

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS

Gilberto Rogério Zago

**Estabilidade oxidativa de linguiça tipo Toscana com extrato liofilizado de
casca de romã (*Punica granatum* L.)**

Passo Fundo

2018

Gilberto Rogério Zago
Bacharel em Engenharia Agrícola

**Estabilidade oxidativa de linguiça tipo Toscana com extrato liofilizado de
casca de romã (*Punica granatum* L.)**

Dissertação de Mestrado apresentada para
obtenção do título de Mestre em Ciência e
Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Luciana Ruschel dos Santos

Coorientadora: Charise Dallazem Bertol

Linha de pesquisa: Qualidade e propriedades
funcionais dos alimentos.

Passo Fundo

2018

Gilberto Rogério Zago
Bacharel em Engenharia Agrícola

Estabilidade oxidativa de linguiça tipo Toscana com extrato liofilizado de casca de romã (*Punica granatum* L.)

Dissertação de Mestrado apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.
Orientadora: Luciana Ruschel dos Santos
Coorientadora: Charise Dallazem Bertol
Linha de pesquisa: Qualidade e propriedades funcionais dos alimentos.

Passo Fundo, 27 de março de 2018.

Banca Examinadora

Prof. Dra. Luciana Ruschel dos Santos – Orientadora
Universidade de Passo Fundo – UPF

Prof. Dra. Charise Dallazem Bertol
Universidade de Passo Fundo – UPF

Prof. Dr. Elci Lotar Dickel
Universidade de Passo Fundo – UPF

Prof. Dr. Odivan Zanella
Instituto Federal do Rio Grande do Sul – IFRS

Dedico este trabalho a minha esposa Lisandra e ao meu filho Vitor pelo carinho, apoio e compreensão durante minha ausência familiar, quando precisei.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e a Nossa Senhora da Salete, por me dar força e saúde, guiando-me no cumprimento de mais esta etapa de minha vida.

À minha esposa Lisandra Palinski Zago, pelo grande incentivo que possibilitou atingir os objetivos pessoais.

Ao meu filho Vitor Palinski Zago, pela paciência e entendimento, principalmente nos momentos em que precisei me ausentar para o cumprimento das minhas obrigações do mestrado.

Ao Instituto Federal do Rio Grande do Sul, campus de Sertão, pelo imenso apoio através do incentivo à qualificação profissional concomitante ao meu cargo, que tive durante o período acadêmico e cedência dos ambientes laboratoriais e equipamentos para o desenvolvimento da pesquisa.

Às professoras Dr^a Luciana Ruschel dos Santos e Dr^a Laura Beatriz Rodrigues pela orientação e comentários pertinentes.

Ao Prof. Dr. Elci Lotar Dickel, pelos ensinamentos e orientações decisivas que nortearam a pesquisa, incentivador de longa data.

À Professora Dr^a. Charise Dallazem Bertol pela coorientação e nas correções e apontamentos durante a pesquisa.

À minha colega de trabalho, Denise Bilibio pela coordenação e apoio nas análises laboratoriais.

À Professora MSc. Luciane Daroit pelas sugestões e auxílio estatístico.

Às minhas colegas de trabalho Vanessa de Oliveira e Cristiane Della Vechia, pelo apoio e orientação durante a execução das análises laboratoriais.

Aos colegas de mestrado pelo companheirismo durante o período acadêmico.

À Banca examinadora pelas correções e sugestões apresentadas durante a pesquisa.

Enfim, a todas as pessoas que de uma ou de outra forma se dispuseram para me ajudar.

RESUMO

Os ingredientes naturais e com propriedades funcionais ganham a preferência dos consumidores e pesquisadores, servindo de alternativa aos aditivos convencionais. Os antioxidantes naturais destacam-se como opção promissora em substituição aos sintéticos, podendo apresentar equivalência ou melhores características para o controle de alterações em produtos cárneos, como a oxidação lipídica, considerada uma das principais causas de redução da vida útil e rejeição de consumo destes alimentos. As linguiças estão entre os produtos cárneos industrializados mais consumidos, pela facilidade de preparo e consumo. É um embutido de grande rentabilidade, que agrega valor a matéria-prima para as indústrias de processamento de carnes. As frutas destacam-se com as maiores concentrações de compostos antioxidantes, distribuídos na polpa, semente e casca. Tanto durante o consumo *in natura*, quanto na indústria de processamento de frutas, partes como sementes e casