona (formada a partir do ácido linoleico), 6-metil-5-hepten-2-ona e 3-hidroxi-2-

butanona. A produção destas cetonas não sofreu efeito ( $P < 0,05$ ) da adição de antioxidantes e o volátil 3-hidroxi-2-butanone foi influenciado ( $P < 0,05$ ) pela vida de prateleira (Tabela 10). Este composto, formado pela oxidação de ácidos graxos hidroxilados e caracterizado por odor amanteigado (GANDEMER, 2002), apresentou incremento ( $P < 0,05$ ) no *headspace* das salsichas durante a vida de prateleira, sendo verificado em maior ( $P < 0,05$ ) área cromatográfica aos 60 dias (Tabela 10).

Os alcoóis saturados ou insaturados são produtos da oxidação lipídica formados via degradação de hidroperóxidos ou redução dos aldeídos formados pela oxidação dos ácidos graxos (GANDEMER, 2002; SUN et al., 2010). A produção do álcool 2-butoxietanol foi afetada ( $P < 0,05$ ) pela vida de prateleira (Tabela 10), sendo que sua quantidade no *headspace* das salsichas aumentou ( $P < 0,05$ ) a partir do dia 30, e não diferiu ( $P > 0,05$ ) entre os 30 e 60 dias. O aumento nas áreas deste volátil, bem como do volátil 3-hidroxi-2-butanona, é explicado pela progressão da oxidação lipídica, verificada ao longo da vida de prateleira das salsichas (Tabelas 7 e 9).

#### 5.2.8 Análise sensorial

As salsichas foram avaliadas sensorialmente nos dias 1, 15 e 30. Após este período foi verificada elevada contagem de microrganismos, o que inviabilizou a continuidade da avaliação.

Não foram verificados efeitos da adição de antioxidantes, vida de prateleira e interação AO x VP na aparência, cor e textura avaliadas sensorialmente ( $P > 0,05$ ) (Tabela 11). Isto demonstra que as diferenças verificadas objetivamente na vermelhidão e palidez (Tabela 5) das salsichas com diferentes antioxidantes não refletiram em alterações perceptíveis aos julgadores e não influenciaram na aceitabilidade dos tratamentos. Da mesma forma, as variações no perfil de textura não impactaram na percepção sensorial da textura das salsichas.

Tabela 11 – Características sensoriais de salsichas com diferentes antioxidantes durante a vida de prateleira sob refrigeração a 4 °C.

Antioxidante	Vida de prateleira, dias			Média	Tendência	
	1	15	30		L	Q
	Aparência					
CON	2,69	2,51	2,65	2,62	0,6748	0,0209
ES	2,68	2,59	2,60	2,62	0,3500	0,4812
ERC	2,52	2,59	2,57	2,56	0,5635	0,5140
ERVT	2,64	2,65	2,65	2,65	0,8794	0,9376
ERVB	2,73	2,62	2,63	2,66	0,2384	0,3562
Média	2,65	2,59	2,62			
	Cor					
CON	2,64	2,48	2,72	2,61	0,3180	0,0031
ES	2,61	2,63	2,56	2,60	0,5279	0,5988
ERC	2,53	2,59	2,60	2,57	0,3299	0,6716
ERVT	2,60	2,69	2,59	2,63	0,8792	0,1659
ERVB	2,65	2,65	2,60	2,63	0,4746	0,6996
Média	2,61	2,61	2,61			
	Odor					
CON	2,56	2,41	2,58	2,52 <sup>AB</sup>	0,6536	0,0412
ES	2,52	2,53	2,56	2,54 <sup>A</sup>	0,5565	0,7967
ERC	2,45	2,41	2,33	2,40 <sup>B</sup>	0,1453	0,9963
ERVT	2,55	2,56	2,63	2,58 <sup>A</sup>	0,3171	0,6277
ERVB	2,51	2,57	2,59	2,55 <sup>A</sup>	0,3541	0,7736
Média	2,52	2,50	2,54			
	Textura					
CON	2,61	2,56	2,64	2,60	0,7178	0,3418
ES	2,64	2,70	2,62	2,65	0,8785	0,2541
ERC	2,53	2,62	2,50	2,55	0,7608	0,0775
ERVT	2,55	2,60	2,64	2,60	0,2895	0,9906
ERVB	2,60	2,60	2,55	2,58	0,5318	0,7411
Média	2,58	2,62	2,59			
	Sabor					
CON	2,66 <sup>Aa</sup>	2,36 <sup>Ab</sup>	2,72 <sup>Aa</sup>	2,58	0,4143	0,0001
ES	2,73 <sup>A</sup>	2,54 <sup>A</sup>	2,63 <sup>AB</sup>	2,63	0,2569	0,0581
ERC	2,34 <sup>B</sup>	2,42 <sup>A</sup>	2,34 <sup>B</sup>	2,37	0,9955	0,3244
ERVT	2,63 <sup>AB</sup>	2,61 <sup>A</sup>	2,66 <sup>A</sup>	2,64	0,6766	0,6877
ERVB	2,59 <sup>AB</sup>	2,57 <sup>A</sup>	2,58 <sup>AB</sup>	2,58	0,9634	0,8205
Média	2,59	2,50	2,59			

Valores expressos como médias das raízes quadradas das notas atribuídas pelos julgadores (escala de 1 a 9).

CON: controle sem antioxidante; ES: eritorbato de sódio; ERC: extrato de resíduos de cervejaria; ERVT: extrato de resíduos de vinificação de uva tinteira; ERVB: extrato de resíduos de vinificação de uva branca; L: tendência linear; Q: tendência quadrática.

Médias seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna e letras minúsculas na mesma linha em cada variável avaliada diferem ( $P < 0,05$ ), respectivamente, entre antioxidante e vida de prateleira pelo teste Tukey.

O odor das amostras foi significativamente afetado pelos antioxidantes ( $P < 0,05$ ) e a percepção sensorial do sabor das salsichas sofreu efeito significativo da interação AO x VP (Tabela 11). O ERC apresentou menor aceitabilidade ( $P < 0,05$ ) para os atributos odor e sabor nos dias 1 e 30 da vida de prateleira (Tabela 11) e a aceitabilidade do tratamento CON com relação ao sabor foi menor ( $P < 0,05$ ) no dia 15 que nos dias 1 e 30.

A menor aceitabilidade do tratamento ERC quanto ao sabor e odor pode estar relacionada com o maior volume de extrato hidro-etanólico adicionado a este tratamento, uma vez que o álcool de cereais possui aroma e sabor característicos que podem desagradar aos provadores. A adição de extratos de resíduos de vinificação não impactou em alterações na aceitabilidade das salsichas, o que diverge dos resultados encontrados por Selani et al. (2011), que verificaram alterações no sabor de carne de frango cozida adicionada de extrato de vinificação de uva tinta (aparecimento de sabor de uva e vinho quando utilizado na concentração de 60 mg EAG/kg) e por Özvural e Vural (2011) que reportaram diminuição na aceitabilidade de salsichas adicionadas de pó de semente de uva.

Não foi possível observar a influência dos produtos secundários de oxidação, como TBARS e voláteis na aceitabilidade das amostras, pois as análises sensoriais foram realizadas somente até o dia 30, quando os valores de TBARS ainda apresentavam-se inferiores aos associados à percepção sensorial (AL-KAHTANI et al., 1996).

A partir dos resultados obtidos na análise sensorial, foi calculado o índice de aceitabilidade (IA) das salsichas (Tabela 12), que permitiu avaliar a aceitação ou reprovação das amostras e não somente as diferenças entre elas. Valores de IA acima de 70% indicaram boa aceitabilidade das salsichas enquanto que valores inferiores indicaram reprovação do produto.

Tabela 12 – Índice de aceitabilidade (IA, %) de salsichas com diferentes antioxidantes durante a vida de prateleira sob refrigeração a 4 °C.<sup>1</sup>

Antioxidante	Vida de prateleira, dias		
	1	15	30
		Aparência, %	
CON	81,2	72,3	79,5
ES	80,7	76,3	77,0
ERC	72,3	75,8	75,3
ERVT	79,0	78,5	80,5
ERVB	83,2	77,0	78,5
		Cor, %	
CON	78,5	70,4	83,0
ES	77,5	78,0	75,3
ERC	72,6	76,0	76,8
ERVT	76,5	81,5	77,0
ERVB	79,3	78,8	76,8
		Odor, %	
CON	73,8	67,2	75,6
ES	72,3	72,6	74,8
ERC	68,9	65,9	62,7
ERVT	73,8	74,1	78,0
ERVB	71,9	74,8	75,8
		Textura, %	
CON	77,0	74,6	78,5
ES	79,0	81,7	78,0
ERC	73,3	77,8	71,9
ERVT	74,3	76,0	79,5
ERVB	76,3	76,0	74,3
		Sabor, %	
CON	79,8	64,4	83,5
ES	83,7	73,1	78,8
ERC	64,2	66,7	64,2
ERVT	77,8	77,3	80,8
ERVB	76,3	74,3	77,0

<sup>1</sup> Dados não analisados estatisticamente;

CON: controle sem antioxidante; ES: eritorbato de sódio; ERC: extrato de resíduos de cervejaria; ERVT: extrato de resíduos de vinificação de uva tinta; ERVB: extrato de resíduos de vinificação de uva branca; AO: antioxidante; IA (%) = índice de aceitabilidade das amostras.

Observando-se os resultados de IA (Tabela 12), é possível verificar que todos os tratamentos foram aprovados quanto à aparência, cor e textura nos três períodos de VP e que as salsichas com extrato de resíduo de cervejaria tiveram baixa aceitabilidade nos quesitos odor e sabor, uma vez que apresentaram IA inferior a

70%. Da mesma forma, CON apresentou baixa aceitabilidade quanto ao odor e sabor no dia 15, sendo, contudo, aprovado nestes quesitos nos dias 1 e 30.

Com base nos índices de aceitabilidade das amostras e nos resultados verificados para os produtos de oxidação lipídica (TBARS e peróxidos), é possível afirmar que os extratos de resíduos de vinificação podem ser empregados como antioxidantes em salsichas sem prejuízos sensoriais e à aceitação do produto.

### 5.2.9 Análise multivariada dos resultados

Com o intuito de reduzir a dimensionalidade dos dados e discriminar os tratamentos em relação aos compostos voláteis de oxidação lipídica, foi realizada a análise multivariada dos mesmos. Posteriormente, foi efetuada análise discriminante canônica de acordo com os antioxidantes e VP, sendo que, após a seleção das variáveis para MANOVA, 11 voláteis (2-propanol, pentanal, hexanal, pentanol, 3-hidroxi-2-butanona, nonanal, 2-butoxietanol, 1-octen-3-ol, 1-octanol, ácido octanóico e ácido nonanóico) foram retidos e combinados para formar as funções canônicas. O teste de Wilks foi significativo ( $P < 0,001$ ), demonstrando que os vetores de médias dos tratamentos diferem e validando a análise exploratória dos dados. Os dois primeiros autovalores explicaram 86,8% da variância total dos dados, sendo que a CAN1 explicou 61,6% e a CAN2 25,2%.

A partir dos dados obtidos, foi construído o gráfico *biplot* (Figura 4A), o que permitiu observar a posição de um tratamento em relação a outro e a associação de cada uma das variáveis em relação aos tratamentos CON, ES, ERC, ERVT e ERVB durante a vida de prateleira (1, 30 e 60 dias). A CAN1 mostrou como informação majoritária a separação entre os antioxidantes no dia 1 (quadrante positivo) e nos dias 30 e 60 (quadrante negativo), enquanto que a CAN2 permitiu a separação nos dias 30 e 60, a separação do CON no dia 1 dos demais antioxidantes no dia 1 e do ERVT no dia 60 dos demais antioxidantes no dia 60 (Figura 4A). Os voláteis que apresentaram correlação ( $P < 0,05$ ) com a CAN1 e explicaram a variabilidade neste eixo foram o 2-propanol, pentanal, hexanal, pentanol, 3-hidroxi-2-butanona, nonanal, 2-butoxietanol e ácido nonanóico, e as variáveis 3-hidroxi-2-butanona, nonanal, 2-butoxietanol, 1-octen-3-ol, 1-octanol, ácido octanóico e ácido nonanóico

apresentaram correlação ( $P < 0,05$ ) com a CAN2 e explicaram a variabilidade neste eixo.

A visualização do gráfico biplot deixa claro o agrupamento das amostras conforme os períodos da vida de prateleira, bem como o agrupamento das amostras em cada período (Figura 4A). A diferenciação das salsichas no dia 1 dos demais períodos está relacionada com a presença de aldeídos, principalmente hexanal, e alcoóis no seu *headspace* no início da vida de prateleira. A separação do CON1 dos demais antioxidantes no dia 1 é explicada pelo composto volátil 1-octen-3-ol, que, apesar de não diferir ( $P > 0,05$ ) entre os antioxidantes, neste período apresentou maior área cromatográfica no CON (dados não mostrados). A separação entre os antioxidantes nos dias 30 e 60, está relacionada principalmente com a presença de 1-octanol e 2-butoxietanol no *headspace* das amostras no dia 30 e com a presença de 3-hidroxi-2-butanona, ácido octanóico, ácido nonanóico e 1-octen-3-ol no *headspace* das amostras no dia 60. A separação do ERVT60 dos demais antioxidantes no dia 60 é explicada pelo volátil 3-hidroxi-2-butanona.

O hexanal foi observado no *headspace* das amostras em maiores áreas ( $P < 0,05$ ) no início do experimento (Tabela 10), o que explica sua contribuição para o agrupamento das amostras do dia 1 e diferenciação destas dos demais períodos da vida de prateleira (Figura 4A). Apesar de não terem sido verificadas diferenças ( $P > 0,05$ ) entre os antioxidantes e durante a VP nas áreas dos voláteis pentanol, 2-propanol, pentanal e nonanal, estes compostos apresentaram maiores valores de área no dia 1 (Tabela 10) e por isso ajudam a explicar o agrupamento dos antioxidantes neste período da VP (Figura 4A).

O álcool 1-octanol, originado a partir da oxidação do ácido oléico (FLORES et al., 1997) não variou ( $P > 0,05$ ) ao longo da vida de prateleira das salsichas, no entanto, este volátil apresentou maior área cromatográfica aos 30 dias, contribuindo para a caracterização do *headspace* das salsichas neste período. Além disso, o 1-octanol explica também a separação de ES e ERVB dos demais antioxidantes no dia 30, posto que foi observado em maiores áreas nestes tratamentos. O volátil 2-butoxietanol contribuiu para a diferenciação das amostras durante a vida de prateleira, pois esteve presente em maior área ( $P < 0,05$ ) aos 30 e 60 dias.

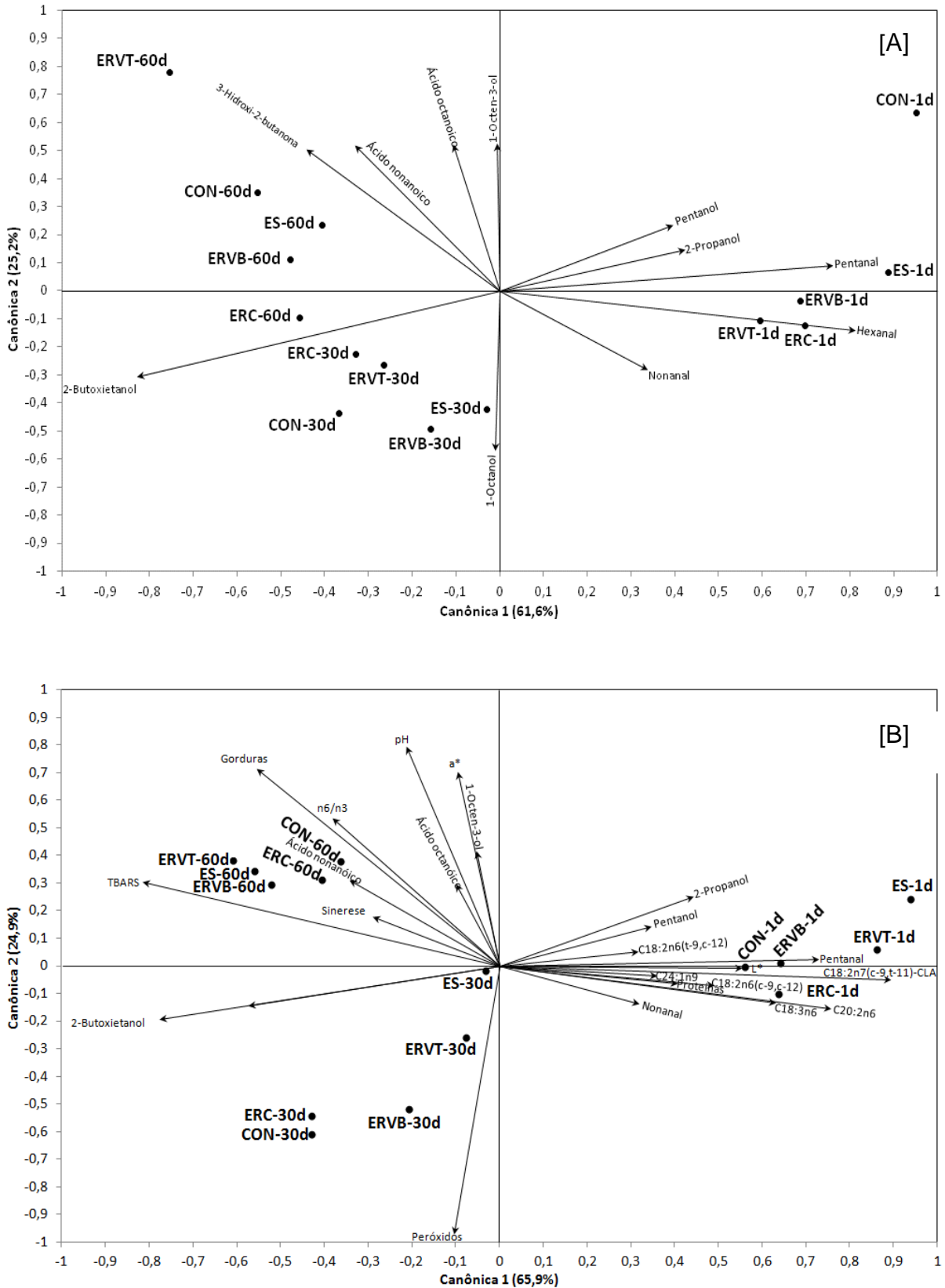


Figura 4 – Projeção bidimensional de salsichas com diferentes antioxidantes ao longo da vida de prateleira por meio de variáveis canônicas a partir dos compostos voláteis de oxidação lipídica [A] e englobando as demais variáveis estudadas [B].



Os ácidos nonanóico e octanóico identificados no *headspace* das salsichas estiveram presentes em maior área cromatográfica ao final da vida de prateleira e por isso contribuíram para diferenciação dos antioxidantes aos 60 dias (Figura 4A). Estes compostos estão associados ao aparecimento de *off-flavors* em alimentos, como odores à ranço, azedo e madeira (SUMMO et al., 2010). O composto 1-octen-3-ol, caracterizado por odor de cogumelo (SUN et al., 2010) e formado a partir da oxidação do ácido linoléico (CALKINS; HODGEN, 2007) apresentou maiores áreas cromatográficas aos 60 dias (Tabela 10), e por isso está associado ao agrupamento dos antioxidantes neste período. O volátil 3-hidroxi-2-butanona é o principal volátil responsável pelo agrupamento das amostras no dia 60, posto que foi identificado com área significativamente maior neste dia (Tabela 10). Além disso, esta cetona apresentou maior área cromatográfica no antioxidante ERVT, o que diferencia este dos demais antioxidantes aos 60 dias.

A análise multivariada completa foi realizada com os dados dos dias 1, 30 e 60, pois as análises de compostos voláteis de oxidação lipídica foram realizadas nestes períodos. Para esta análise foram selecionadas 23 variáveis: proteínas, gorduras, pH, sinerese, L\*, a\*, índice de peróxidos, TBARS, 2-propanol, pentanal, pentanol, nonanal, 2-butoxietanol, 1-octen-3-ol, ácido octanóico e ácido nonanóico e os ácidos graxos 18:2n6(t-9,c-12), 18:2n6(c-9,c-12), 18:2n7(c-9,t-11), 18:3n6, 20:2n6, 24:1n9, n6/n3. Os testes de Wilks, Pillai, Hotelling-Lawley e Roy demonstraram que houve diferença ( $P < 0,001$ ) entre os vetores de médias dos tratamentos, o que possibilitou a análise exploratória dos dados.

A análise canônica demonstrou que os quatro primeiros autovalores (CAN) foram significativos ( $P < 0,001$ ) e que os dois primeiros juntos explicaram 90,8% da variação total dos dados, sendo que a CAN 1 explicou 65,9% e a CAN 2 explicou 24,9%. A partir desta análise dois novos conjuntos de dados foram gerados, os *scores*, que trazem informações sobre as amostras e os *loadings* que mostram informações sobre as variáveis, sendo que a representação destes dois conjuntos de dados em um gráfico *biplot* (Figura 4B) possibilitou a avaliação das relações entre os antioxidantes e as variáveis e de quais variáveis explicaram o agrupamento (similaridade) das salsichas com diferentes antioxidantes durante a vida de prateleira.

Através da observação do gráfico *biplot* (Figura 4B) é possível identificar o agrupamento dos tratamentos (antioxidantes) CON, ES, ERC, ERVT, ERVB

conforme a vida de prateleira, bem como a diferenciação dos tratamentos em cada período desta. A CAN 1 traz como informação majoritária a separação entre os antioxidantes no dia 1 e nos dias 30 e 60 e a CAN 2 traz informações sobre a separação/diferenciação dos antioxidantes nos dias 30 e 60.

As variáveis que explicaram ( $P < 0,05$ ) a variabilidade no eixo x (CAN 1) foram: proteínas, gorduras, perda por exsudação,  $L^*$ , TBARS, C18:2n6(t-9,c-12), C18:2n6(c-9,c-12), C18:2n7(c-9,t-11), C18:3n6, C20:2n6, C24:1n9, n6/n3, 2-propanol, pentanal, pentanol, nonanal, 2-butoxietanol e ácido nonanóico, enquanto que gorduras, pH,  $a^*$ , índice de peróxidos, TBARS, n6/n3, 1-octen-3-ol, ácido octanóico e ácido nonanóico explicaram a variabilidade no eixo y (CAN 2) ( $P < 0,05$ ).

As salsichas apresentaram maior ( $P < 0,05$ ) conteúdo de proteínas no início da vida de prateleira e significativa redução no seu percentual ocorreu a partir dos 30 dias, enquanto o percentual de gorduras aumentou ( $P < 0,05$ ) durante a vida de prateleira, apresentando maior valor ( $P < 0,05$ ) aos 60 dias (Tabela 3). Por isso as proteínas contribuem para a explicação do agrupamento/similaridade dos antioxidantes no dia 1 e a gordura para o agrupamento no dia 60.

Durante a vida de prateleira observou-se incremento ( $P < 0,05$ ) na perda de líquido pelas salsichas (sinerese) (Tabela 4) e além disso, o maior ( $P < 0,05$ ) valor de pH para todos os antioxidantes foi verificado aos 60 dias (Tabela 4). Estas ocorrências podem estar relacionadas com a decomposição e oxidação das proteínas, que leva à diminuição na capacidade de retenção de água e à produção de compostos alcalinos (OMANA; PIETRASIK; BETTI, 2012; MOHAN et al., 2008).

A vida de prateleira teve efeito ( $P < 0,05$ ) sobre a luminosidade das salsichas, sendo evidenciado o escurecimento dos tratamentos durante o armazenamento. A vermelhidão sofreu efeito ( $P < 0,05$ ) da interação AO x VP, e os tratamentos antioxidantes apresentaram maior ( $P < 0,05$ ) índice de vermelho aos 60 dias. Em função disso, estes índices de cor contribuíram para a diferenciação das salsichas nos dias 1 (maior  $L^*$ ) e 60 (maior  $a^*$ ). Adicionalmente, a variável  $a^*$  também contribuiu para a diferenciação dos tratamentos ES e ERVT dos demais no início da vida de prateleira, uma vez que estes apresentaram a maior ( $P < 0,05$ ) vermelhidão no período.

O efeito da oxidação lipídica, com perda de ácidos graxos poli-insaturados e geração/aumento dos produtos desta reação durante a vida de prateleira das salsichas foi bem evidenciado pela análise canônica (Figura 4B). Maiores

percentuais de ácidos graxos insaturados, como 18:2n7(c-9,t-11), 18:3n6 e 20:2n6, foram identificados no início da vida de prateleira (dia 1), sendo que a partir do dia 15 houveram significativas perdas de AGPI (Tabela 8). O processo de oxidação lipídica afeta principalmente os AGPI, devido à maior facilidade de remoção do átomo de hidrogênio, e resulta na perda destes compostos e produção de hidroperóxidos e produtos secundários de oxidação, como TBARS e compostos voláteis (GANDEMER, 2002).

Os peróxidos são produtos primários de oxidação e seu incremento ao longo da vida de prateleira indica a propagação da oxidação lipídica nas amostras (MAQSOOD; BENJAKUL; BALANGE, 2012). Aos 30 dias foi verificado maior índice de peróxidos ( $P < 0,05$ ) para os antioxidantes CON, ERC, ERVT e ERVB, sendo que após este período observou-se queda nestes valores (Tabela 7), provavelmente devido à sua decomposição e formação de produtos secundários. Além disso, através do gráfico foi possível visualizar que os tratamentos ES e ERVT foram mais eficientes na preservação do estado oxidativo das salsichas durante a vida de prateleira (30 dias), pois apresentaram menor relação com a variável IP que os demais tratamentos, ou seja, apresentaram os menores valores de IP.

A presença de diferentes compostos voláteis produzidos a partir da oxidação lipídica caracterizou cada período da vida de prateleira das salsichas. O início do experimento caracterizou-se pela presença de aldeídos e alcoóis no *headspace* das amostras, enquanto que nos dias 30 e 60 (em especial dia 30) maior área de 2-butoxietanol foi verificada. A presença de ácido octanóico, ácido nonanóico e 1-octen-3-ol em maiores áreas no *headspace* das amostras aos 60 dias, ajuda a explicar o agrupamento dos antioxidantes neste dia e diferenciação deste dos demais períodos da vida de prateleira.

Com a evolução da oxidação lipídica durante a vida de prateleira das salsichas, observou-se acréscimo nas substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, principais produtos da decomposição dos hidroperóxidos (OSAWA; FELÍCIO; GONÇALVES, 2005), sendo que o dia 60 caracterizou-se por maiores ( $P < 0,05$ ) valores de TBARS (Tabela 7). Adicionalmente, através da visualização gráfica fica clara a perda da eficiência dos antioxidantes ES, ERVT e ERVB no final da vida de prateleira, uma vez que estes apresentaram maior relação com a variável TBARS.

A análise canônica permitiu ainda, observar que aos 60 dias da vida de prateleira as salsichas encontravam-se bastante alteradas e talvez impróprias para

consumo, uma vez que o período final deste estudo caracterizou-se por elevados valores de TBARS, ácidos voláteis, 1-octen-3-ol,  $n6/n3$ , pH e sinerese, fatores estes que contribuem para a perda de qualidade sensorial e nutricional dos alimentos, pois causam alterações no sabor e odor do alimento e representam perdas de compostos essenciais e benéficos para a saúde.

## 6 CONCLUSÕES

Os extratos de resíduos de vinificação apresentaram elevada concentração de compostos fenólicos e atividade antioxidante. Em contrapartida, o extrato hidro-etanólico de resíduo de cervejaria apresentou baixa concentração de fenólicos, o que fez necessária a adição de grande volume de extrato às salsichas ERC, com o intuito de se obter a dosagem de antioxidantes proposta de 60 mg EAG/kg salsicha.

A adição dos extratos naturais causou alterações na coloração das salsichas. O extrato de resíduo de cervejaria provocou o escurecimento do produto e além disso, verificou-se o escurecimento de todos os tratamentos (antioxidantes), bem como o incremento da palidez durante a vida de prateleira das salsichas. O ES e ERVT apresentaram maior vermelhidão e se mostraram eficientes na estabilização da cor vermelha das salsichas. Apesar destas variações e diferenças, todos os tratamentos obtiveram bom índice de aceitabilidade no painel sensorial, não sendo observadas diferenças de aceitação para cor ( $P>0,05$ ) entre os antioxidantes.

Durante a vida de prateleira foram observadas alterações na textura das salsichas, devido, provavelmente, à oxidação das proteínas. Entretanto, estas alterações não foram percebidas sensorialmente e todos os tratamentos obtiveram bom índice de aceitabilidade para textura.

O eritorbato de sódio mostrou-se o antioxidante mais eficiente na prevenção da formação de produtos primários de oxidação (hidroperóxidos). No entanto, os extratos hidro-etanólicos de resíduos de cervejaria e vinificação, na concentração de 60 mg de fenólicos totais/kg de amostra, foram tão eficientes quanto o eritorbato de sódio na inibição da oxidação lipídica (TBARS). Após 30 dias todos os antioxidantes (naturais e sintético) perderam eficiência. Talvez doses maiores de antioxidantes naturais pudessem prevenir de maneira mais eficaz a formação de peróxidos e manter a estabilidade oxidativa das amostras por maior período.

Os antioxidantes naturais e sintético não exerceram efeito protetor sobre os ácidos graxos insaturados, sendo verificada diminuição nos seus percentuais ao longo da vida de prateleira das salsichas. Da mesma forma, a produção de compostos voláteis indicadores de oxidação lipídica, não foi afetada ou reduzida pela adição de antioxidantes (naturais e sintético).

A adição de extrato de resíduo de cervejaria alterou o sabor e odor das salsichas, o que desagradou aos provadores. Já os extratos de resíduos de vinificação não causaram alterações nas características sensoriais das salsichas.

O fato de ter inibido a oxidação lipídica por 30 dias, aliado a ausência de alterações sensoriais, possibilita a utilização de extratos de resíduos de vinificação de uva branca como antioxidante natural em salsichas. De forma semelhante, a inibição da oxidação lipídica por 30 dias, aliada a estabilização da cor vermelha e ausência de alterações sensoriais, possibilita a utilização de extrato de resíduo de vinificação de uva tinta como antioxidante natural em salsichas.

O elevado conteúdo de fenólicos extraído, somado à eficiência na inibição da oxidação lipídica possibilitam a utilização de resíduos agroindustriais de vinificação como fonte de antioxidantes naturais para alimentos.

A utilização de maiores concentrações de compostos fenólicos (acima de 60 mg EAG/kg produto) e/ou a utilização de extratos de resíduos de vinificação juntamente com antioxidantes sintéticos talvez demonstrem maior eficiência na preservação do estado oxidativo de salsichas e produtos cárneos e apresentam-se como possibilidades para estudos futuros.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, L. T. et al. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 27(2), p. 394-400, abr.-jun., 2007.

ACREE, T. E.; HEINRICH, A. Tastenet and human odor space, Gas chromatography-olfactometry (GC-O) of natural products., 2009. Disponível em <<http://flavornet.org>>, acessado em dezembro/2012.

ADITIVOS & INGREDIENTES: Os Corantes Alimentícios. In: Aditivos & Ingredientes. [S.l: s.n.] [20--]. Disponível em: <[http://www.insumos.com.br/aditivos\\_e\\_ingredientes/materias/119.pdf](http://www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materias/119.pdf)>. Acesso em: 05 jan. 2013.

AHN, D. U., NAM, K. C. Effects of ascorbic acid and antioxidants on color, lipid oxidation and volatiles of irradiated ground beef. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 71, p. 149-154, 2004.

AKSU, M. I., KAYA, M. The effect of a-tocopherol and butylated hydroxyanisole on the colour properties and lipid oxidation of kavurma, a cooked meat product. **Meat Science**, v. 71, p. 277-283, 2005.

AL-KAHTANI, H. A. et al. Chemical changes after irradiation and post-irradiation in tilapia and Spanish mackerel. **Journal of Food Science**, 61(4), 729-733, 1996.

ALLAIS, I. et al. A rapid method based on front-face fluorescence spectroscopy for the monitoring of the texture of meat emulsions and frankfurters. **Meat Science**, v. 67, p. 219-229, 2004.

ANASTASIADI, M. et al. Bioactive non-coloured polyphenols content of grapes, wines and vinification by-products: evaluation of the antioxidant activities of their extracts. **Food Research International**, v. 43, p. 805-813, 2010.

AOAC. Official methods of analysis of AOAC International (16<sup>th</sup> ed.). Arlington, VA, USA: AOAC International, 1995

ÁLVAREZ, D. et al. Prediction of meat emulsion stability using reflection photometry. **Journal of Food Engineering**, v. 82, p. 310-315, 2007.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos Teoria e Prática**. Viçosa: Ed UFV, 2011.

BAIK, B.K.; ULLRICH, S. E. Barley for food: characteristics, improvement and renewed interest. **Journal of Cereal Science**, v.48, p. 233-242, 2008.

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

BAÑÓN, S. et al. Ascorbate, green tea and grape seed extracts increase the shelf life of low sulfite beef patties. **Meat Science**, v. 77, p. 626-633, 2007.

BARRINGER, S. A.; ABU-ALI, J.; CHUNG, H. J. Electrostatic powder coating of sodium erythorbate and GDL to improve color and decrease microbial counts on meat. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 6, p. 189-193, 2005.

BEKHIT, A. E. D. et al. The effects of natural antioxidants on oxidative processes and metmyoglobin reducing activity in beef patties. **Food Chemistry**, v. 81, p. 175-187, 2003.

BEZERRA, A. S. **Caracterização de compostos antioxidantes em grãos de diferentes cultivares de cevada (*Hordeum vulgare L.*)**. 2009. Dissertação (mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

BIANCHI, F. et al. Retention indices in the analysis of food aroma volatile compounds in temperature-programmed gas chromatography: Database creation and evaluation of precision and robustness. **Journal of Separation Science**, v. 30, p. 563-572, 2007.

BIRCH, A. E. et al. Antioxidant properties of evening primrose seed extracts. **J. Agric. Food Chemistry**, v. 49, p. 4502-4507, 2001.

BOU, R. et al. Determination of hydroperoxides in foods and biological samples by the ferrous oxidation–xylenol orange method: A review of the factors that influence the method's performance. **Analytical Biochemistry**, v. 377, p. 1-15, 2008.



BOURNE, M. C. Texture profile analysis. **Food Technology**, v. 32, p.62-66, 1978.

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

BRANNAN, R. G. Effect os grape seed extract on physicochemical properties of ground, salted, chicken thigh meat during refrigerated storage at different relative humidity levels. **Journal of Food Science: Food Chemistry**, v. 73, n. 1, p. 36-40, 2008.

BRANEN, A. L.; DAVIDSON, P. M.; SALMINEN, S. **Food Additives**. New York: Marcel Dekker, 1990.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto n. 30691, de 29 de março de 1952. Aprova o novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). **Diário Oficial da União**, Brasília, 07/07/1952, Seção 1, p. 10785, 1952.

BRASIL. Ministério da Saúde – Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº540 de 27 de outubro de 1997 – Regulamento Técnico: Aditivos alimentares – definições, classificação e emprego. **Diário Oficial da República União**, publicado em 28 de outubro de 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde – Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº1004 de 11 de dezembro de 1998 – Atribuição de Função de Aditivos, Aditivos e seus Limites Máximos de uso para a Categoria 8 – Carne e Produtos Carneos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, republicado em 22 de março de 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 4 de 31 de março de 2000 – Anexo IV – Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Mortadela, Linguiça, Salsicha, Almôndega, Hambúrguer e Fiambre. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, publicado em 5 de abril de 2000.

BREWER, M. S. Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 10, p. 211-247, 2011.

BUXIANG, S.; FUKUHARA M. Effects of co-administration of butylated hydroxytoluene, butylated hydroxyanisole and flavonoids on the activation of mutagens and drug-metabolizing enzymes in mice. **Toxicology**, v. 122, p. 61-72, 1997.

CAMPOS, L. M. A. S. et al. Free radical scavenging of grape pomace extracts from Cabernet sauvignon (*Vitis vinifera*). **Bioresource Technology**, v. 99, p. 8413-8429, 2008.

CAPITANI, C. D. et al. Evaluation of natural and synthetic compounds according to their antioxidant activity using a multivariate approach. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 111, p. 1090-1099, 2009.

CALKINS, C. R.; HODGEN, J. M. A fresh look at meat flavor. **Meat Science**, v. 77, p. 63-80, 2007.

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental/Secretaria do Meio Ambiente/Governo do Estado de São Paulo. **Guia Técnico Ambiental – Cervejas e Refrigerantes**, 2005. Disponível em: <[http://www.crq4.org.br/downloads/cervejas\\_refrigerantes.pdf](http://www.crq4.org.br/downloads/cervejas_refrigerantes.pdf)>. Acesso em: 24/07/2011.

CHEVANCE, F. F. V.; FARMER, L. J. Identification of major volatile odor compounds in frankfurters. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 5151-5160, 1999.

CHOE, E., MIN, D. B. Mechanisms of Antioxidants in the Oxidation of Foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 8, p. 345-358, 2009.

CHRISTIE, W. W. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesterol esters. **Journal of Lipid Research**, v. 23, p. 1072, 1982.

COUPLAND, J. N., McCLEMENTS, D. J. Lipid oxidation in food emulsions. **Trends in Food Science & Technology**, v. 7, p. 83-91, 1996.

DALEY, C. A. et al. A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. **Nutrition Journal**, 9:10, 2010.

DAMODARAN, S., PARKIN, K. L., FENNEMA, O. W. Química de alimentos de Fennema. São Paulo: Ed Artmed, 2008, p. 134.

DECKER, E. A., MEI, L. Antioxidant mechanisms and applications in muscle foods. **American Meat Science Association**: Reciprocal Meat Conference Proceedings, v. 49, p. 64-72, 1996.

DENG, Q.; PENNER, M. H.; ZHAO, Y. Chemical composition of dietary fiber and polyphenols of wine grape pomace skins. **Food Research International**, v. 44, p. 2712-2720, 2011.

DUDONNÉ, S. et al. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 1768-1774, 2009.

DUSEK, M. et al. Isotachophoretic determination of added phosphate in meat products. **Meat Science**, v. 65, p. 765-769, 2003.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Produtos cárneos**. Disponível em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/ovinos\\_de\\_corte/arvore/CONT000g3izo\\_hks02wx5ok0tf2hbweqanedo.htm](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/ovinos_de_corte/arvore/CONT000g3izo_hks02wx5ok0tf2hbweqanedo.htm)>. Acesso em 14 nov. 2012.

ESTÉVEZ, M., et al. Analysis of volatiles in meat from Iberian pigs and Lean pigs after refrigeration and cooking by using SPME-GC-MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 4329-4345, 2003.

ESTÉVEZ, M.; VENTANAS, S.; CAVA, R. Lipolytic and oxidative changes during refrigeration of cooked loin chops from three lines of free-range-reared Iberian pigs slaughtered at 90 kg live weight and industrial genotype pigs. **Food Chemistry**, v. 87, p. 367-376, 2004.

ESTÉVEZ, M.; VENTANAS, S.; CAVA, R. Protein oxidation in frankfurters with increasing levels of added rosemary essential oil: effect on colour and texture deterioration. **Journal of Food Science**, v. 70, p. 427-432, 2005.

ESTÉVEZ, M. et al. Influence of the addition of rosemary essential oil on the volatiles pattern of porcine frankfurters. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 8713-8324, 2005.

ESTÉVEZ, M.; MARCUONDE, D.; CAVA, R. Extensively reared Iberian pigs versus intensively reared white pigs for the manufacture of frankfurters. **Meat Science**, v. 72, p. 356-364, 2006.

ESTÉVEZ, M. et al. Protein carbonylation and water-holding capacity of pork subjected to frozen storage: effect of muscle type, premincing, and packaging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 5435-5443, 2011.

FERREIRA, M. F. et al. Avaliação físico-química de salsichas tipo Viena com substituição de gordura animal por óleo de girassol. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, p. 1-7, 2003.

FLORES, M. et al. Correlations of sensory and volatile compounds of Spanish "Serrano" dry-cured ham as a function of two processing times. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 2178-2186, 1197.

FONTANA, J. D. et al. Carotenóides: cores atraentes e ação biológica. **Biociência, Ciência & Desenvolvimento**, p. 40-45, [20--]. Disponível em: <<http://www.cultivar.com.br/revista/bio13/caroteno.pdf>>. Acesso em: 05 jan. 2013.

FUKUMOTO, L. R.; MAZZA, G. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 3597-3604.

GALLEGOS-INFANTE, J. A. et al. Effect of processing on the antioxidant properties of extracts from mexican barley (*Hordeum vulgare*) cultivar. **Food Chemistry**, v. 119, p. 903-906, 2010.

GANDEMER, G. Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. **Meat Science**, v. 62, p. 309-321, 2002.

GANHÃO, R., ESTÉVEZ, M., MARCUONDE, D. Suitability of the TBA method for assessing lipid oxidation in a meat system with added phenolic-rich materials. **Food Chemistry**, v. 126, p. 772-778, 2011.

GEORGANTELIS, D. et al., Effect of rosemary extract, chitosan and  $\alpha$ -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4°C. **Meat Science**, v.76, p. 172-181, 2007.

GRAYBILL, F.A. **Theory and application of the linear model**. Belmont: Duxbury Press, 1976. 704p.

GREENE, B.E.; CUMUZE, T.H. Relationship between TBA numbers and inexperienced panelist's assessments of oxidized flavor in cooked beef. **Journal of Food Science**, v. 47, p. 52–58, 1982.

GUPTA. M., ABU-GHANNAM, N., GALLAGHAR, E. Barley for brewing: characteristic, changes during malting, brewing and applications of its by-products. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, p. 318-328, 2010.

GULARTE, M. A. Manual de Análise Sensorial de Alimentos. Pelotas: **Ed da Universidade Federal de Pelotas**, 2009.

HAYES, J. E et al. Evaluation of the effects of selected plant-derived nutraceuticals on the quality and shelf-life stability of raw and cooked pork sausages. **LWT-Food Science and Technology**, v. 44, p. 164-172, 2011.

HARA, A.; RADIN, N. S. Lipid extraction of tissues of low toxicity solvent. **Analytical Biochemistry**, v. 90, p. 420-426, 1978.

HARRIS, R.J. **A primer of multivariate statistics**. New York: Academic Press, 1975. 332p.

HOAC, T. et al. Influence of heat treatment on lipid oxidation and glutathione peroxidase activity in chicken and duck meat. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 7, p. 88-93, 2006.

HONIKEL, K. O. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. **Meat Science**, v. 98, p. 68-76, 2008.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009**, 2010. Disponível em: [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008\\_2009\\_aquisicao/pof20082009\\_aquisicao.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_aquisicao/pof20082009_aquisicao.pdf)>. Acesso em 14 nov. 2012.

JAYATHILAKAN, K. et al. Antioxidant potential of synthetic and natural antioxidants and its effect on warmed-over-flavour in different species of meat. **Food Chemistry**, v. 105, p. 908-916, 2007.

KEETON, J. T. Low-fat meat products – technological problems with processing. **Meat Science**, v. 36, p. 261-276, 1994.

KHATTREE, R.; NAIK, D.N. **Multivariate data reduction and discrimination with SAS Software**. North Carolina: SAS Institute, 2000. 558p.

KULAWIK, P. et al. Significance of antioxidants for seafood safety and human health: A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, dez. 2012. Disponível em: <<http://pubs.acs.org>>. Acesso em: 8 jan. 2013.

LADIKOS, D., LOUGOVOIS, V. Lipid oxidation in muscle foods: a review. **Food Chemistry**, v. 35, p. 295-314, 1990.

LEE, M-A. et al. The antioxidative properties of mustard leaf (*Brassica juncea*) kimchi extracts on refrigerated raw ground pork meat against lipid oxidation. **Meat Science**, v.84, p. 498-504, 2010.

LI, J. Y.; YEH, A. I. Effects of starch properties on rheological characteristics of starch/meat complexes. **Journal of Food Engineering**, v. 57, p. 287-294, 2003

LIPKOVICH, I.; SMITH, E.P. Biplot and singular value decomposition macros for Excel. **Journal of Statistical Software**, Los Angeles, v.7, n.5, p.1-15, jun, 2002

LIU, Q.; YAO, H. Antioxidant activities of barley seeds extracts. **Food Chemistry**, v. 102, p. 732-737, 2007.

LIU, D. C. et al. Effect of various levels of rosemary or Chinese mahogany on the quality of fresh chicken sausage during refrigerated storage. **Food Chemistry**, v. 117, p. 106-113, 2009.

LORENZO, J. M.; BEDIA, M.; BAÑÓN, S. Relationship between flavour deterioration and the volatile compound profile of semi-ripened sausage. **Meat Science**, v. 93, p. 624-620, 2013.

LU, J. et al. Evolution of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity during Malting. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 10994-11001, 2007.

LU, M. et al., Antioxidant capacity and major phenolic compounds of spices commonly consumed in China. **Food Research International**, v. 44, p. 530-536, 2011.

MACRAE, J., O'REILLY, L., MORGAN, P. Desirable characteristics of animal products from a human health perspective. **Livestock Production Science**, v. 94, p. 95-103, 2005.

MAILLARD, M. N. et al. Antioxidant activity of barley and malt: relationship with phenolic content. **Lebensm.-Wiss. u.-Technol.**, v. 29, p. 238–244, 1996.

MAQSOOD, S., BENJAKUL, S., BALANGE, A. K. Effect of tannic acid and kiam wood extract on lipid oxidation and textural properties of fish emulsion sausages during refrigerated storage. **Food Chemistry**, v. 130, p. 408-416, 2012.

MERCADANTE, A. Z. et al. Effect of natural pigments on the oxidative stability of sausages stored under refrigeration. **Meat Science**, v. 84, p. 718-726, 2010.

MOHAN, C.O.; RAVISHANKAR, C.N.; SRINIVASAGOPAL, K. Effect of O<sub>2</sub> scavenger on the shelf-life of catfish (*Pangasius sutchi*) steaks during chilled storage. **Journal of Sci. Food Agriculture**. v. 88, p. 442–448, 2008.

MOURE, A. et al. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, v. 72, p. 145-171, 2001.

NUCZK, M., SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, p. 1523-1542, 2006.

OLSEN, E. et al. Analysis of Early Lipid Oxidation in Smoked, Comminuted Pork or Poultry Sausages with Spices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 7448-7457, 2005.

OMANA, D. A., PIETRASIK, Z., BETTI M. Use of poultry protein isolate as a food ingredient: sensory and color characteristics of low-fat turkey bologna. **Journal of Food Science**, v. 77, p. 274-280, 2012.

ORAK, H. H. Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations. **Scientia Horticulturae**, v. 111, p. 235-241, 2007.

OSAWA, C. C., FELÍCIO, P. E., GONÇALVES, L. A. P. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química nova**, v. 28 (4), p. 655-663, 2005.

ÖZVURAL, E. B., VURAL, H. Grape seed flour is a viable ingredient to improve the nutritional profile and reduce lipid oxidation of frankfurters. **Meat Science**, v. 88, p. 179-183, 2011.

PARK, S. Y. et al. Evaluation of lipid oxidation and oxidative products as affected by pork meat cut, packaging method, and storage time during frozen storage (-10 °C). **Journal of Food Science: Food Chemistry & Toxicology**, v. 72, p. 114-119, 2007.

PARDI, M. C. et al. **Ciência, Higiene e Tecnologia da carne**, vol. 1.2ª edição. Goiânia: Ed da UFG, 2001, 149p.

PEREIRA DE ABREU, D. A. et al. Evaluation of the effectiveness of a new active packaging film containing natural antioxidants (from barley husks) that retard lipid damage in frozen Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Food Research International**, v. 43, p. 1277-1282, 2010.

PEREIRA DE ABREU, D. A. et al. Natural antioxidant active packaging film and its effect on lipid damage in frozen blue shark (*Prionace glauca*). **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 12, p. 50-55, 2011.

PÉREZ-PALACIOS, T. et al. Comparison of different methods for total lipid quantification in meat and meat products. **Food Chemistry**, v. 110, p. 1025-1029, 2008.

PINHO, A. P. S., et al. Perfil lipídico da gordura intramuscular de cortes e marcas comerciais de carne bovina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40(5), p. 1134-1142, 2011.

POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M. **Antioxidants in food – Practical Applications**. Boca Raton: CRC Press, 2008

POSSARI, A. L. D. Realçando Sabores. In: ADITIVOS & INGREDIENTES NA INDÚSTRIA DA CARNE.[S.l: s.n.] [20--]. Disponível em: <[http://www.insumos.com.br/aditivos\\_e\\_ingredientes/materias/163.pdf](http://www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materias/163.pdf)>. Acesso em : 5 nov. 2012.



PRANDL, O. et al. **Tecnología y Higiene de la Carne**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1994, 529p.

QINGMING, Y. et al. Antioxidant activities of malt extract from barley (*Hordeum vulgare* L.) toward various oxidative stress *in vivo* and *in vitro*. **Food Chemistry**, v. 118, p. 84-89, 2010.

RAHARJO, S.; SOFOS, J. N.; SCHMIDT, G. R. Improved speed, specificity and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C18 method for measuring lipid peroxidation in beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, p. 2182-2185, 1992

ROCKENBACH, I. V. et al. Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. **Food Chemistry**, v. 127, p. 174-179, 2011

ROJAS, M. C.; BREWER, M. S. Effects of natural antioxidants on oxidative stability of cooked, refrigerated beef and pork. **Journal of Food Science: Sensory and nutritive qualities of food**, v. 72, p. 282-288, 2007.

SAMAPAIO, G. R. et al. Effect of natural antioxidant combinations on lipid oxidation in cooked chicken meat during refrigerated storage. **Food Chemistry**, v. 135, p. 1383-1390, 2012.

SELANI, M. M. et al. Wine industry residues extracts as natural antioxidants in raw and cooked chicken meat during frozen storage. **Meat Science**, v. 88, p. 397-403, 2011.

SHAHIDI, F. Indicators for evaluation of lipid oxidation and off-flavor development in food. **Food Flavors: Formation, Analysis and Packaging Influences**, 1998.

SHAMI, N. J. I. E., MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutrição**, v. 17(2), p. 227-236, abr./jun., 2004

SHANTA, N. L.; DECKER, E. A. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. **Journal of AOAC International**, v. 77 (2), p. 421-424, 1994.

SHIRAHIGUE, L. D. et al. Wine industry residue as antioxidant in cooked chicken meat. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 45, p. 863-870, 2010.

SINDICERV. Sindicato Nacional da Indústria da Cerveja. Atuação. 2010. Disponível em: <<http://www.sindicerv.com.br>>. Acesso em: 20/11/2012

SINGLETON, V. L.; Rossi, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology & Viticulture**, v. 20, p. 144-158, 1965.

STEELE, R. Understanding and measuring the shelf-life of food. Boca Raton: **CRC Press**, 2004.

SUMMO, C. et al. Evolution of the volatile compounds of ripened sausages as a function of both storage time and composition of packaging atmosphere. **Meat Science**, v. 86, p. 839-844, 2010.

SOYER, A. et al. Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat. **Food Chemistry**, v. 120, p. 1025-1030, 2010.

SUN, W. et al. Volatile compounds of Cantonese sausage released at different stages of processing and storage. **Food Chemistry**, v. 121, p. 319-325, 2010.

TERRA, N. N. **Apontamentos de Tecnologia de Carnes**. Ed.Unisinos. 1998.

TOBIN, B. D. et al. Effect of varying salt and fat levels on the sensory and physiochemical quality of frankfurters. **Meat Science**, v. 92, p. 659-666, 2012.

ULU, H. Evaluation of three 2-thiobarbituric acid methods for the measurement of lipid oxidation in various meats and meat products. **Meat Science**, v.67, p. 683-687, 2004

USDA. UNITED STATE DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Economic Research Service**. Disponível em: < <http://www.ers.usda.gov/topics/international-markets-trade/countries-regions/brazil/trade.aspx#livestock>>. Acesso em 14 nov. 2012.

UVIBRA. União Brasileira de Vitivinicultura. **Produção de uvas, elaboração de vinhos e derivados 2002 a 2011**, 2011. Disponível em: <[http://www.uvibra.com.br/pdf/safra\\_uva2002-2011.pdf](http://www.uvibra.com.br/pdf/safra_uva2002-2011.pdf)>. Acesso em: 14 nov. 2012.

WARAHO, T., McCLEMENTS, D. J., DECKER, E. A. Mechanisms of lipid oxidation in food dispersions. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, p. 3-13, 2011.

WEISS, J. et al. Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. **Meat Science**, v. 86, p. 196-213, 2010.

WETTASINGHE, M. et al. Volatile flavour composition of cooked by-product blends of chicken, beef and pork: a quantitative GC-MS investigation. **Food Research International**, v. 34, p. 149-158, 2001.

VIUDA-MARTOS, M. et al. Effect of orange dietary fibre, oregano essential oil and packaging conditions on shelf-life of bologna sausages. **Food Control**, v. 21, p. 436-443, 2010.

VOSSSEN E. et al. Dog rose (*Rosa canina* L.) as a functional ingredient in porcine frankfurters without added sodium ascorbate and sodium nitrite. **Meat Science**, v. 92, p. 451-457, 2012.

YARNPAKDEE, S. et al. Lipid oxidation and fishy odour development in protein hydrolysate from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) muscle as affected by freshness and antioxidants. **Food Chemistry**, v. 132, p. 1781-1788, 2012.

YI, C. et al. Fatty acid composition and phenolic antioxidants of winemaking pomace powder. **Food Chemistry**, v. 114, p. 570-576, 2009.

YOUSSEF, M. K.; BARBUT, S. Effects of two types of soy protein isolates, native and preheated whey protein isolates on emulsified meat batters prepared at different protein levels. **Meat Science**, v. 87, p. 54-60, 2011.



## **APÊNDICES**



## Apêndice A



### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado a participar de um estudo intitulado “POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS NATURAIS EM SALSICHA TIPO BOCK”, que tem como objetivo avaliar a ação antioxidante de extratos naturais, obtidos de resíduos agroindustriais de cevada e uvas, ao longo do prazo de validade de salsichas e o seu reflexo na qualidade sensorial dos produtos.

Salsichas são embutidos amplamente consumidos no Brasil, sendo consideradas fontes de proteínas e gorduras para quem as consome. Na maioria das formulações de embutidos, são usadas substâncias antioxidantes para evitar o aparecimento de sabor e odor rançosos, a perda de nutrientes, e manter a estabilidade da cor. A maioria dos antioxidantes utilizados em alimentos são artificiais, sendo importante a pesquisa e a busca por ingredientes naturais e mais saudáveis.

#### ***Procedimentos a serem realizados***

Serão oferecidas a você amostras de salsichas contendo diferentes antioxidantes. Será solicitado que você as prove, marcando nas fichas a sua resposta com relação às características sensoriais (sabor, cor e odor) do produto oferecido.

#### ***Riscos possíveis e benefícios esperados***

Fica claro que você não é obrigado a participar do projeto. No caso de recusa você não terá nenhum tipo de prejuízo. A qualquer momento da pesquisa você é livre para retirar-se da mesma.

No caso de aceite, fica claro que os produtos oferecidos são seguros e de boa qualidade, não havendo prejuízos ou riscos a sua saúde (a não ser, MUITO RARAMENTE, algum desconforto do estômago em função dos ingredientes normais da formulação), assim como pode ocorrer durante o consumo de salsichas convencionais. Não haverá benefício financeiro pela sua participação e nenhum custo para você.

Você não terá benefícios diretos, entretanto, ajudará a comunidade científica a identificar o reflexo do uso de um novo ingrediente (antioxidante natural), nas características de sabor, cor e odor de salsichas.

#### ***Confidencialidade***

Os dados obtidos com esta pesquisa serão publicados em revistas científicas reconhecidas. Os seus dados serão analisados em conjunto com os de outros participantes, assim, não aparecerão informações que possam lhe identificar, sendo mantido o sigilo de sua identidade.

**Utilização dos dados obtidos**

O material coletado e os seus dados serão utilizados somente para esta pesquisa e ficarão guardados com o pesquisador por cinco anos, após o qual serão destruídos.

Os pesquisadores responsáveis pelo estudo são o Prof. Dr. Renius de Oliveira Mello e Julie Casarotto, aluna do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFSM. Em qualquer etapa do estudo você terá acesso aos pesquisadores responsáveis pelo estudo para esclarecimento de eventuais dúvidas.

Este estudo obteve aprovação junto ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria, com protocolo n° 23081.015330/2011-11.

**Telefones para contato com os pesquisadores**

\*Prof. Dr. Renius de Oliveira Mello - (55) 3220 - 8547

\*Julie Casarotto – (55) 9154 - 1886

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS NATURAIS EM SALSICHA TIPO BOCK”. Ficaram claros para mim quais são os objetivos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo.

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste sujeito de pesquisa ou representante legal para a participação neste estudo.

---

Assinatura do participante

---

Assinatura do responsável pelo estudo

Santa Maria, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2012.

Comitê de Ética em Pesquisa (CEP/UFSM) - Avenida Roraima, 1000 - Prédio da Reitoria - 7º andar - Sala 702. Cidade Universitária - Bairro Camobi 97105-900  
Santa Maria – RS.



## Apêndice B

### Ficha de Avaliação Sensorial

Sexo: ( )Feminino ( ) Masculino

Idade: ( )18 a 25anos ( )26 a 35 anos ( )36 a 45 anos ( )46 a 55 anos ( )55 anos

Você está recebendo 5 (cinco) amostras de salsichas tipo bock, confeccionadas com antioxidantes de diferentes fontes. Por favor, prove-as e avalie o quanto você gostou ou desgostou das amostras de acordo com a ESCALA abaixo:

- |                            |                             |
|----------------------------|-----------------------------|
| (9) Gostei extremamente    |                             |
| (8) Gostei muito           |                             |
| (7) Gostei moderadamente   | (3) Desgostei moderadamente |
| (6) Gostei ligeiramente    | (2) Desgostei muito         |
| (5) Indiferente            | (1) Desgostei extremamente  |
| (4) Desgostei ligeiramente |                             |

Número da amostra	Aparência	Cor	Odor	Sabor
956				
623				
427				
590				
835				

Comentários: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## Apêndice C

## Estatística descritiva das variáveis analisadas

Variáveis	n	MIN	MAX	MÉDIA	DP	EP	CV
Umidade	100	55,91	64,58	61,68	2,04	0,20	3,31
Cinzas	100	4,12	5,66	4,62	0,34	0,03	7,27
Proteína	100	15,25	21,90	17,89	1,26	0,13	7,04
Gordura	100	9,64	14,14	11,48	1,21	0,12	10,56
pH	100	6,15	6,48	6,31	0,07	0,01	1,14
Sinerese	100	0,41	6,01	2,25	1,08	0,11	48,19
<i>L</i> *	100	54,42	57,28	56,11	0,56	0,06	0,99
<i>a</i> *	100	15,70	21,97	19,07	1,50	0,15	7,89
<i>b</i> *	100	10,01	11,79	10,59	0,42	0,04	3,93
<i>a</i> */ <i>b</i> *	100	1,46	2,08	1,80	0,13	0,01	7,27
<i>c</i> *	100	18,99	24,37	21,82	1,41	0,14	6,46
<i>h</i> *	100	25,65	34,47	29,15	1,79	0,18	6,15
Índice peróxidos IP	100	0,36	10,85	3,13	2,58	0,26	82,58
TBARS	100	0,49	5,99	2,05	1,23	0,12	59,80
10:0	100	0,04	0,19	0,06	0,02	0,002	39,48
12:0	100	0,04	0,23	0,07	0,03	0,003	41,51
14:0	100	1,2	1,94	1,37	0,11	0,01	8,07
14:1 <i>n</i> 5	100	0,07	0,15	0,10	0,01	0,001	13,54
15:0	100	0,14	1,43	0,23	0,20	0,02	90,10
16:0	100	21,86	24,03	22,52	0,48	0,05	2,12
16:1 <i>n</i> 7	100	2,18	2,37	2,28	0,05	0,004	1,99
17	100	0,02	0,75	0,69	0,08	0,01	10,98
17:1 <i>n</i> 7	100	0,45	0,57	0,53	0,02	0,002	4,32
18:0	100	13,15	16,42	14,67	0,47	0,05	3,19
Σ 18:1	100	37,02	39,91	38,84	0,51	0,05	1,32
18:1 <i>n</i> 7	100	0,08	0,25	0,16	0,04	0,004	25,78
18:1 <i>n</i> 9	100	36,92	39,73	38,69	0,49	0,05	1,28
Σ 18:2	100	10,67	11,69	11,36	0,18	0,02	1,60
18:2 <i>n</i> 6 ( <i>c</i> 9- <i>t</i> 12)	100	10,21	11,18	10,91	0,18	0,02	1,63
18:2 <i>n</i> 6 ( <i>t</i> 9- <i>c</i> 12)	100	0,08	0,16	0,10	0,01	0,001	14,20
18:2 <i>n</i> 6 ( <i>c</i> 9- <i>c</i> 12)	100	0,06	0,12	0,11	0,01	0,001	9,51
18:2 <i>n</i> 7 ( <i>c</i> 9- <i>t</i> 11)	100	0,17	0,31	0,24	0,03	0,003	14,14
Σ 18:3	100	0,85	1,02	0,94	0,04	0,003	3,78
18:3 <i>n</i> 6	100	0,15	0,23	0,20	0,01	0,001	7,20
18:3 <i>n</i> 3	100	0,66	0,81	0,74	0,03	0,003	3,77
20:1 <i>n</i> 9	100	0,53	0,66	0,60	0,03	0,003	4,70
20:2 <i>n</i> 6	100	0,33	0,47	0,42	0,03	0,003	6,82
20:3 <i>n</i> 6	100	0	0,30	0,11	0,03	0,003	27,50
20:3 <i>n</i> 3	100	0	0,09	0,07	0,01	0,001	16,05
20:5 <i>n</i> 3	100	0	0,13	0,07	0,01	0,002	25,09
22:1 <i>n</i> 9	100	0,24	0,49	0,33	0,03	0,003	10,12
22:5 <i>n</i> 3	100	0,11	0,30	0,19	0,03	0,003	17,56
22:6 <i>n</i> 3	100	0	0,05	0,02	0,01	0,001	66,13
24:1 <i>n</i> 9	100	0,06	0,15	0,11	0,02	0,002	16,16

AGCC	100	0,04	0,19	0,06	0,02	0,002	39,48
AGCM	100	25,55	29,30	26,56	0,73	0,07	2,73
AGCL	100	65,17	69,30	68,30	0,71	0,07	1,04
AGCML	100	0,50	0,90	0,64	0,07	0,01	10,55
AGS	100	37,87	42,51	39,60	0,77	0,08	1,94
AGI	100	53,28	57,45	55,97	0,73	0,07	1,30
AGMI	100	40,76	43,87	42,79	0,55	0,05	1,28
AGPI	100	12,52	13,61	13,17	0,21	0,02	1,60
Total <i>n6</i>	100	11,14	12,16	11,84	0,19	0,02	1,59
Total <i>n3</i>	100	0,91	1,30	1,09	0,07	0,01	6,06
<i>n6/n3</i>	100	8,57	12,87	10,88	0,68	0,07	6,21
Dureza	100	120,10	198,70	160,76	15,68	1,57	9,75
Coabilidade	100	0,69	0,78	0,75	0,02	0,002	2,37
Elasticidade	100	0,94	1,43	1,13	0,09	0,01	7,65
Mastigabilidade	100	96,60	189,20	136,02	14,35	1,43	10,55
2-propanol	60	0	37,04	6,06	6,72	0,87	0,00
Pentanal	60	0	26,54	4,19	6,24	0,81	0,00
2,3-pentanodiona	60	0	15,78	1,24	2,39	0,31	0,00
Hexanal	60	0	66,48	27,15	18,13	2,34	0,00
2-heptanona	60	0	15,34	2,33	4,35	0,56	0,00
2-pentilfuran	60	0	5,47	1,61	1,67	0,22	0,00
Pentanol	60	0	28,29	5,88	6,52	0,84	0,00
3-hidroxi-2-butanona	60	0	255,21	15,40	38,20	4,93	0,00
6-metil-5-hepten-2-ona	60	0	9,27	4,19	2,46	0,32	0,00
1-hexanol	60	0	19,14	11,78	3,68	0,48	0,00
Nonanal	60	0	75,68	17,36	21,28	2,75	0,00
2-butoxietanol	60	16,47	211,16	120,53	58,70	7,58	0,00
1-octen-3-ol	60	0	47,37	8,58	8,54	1,10	0,00
2-octenol	60	0	3,08	0,34	0,60	0,08	0,00
2-etil-1-hexanol	60	3,84	22,63	6,80	2,96	0,38	0,00
decanal	60	0	17,20	2,30	3,18	0,41	0,00
1-octanol	60	0	13,42	6,92	3,16	0,41	0,00
Ácido octanóico	60	0	5,11	0,49	1,08	0,14	0,00
Ácido nonanóico	60	0	5,11	0,78	1,41	0,18	0,00
Aparência (sensorial)	135	1	9	7,00	1,74	0,07	24,78
Cor (sensorial)	135	1	9	6,95	1,72	0,07	24,70
Odor (sensorial)	135	1	9	6,49	1,83	0,07	28,12
Textura (sensorial)	135	1	9	6,89	1,79	0,07	25,92
Sabor (sensorial)	135	1	9	6,73	1,94	0,07	28,81

n: número de amostras; MIN: mínimo; MAX: máximo; DP: desvio padrão; EP: erro padrão; CV: coeficiente de variação; umidade: %; cinzas: %; proteínas: %; carboidratos: %; pH (escala): potencial hidrogeniônico; Sinerese: %; *L\** (escala): luminosidade; *a\** (escala): vermelhidão; *b\** (escala): palidez/amarelidade; *c\** (escala): saturação/chroma; *h\** (escala): tonalidade; *a\*/b\** (adimensional): relação *a\*:b\**; IP (meq peróxidos/kg gordura): índice de peróxidos ; TBARS (mg MAD/kg salsicha): substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; AGS (%): ácidos graxos saturados; AGI (%): ácidos graxos insaturados; AGMI (%): ácidos graxos monoinsaturados; AGPI (%): ácidos graxos poli-insaturados; *n6* (%): ácidos graxos *n6*; *n3* (%): ácidos graxos *n3*; *n6/n3* (adimensional): relação *n6:n3*; dureza: N; coabilidade: adimensional; elasticidade: cm; mastigabilidade: (N•cm); compostos voláteis: área do pico cromatográfico x10<sup>5</sup>.

## Apêndice D

## Valores probabilísticos para contrastes ortogonais.

Variáveis	P valor			Contraste ortogonal (AO)				Contraste ortogonal polinomial (VP)		Contraste ortogonal polinomial (AOxVP)			
	AO	VP	AOxVP	CON	ES	ERC	ERVT	L	Q	(CONxAO)	(ESxAON)	(ERCxERV)	(ERVTxERVB)
				x	x	x	x			x	x	x	x
				AO	AON	ERV	ERVB			(dia1 x dia60)	(dia1 x dia60)	(dia1 x dia60)	(dia1 x dia60)
Umidade	0,4627	0,0001	0,0143	0,9638	0,6323	0,1062	0,4262	0,0001	0,0004	0,0515	0,3537	0,7457	0,2379
Cinzas	0,0722	0,0001	0,4260	0,8930	0,0809	0,3606	0,0241	0,0001	0,2203	0,4275	0,9194	0,0846	0,6364
Proteínas	0,7602	0,0001	0,0684	0,2464	0,7875	0,5703	0,9144	0,0001	0,2094	0,2327	0,2320	0,7471	0,8407
Gorduras	0,0112	0,0001	0,0001	0,1045	0,0061	0,4753	0,0971	0,0001	0,0001	0,8069	0,9186	0,0646	0,1704
Carboidratos	0,1003	0,0001	0,0078	0,1161	0,1062	0,1009	0,4444	0,0001	0,0001	0,1620	0,9069	0,5875	0,0135
pH	0,0001	0,0001	0,0001	0,7622	0,0398	0,0279	0,0001	0,0005	0,0001	0,0420	0,0001	0,3330	0,0002
Sinerese	0,0822	0,0038	0,1604	0,0231	0,6979	0,7652	0,0804	0,0037	0,1265	0,5916	0,4704	0,4691	0,5186
Índice peróxidos	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0093	0,0001	0,0001	0,0774	0,0064	0,0005	0,2222
TBARS	0,0001	0,0001	0,0001	0,0498	0,0005	0,0009	0,1011	0,0001	0,5043	0,0045	0,0248	0,0004	0,8218
L*	0,0001	0,0001	0,0511	0,3258	0,1768	0,0001	0,3457	0,0208	0,0117	0,1669	0,0217	0,0581	0,1154
a*	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0151	0,0004	0,0001	0,0001	0,0001	0,0004	0,0234	0,0018
b*	0,0001	0,0001	0,0001	0,8057	0,0001	0,0275	0,0802	0,0001	0,0066	0,0196	0,0001	0,6408	0,0976
c*	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0070	0,0002	0,0001	0,0001	0,0001	0,0132	0,0359	0,0076
h*	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0976	0,0053	0,6886	0,0121	0,0001	0,0001	0,0281	0,0002
a*/b*	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0862	0,0037	0,1441	0,0126	0,0001	0,0001	0,0141	0,0001
Dureza	0,3801	0,0004	0,0059	0,4463	0,5671	0,1842	0,2195	0,0196	0,0001	0,0099	0,4420	0,1656	0,0294
Coesividade	0,5779	0,0001	0,0661	0,9323	0,2952	0,3836	0,3299	0,0001	0,0153	0,7074	0,2321	0,2367	0,5537
Elasticidade	0,3058	0,0001	0,0265	0,6572	0,6883	0,1790	0,1042	0,0001	0,0001	0,0722	0,4647	0,6329	0,8540
Mastigabilidade	0,4359	0,0312	0,0511	0,6254	0,2882	0,6239	0,1492	0,0129	0,9460	0,4760	0,6891	0,2674	0,0341
AGS	0,1393	0,0001	0,2353	0,3202	0,0785	0,0811	0,9116	0,0001	0,5631	0,5038	0,7691	0,7784	0,6153
AGI	0,1393	0,0001	0,5387	0,3761	0,0783	0,0752	0,7802	0,0001	0,0624	0,7697	0,6452	0,4297	0,9655
AGMI	0,1133	0,0001	0,3775	0,5791	0,0687	0,0547	0,5311	0,0001	0,2158	0,8379	0,5887	0,2672	1,0000
AGPI	0,1004	0,0001	0,6757	0,0770	0,1091	0,1684	0,4719	0,0001	0,0561	0,5632	0,7488	0,8405	0,8616

## (continuação) Valores probabilísticos para contrastes ortogonais

Variáveis	P valor			Contraste ortogonal (AO)				Contraste ortogonal polinomial (VP)		Contraste ortogonal polinomial (AOxVP)			
	AO	VP	AOxVP	CON	ES	ERC	ERVT	L	Q	(CONxAO)	(ESxAON)	(ERCxERV)	(ERVTxERVB)
				x	x	x	x			x	x	x	x
				AO	AON	ERV	ERVB			(dia1 x dia60)	(dia1 x dia60)	(dia1 x dia60)	(dia1 x dia60)
<i>n6</i>	0,1743	0,0009	0,8290	0,1432	0,0942	0,2215	0,8111	0,0042	0,0049	0,9191	0,8768	0,7938	0,8954
<i>n3</i>	0,1679	0,0001	0,3061	0,0789	0,7534	0,4328	0,1009	0,0001	0,0001	0,3652	0,7336	0,5215	0,3101
<i>n6n3</i>	0,1119	0,0001	0,7072	0,1178	0,3201	0,6746	0,0411	0,0001	0,0001	0,3625	0,7826	0,4209	0,3295
<i>n3n6</i>	0,1407	0,0001	0,6822	0,1247	0,2701	0,6221	0,0668	0,0001	0,0001	0,3386	0,7377	0,4182	0,2609
AGCC	0,8544	0,0001	0,1596	0,4883	0,9139	0,4484	0,6598	0,0001	0,6907	0,5539	0,6461	0,5170	0,7075
AGCM	0,4988	0,0001	0,8822	0,7740	0,4727	0,1643	0,3917	0,0001	0,0001	0,6721	0,9586	0,7820	0,2130
AGCL	0,3351	0,0001	0,6497	0,9104	0,3966	0,1457	0,1943	0,0001	0,0157	0,4473	0,8005	0,0313	0,9323
AGCML	0,6645	0,0001	0,2112	0,1975	1,0000	0,5503	0,6045	0,0001	0,0001	0,2512	0,1258	0,1328	0,3524
C10:0	0,8544	0,0001	0,1596	0,4883	0,9139	0,4484	0,6598	0,0001	0,6907	0,5539	0,6461	0,5170	0,7075
C12:0	0,7977	0,0001	0,4759	0,8855	0,8112	0,5010	0,3032	0,0147	0,9398	0,6384	0,0759	1,0000	0,4587
C14:0	0,9518	0,0001	0,8240	0,4338	0,8684	0,9466	0,9384	0,0001	0,0001	0,9215	0,3131	0,7192	0,3534
C14:1 <i>n5</i>	0,5133	0,0001	0,4802	0,2817	0,6389	0,3475	0,3294	0,0001	0,0001	0,8118	0,2621	0,4696	0,8018
C15:0	0,7347	0,0348	0,9619	0,8679	0,6642	0,2884	0,4659	0,0421	0,0593	0,4716	0,7551	0,5826	0,3458
C16:0	0,4052	0,0001	0,7582	0,7498	0,3655	0,1297	0,3978	0,0001	0,0001	0,5908	0,6508	0,8143	0,2545
C16:1 <i>n7</i>	0,5885	0,0001	0,0256	0,6599	0,2940	0,4997	0,3235	0,0256	0,0001	0,9235	0,0923	0,7261	0,2316
C17	0,6165	0,0001	0,3198	0,5111	0,8913	0,4650	0,2135	0,0178	0,1796	0,6498	0,5585	0,3051	0,7194
C17:1 <i>n7</i>	0,8782	0,0010	0,4352	0,6976	0,4257	0,8590	0,5812	0,0014	0,3162	0,6673	0,1797	0,6686	0,1453
C18:0	0,2162	0,0001	0,3456	0,2742	0,0879	0,4133	0,2954	0,0029	0,0005	0,4907	0,8244	0,8423	0,9828
Σ C18:1	0,0334	0,0001	0,9242	0,5272	0,0376	0,0190	0,4069	0,0001	0,6037	0,8912	0,7345	0,1448	0,9507
C18:1 <i>n7</i>	0,0292	0,0001	0,3238	0,4475	0,0025	0,7798	0,3885	0,0001	0,0003	0,1231	0,3639	0,3484	0,1515
C18:1 <i>n9</i>	0,0459	0,0001	0,9192	0,5502	0,0532	0,0208	0,4302	0,0001	0,4293	0,9914	0,6835	0,1296	0,8597
Σ C18:2	0,1829	0,0001	0,8944	0,2209	0,0504	0,3343	0,9551	0,0058	0,0002	0,7748	0,9226	0,7004	0,9241
C18:2 <i>n6</i> (c9-t12)	0,2386	0,0026	0,9400	0,2165	0,0772	0,3582	0,8568	0,2095	0,0025	0,9301	0,9900	0,8032	0,9263

## (continuação) Valores probabilísticos para contrastes ortogonais

Variáveis	P valor			Contraste ortogonal (AO)				Contraste ortogonal polinomial (VP)		Contraste ortogonal polinomial (AOxVP)			
	AO	VP	AOxVP	CON	ES	ERC	ERVT	L	Q	(CONxAO)	(ESxAON)	(ERCxERV)	(ERVTxERVB)
				x	x	x	x			x	x	x	x
				AO	AON	ERV	ERVB			(dia1 x dia60)	(dia1 x dia60)	(dia1 x dia60)	(dia1 x dia60)
C18:2n6 (t9-c12)	0,1446	0,0378	0,5324	0,8778	0,8426	0,0525	0,0796	0,8332	0,9312	0,6063	0,5065	0,3494	0,2811
C18:2n6 (c9-c12)	0,3877	0,0005	0,0167	0,4141	0,9595	0,0875	0,5367	0,0005	0,0192	0,9212	0,7018	0,5884	0,7545
C18:2n7 (c9-t11)	0,7431	0,0001	0,5383	0,1972	0,9329	0,9052	0,7316	0,0001	0,0001	0,0897	0,5080	0,1195	0,4186
Σ C18:3	0,7862	0,0001	0,7130	0,4749	0,7326	0,3224	0,8575	0,0001	0,4798	0,6851	0,9403	0,8324	0,0706
C18:3n6	0,4323	0,0001	0,2155	0,8053	0,2502	0,2102	0,3673	0,0001	0,4531	0,3480	0,5114	0,1927	0,1766
C18:3n3	0,5653	0,0001	0,2409	0,3795	0,2076	0,5449	0,7257	0,0001	0,6326	0,4004	0,7159	0,7315	0,0151
C20:1n9	0,1893	0,0001	0,1864	0,7198	0,1011	0,0784	0,6270	0,0001	0,0312	0,6854	0,6012	0,6048	0,8980
C20:2n6	0,0633	0,0001	0,0818	0,7328	0,3351	0,0066	0,5181	0,0001	0,1485	0,5706	0,0809	0,4908	0,2381
C20:3n6	0,6313	0,0246	0,2413	0,3977	0,5396	0,8741	0,2426	0,6700	0,0388	0,9170	0,6872	0,7041	0,6613
C20:3n3	0,5164	0,0550	0,0125	0,2314	0,6856	0,2915	0,4800	0,0225	0,0102	0,2766	0,7762	0,4837	0,6023
C20:5n3	0,0172	0,0039	0,1440	0,0967	0,0138	0,4223	0,0687	0,0571	0,0023	0,5106	0,2384	0,8096	0,8893
C22:1n9	0,8543	0,0001	0,2423	0,4683	0,5136	0,8719	0,5774	0,0001	0,0005	0,1996	0,0383	0,3124	0,3804
C22:5n3	0,5019	0,0016	0,6552	0,3836	0,8002	0,9108	0,1275	0,8057	0,0002	0,9791	0,7101	0,3652	0,9340
C22:6n3	0,8783	0,0001	0,3507	0,3850	0,9311	0,6249	0,6720	0,0001	0,0001	0,9156	0,6818	0,5622	0,7377
C24:1n9	0,0107	0,0393	0,6004	0,0425	0,0187	0,1333	0,0440	0,0147	0,6777	0,4382	0,3775	0,8023	0,3136
2-propanol	0,5816	0,2472	0,4605	0,9614	0,2942	0,5241	0,8934	0,1951	0,1597	0,4979	0,2066	0,4659	0,7706
Pentanal	0,5413	0,1273	0,5998	0,7254	0,3120	0,6745	0,3979	0,0853	0,2537	0,3891	0,4568	0,9436	0,3977
2,3-pentanodiona	0,6603	0,4596	0,6743	0,9077	0,5359	0,3693	0,6986	0,9992	0,3081	0,9501	0,5808	0,9205	0,4114
Hexanal	0,2589	0,0001	0,1143	0,2386	0,1363	0,8800	0,2091	0,0001	0,6978	0,0292	0,8896	0,5413	0,6917
2-heptanona	0,6431	0,8098	0,6412	0,4847	0,8013	0,6153	0,3909	0,9052	0,6075	0,4812	0,9426	0,2612	0,5153
2-pentilfuran	0,9871	0,6614	0,6309	0,9717	0,7708	0,8613	0,8973	0,9344	0,4614	0,7196	0,3113	0,6843	0,4142
Pentanol	0,4178	0,3254	0,5564	0,4315	0,2214	0,9606	0,3887	0,2127	0,3682	0,2644	0,3381	0,6640	0,5713
3-hidroxi-2-butanona	0,2793	0,0001	0,2272	0,6819	0,2443	0,2222	0,1457	0,0001	0,0212	0,6652	0,1859	0,1012	0,0813

## (continuação) Valores probabilísticos para contrastes ortogonais

Variáveis	P valor			Contraste ortogonal (AO)				Contraste ortogonal polinomial (VP)		Contraste ortogonal polinomial (AOxVP)			
	AO	VP	AOxVP	CON	ES	ERC	ERVT	L	Q	(CONxAO)	(ESxAON)	(ERCxERV)	(ERVTxERVB)
				x	x	x	x			x	x	x	x
				AO	AON	ERV	ERVB			(dia1 x dia60)	(dia1 x dia60)	(dia1 x dia60)	(dia1 x dia60)
6-metil-5-hepten-2-one	0,4171	0,5908	0,4936	0,4040	0,5019	0,5699	0,2193	0,4515	0,6062	0,2787	0,8345	0,3099	0,2340
1-hexanol	0,4198	0,5061	0,7211	0,4538	0,3954	0,2323	0,5129	0,3826	0,5400	0,4560	0,6587	0,4490	0,6866
Nonanal	0,3856	0,3013	0,6154	0,2832	0,2917	0,4782	0,3023	0,2023	0,5411	0,6355	0,2949	0,4100	0,6620
2-butoxietanol	0,3788	0,0001	0,0843	0,1193	0,9405	0,3365	0,4144	0,0001	0,0001	0,3141	0,7384	0,2944	0,4296
1-octen-3-ol	0,6498	0,2644	0,6746	0,3243	0,7553	0,9160	0,7344	0,3842	0,1849	0,2871	0,8941	0,5776	0,6560
2-etil-1-hexanol	0,6404	0,7261	0,6034	0,3736	0,5295	0,8713	0,5784	0,8325	0,5307	0,2749	0,9084	0,8877	0,4534
Decanal	0,7755	0,6296	0,6602	0,5910	0,7104	0,4789	0,9840	0,4844	0,6340	0,3071	0,6184	0,6890	0,7613
1-octanol	0,6025	0,2433	0,2859	0,5820	0,2253	0,5621	0,4530	0,4112	0,1468	0,1331	0,2076	0,0700	0,7537
2-octenol	0,4557	0,3399	0,5208	0,2283	0,8611	0,8168	0,4010	0,6114	0,2276	0,4031	0,3717	0,3930	0,4703
Ácido octanóico	0,4378	0,2758	0,6235	0,3177	0,6544	0,2711	0,4416	0,5037	0,2026	0,7714	0,5977	0,5352	0,4542
Ácido nonanóico	0,7533	0,2585	0,6161	0,6700	0,7751	0,5743	0,4862	0,1878	0,3270	0,4436	0,7956	0,4210	0,4248
Aparência sensorial	0,2031	0,2145	0,4444	0,8698	0,9304	0,0159	0,8009	0,4196	0,1510	0,9196	0,4892	0,3629	0,3387
Cor sensorial	0,6944	0,9716	0,0789	0,9475	0,7498	0,1461	0,9639	0,8318	0,9111	0,3446	0,5611	0,2536	0,6802
Odor sensorial	0,0013	0,5536	0,3967	0,9879	0,4726	0,0001	0,5692	0,5441	0,3669	0,9918	0,7610	0,0504	0,9903
Textura sensorial	0,3158	0,5878	0,6329	0,9139	0,0527	0,3608	0,7269	0,8796	0,3084	0,7625	0,8701	0,6862	0,2353
Sabor sensorial	0,0001	0,0310	0,0158	0,4904	0,0092	0,0001	0,2645	0,9829	0,0084	0,4061	0,2620	0,8926	0,7453

AO: antioxidantes (tratamentos); VP: vida de prateleira; CON: controle (sem antioxidante); ES: eritorbato de sódio; ERC: extrato de resíduo de cervejaria; ERV: extratos de resíduos de vinificação; ERVT: extrato de resíduo de vinificação de uva tinta; ERVB: extrato de resíduo de vinificação de uva branca; AON: antioxidantes naturais; pH: potencial hidrogeniônico;  $L^*$ : luminosidade;  $a^*$ : vermelhidão;  $b^*$ : palidez/amarelidez;  $c^*$ : saturação/chroma;  $h^*$ : tonalidade;  $a^*/b^*$ : relação  $a^*:b^*$ ; TBARS: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; AGS: ácidos graxos saturados; AGI: ácidos graxos insaturados; AGMI: ácidos graxos monoinsaturados; AGPI: ácidos graxos poli-insaturados;  $n6$ : ácidos graxos  $n6$ ;  $n3$ : ácidos graxos  $n3$ ;  $n6/n3$ : relação  $n6:n3$ ; AGCC: ácidos graxos de cadeia curta (C10); AGCM: ácidos graxos de cadeia média (C12 – C17); AGCL: ácidos graxos de cadeia longa (C18 – C20); AGCML: ácidos graxos de cadeia muito longa (C22-C24).





(continuação) Coeficientes de correlação entre as variáveis avaliadas.

Variáveis	Variáveis <sup>1</sup>															
	AGI	AGMI	AGPI	n6	n3	n6/n3	n3/n6	DUR	COE	ELAS	MAST	ALCO	CETO	ALDE	OUT	
UMID	-0.46***	-0.47***	-0.35***	-0.11 <sup>ns</sup>	-0.56***	0.54***	-0.54***	-0.07 <sup>ns</sup>	0.30**	0.22*	0.12 <sup>ns</sup>	0.62***	0.60***	0.47***	0.39**	
CIN	0.44***	0.45***	0.34***	0.13 <sup>ns</sup>	0.50***	-0.47***	0.47***	0.13 <sup>ns</sup>	-0.24*	-0.24*	-0.06 <sup>ns</sup>	0.73***	0.56***	0.50***	0.33*	
PROT	0.17 <sup>ns</sup>	0.17 <sup>ns</sup>	0.15 <sup>ns</sup>	-0.01 <sup>ns</sup>	0.41***	-0.41***	0.41***	0.01 <sup>ns</sup>	-0.05 <sup>ns</sup>	-0.20*	-0.12 <sup>ns</sup>	0.28*	0.24 <sup>ns</sup>	0.22 <sup>ns</sup>	0.18 <sup>ns</sup>	
GORD	-0.28**	-0.24*	-0.27**	-0.02 <sup>ns</sup>	-0.44***	0.46***	-0.46***	0.11 <sup>ns</sup>	0.28**	-0.10 <sup>ns</sup>	0.11 <sup>ns</sup>	0.55***	0.67***	0.47***	0.35**	
CH	0.42***	0.41***	0.33***	0.10 <sup>ns</sup>	0.50***	-0.49***	0.49***	0.01 <sup>ns</sup>	-0.36***	-0.09 <sup>ns</sup>	-0.13 <sup>ns</sup>	0.51***	0.64***	0.38**	0.42***	
pH	-0.04 <sup>ns</sup>	-0.06 <sup>ns</sup>	0.01 <sup>ns</sup>	0.20 <sup>ns</sup>	-0.35***	0.40***	-0.40***	0.25*	0.12 <sup>ns</sup>	-0.22*	0.10 <sup>ns</sup>	0.34**	0.64***	0.26*	0.42***	
SIN	-0.17 <sup>ns</sup>	-0.18 <sup>ns</sup>	-0.09 <sup>ns</sup>	-0.07 <sup>ns</sup>	-0.03 <sup>ns</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	-0.02 <sup>ns</sup>	-0.15 <sup>ns</sup>	0.14 <sup>ns</sup>	0.16 <sup>ns</sup>	-0.04 <sup>ns</sup>	0.19 <sup>ns</sup>	0.18 <sup>ns</sup>	0.21 <sup>ns</sup>	0.13 <sup>ns</sup>	
L*	0.19 <sup>ns</sup>	0.15 <sup>ns</sup>	0.25**	0.20*	0.04 <sup>ns</sup>	-0.03 <sup>ns</sup>	0.03 <sup>ns</sup>	-0.12 <sup>ns</sup>	-0.21*	0.10 <sup>ns</sup>	-0.13 <sup>ns</sup>	0.41**	0.31*	0.35**	0.07 <sup>ns</sup>	
a*	-0.27**	-0.32**	-0.14 <sup>ns</sup>	-0.10 <sup>ns</sup>	-0.04 <sup>ns</sup>	0.04 <sup>ns</sup>	-0.04 <sup>ns</sup>	-0.10 <sup>ns</sup>	0.06 <sup>ns</sup>	0.22*	0.01 <sup>ns</sup>	0.29*	0.49***	0.19 <sup>ns</sup>	0.15 <sup>ns</sup>	
b*	-0.51***	-0.47***	-0.47***	-0.28**	-0.39***	0.37***	-0.37***	-0.03 <sup>ns</sup>	0.43***	0.12 <sup>ns</sup>	0.14 <sup>ns</sup>	0.79***	0.46***	0.54***	0.29*	
a*/b*	-0.03 <sup>ns</sup>	-0.10 <sup>ns</sup>	0.09 <sup>ns</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	0.23*	-0.23*	0.23*	-0.13 <sup>ns</sup>	-0.17 <sup>ns</sup>	0.24*	-0.06 <sup>ns</sup>	0.18 <sup>ns</sup>	0.23 <sup>ns</sup>	0.08 <sup>ns</sup>	0.09 <sup>ns</sup>	
c*	-0.31**	-0.36***	-0.19 <sup>ns</sup>	-0.12 <sup>ns</sup>	-0.10 <sup>ns</sup>	0.09 <sup>ns</sup>	-0.09 <sup>ns</sup>	-0.07 <sup>ns</sup>	0.11 <sup>ns</sup>	0.19 <sup>ns</sup>	0.04 <sup>ns</sup>	0.36**	0.50***	0.24 <sup>ns</sup>	0.16 <sup>ns</sup>	
h*	0.03 <sup>ns</sup>	0.10 <sup>ns</sup>	-0.09 <sup>ns</sup>	-0.02 <sup>ns</sup>	-0.23*	0.23*	-0.23*	0.13 <sup>ns</sup>	0.17 <sup>ns</sup>	-0.24*	0.06 <sup>ns</sup>	0.18 <sup>ns</sup>	0.23 <sup>ns</sup>	0.08 <sup>ns</sup>	0.09 <sup>ns</sup>	
IP	0.36***	0.42***	0.13 <sup>ns</sup>	-0.03 <sup>ns</sup>	0.35***	-0.36***	0.36***	0.03 <sup>ns</sup>	-0.29**	-0.18 <sup>ns</sup>	-0.09 <sup>ns</sup>	0.41**	0.71***	0.31*	0.34**	
TBARS	-0.60***	-0.57***	-0.52***	-0.32**	-0.38***	0.34***	-0.34***	-0.21*	0.49***	0.26**	0.09 <sup>ns</sup>	0.78***	0.46***	0.64***	0.28*	
AGS	-0.96***	-0.93***	-0.83***	-0.69***	-0.47***	0.36***	-0.36***	-0.18 <sup>ns</sup>	0.39***	0.29**	0.16 <sup>ns</sup>	0.73***	0.52***	0.58***	0.31*	
AGI		0.96***	0.86***	0.76***	0.39***	-0.26**	0.26**	0.18 <sup>ns</sup>	-0.31**	-0.31**	-0.16 <sup>ns</sup>	0.66***	0.41**	0.52***	0.26*	
AGMI			0.72***	0.64***	0.32**	-0.21*	0.21*	0.15 <sup>ns</sup>	-0.32**	-0.35***	-0.20*	0.63***	0.4**	0.52***	0.30*	
AGPI				0.90***	0.45***	-0.30**	0.30**	0.14 <sup>ns</sup>	-0.22*	-0.20*	-0.13 <sup>ns</sup>	0.58***	0.31*	0.38**	0.10 <sup>ns</sup>	
n6					0.14 <sup>ns</sup>	0.03 <sup>ns</sup>	-0.03 <sup>ns</sup>	0.20*	-0.12 <sup>ns</sup>	-0.20*	-0.06 <sup>ns</sup>	0.36**	0.04 <sup>ns</sup>	0.18 <sup>ns</sup>	0.08 <sup>ns</sup>	
n3						-0.98***	0.98***	-0.04 <sup>ns</sup>	-0.17 <sup>ns</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	-0.05 <sup>ns</sup>	0.54***	0.57***	0.32*	0.35**	
n6/n3								-1.00***	0.10 <sup>ns</sup>	0.16 <sup>ns</sup>	-0.0 <sup>ns</sup>	0.48***	0.58***	0.30*	0.35**	
n3/n6									-0.10 <sup>ns</sup>	-0.16 <sup>ns</sup>	0.08 <sup>ns</sup>	-0.03 <sup>ns</sup>	0.48***	0.58***	0.30*	
DUR										-0.29**	-0.17 <sup>ns</sup>	0.71***	0.14 <sup>ns</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	0.01 <sup>ns</sup>	
COE											0.01 <sup>ns</sup>	-0.01 <sup>ns</sup>	0.60***	0.48***	0.20 <sup>ns</sup>	
ELAS												0.44***	0.15 <sup>ns</sup>	0.21 <sup>ns</sup>	0.22 <sup>ns</sup>	
MAST													0.14 <sup>ns</sup>	0.22 <sup>ns</sup>	0.09 <sup>ns</sup>	
ÁLCO														0.52***	-0.64***	
CETO															0.48***	
ALDE																
OUT																

UMID (%): umidade; CIN (%): cinzas; PROT (%): proteínas; GORD (%): gorduras; CH (%): carboidratos; pH (escala): potencial hidrogeniônico; SIN (%): sinerese; L\* (escala): luminosidade; a\* (escala): vermelhidão; b\* (escala): palidez/amarelidez; c\* (escala): saturação/chroma; h\* (escala): tonalidade; a\*/b\* (adimensional) : relação a\*:b\*; IP (meq peróxidos/Kg gordura): índice de peróxidos ; TBARS (mg MAD/kg salsicha): substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; AGS (%): ácidos graxos saturados; AGI (%): ácidos graxos insaturados; AGMI (%): ácidos graxos monoinsaturados; AGPI (%): ácidos graxos poli-insaturados; n6 (%): ácidos graxos n6; n3 (%): ácidos graxos n3, n6/n3 e n3/n6 (adimensional) : relação n6:n3 e n3:n6; DUR (N) : dureza; COE (adimensional): coesividade; ELAS (cm): elasticidade; MAST (N\*cm): mastigabilidade; ALCO (área pico cromatográfico): alcoóis voláteis; CETO (área pico cromatográfico): cetonas voláteis; ALDE (área pico cromatográfico): aldeídos voláteis; OUT (área pico cromatográfico): outros voláteis.

<sup>ns</sup> Não significativo (P>0,05); \* Significativo (P<0,05); \*\* Significativo (P<0,01); \*\*\* Significativo (P<0,001).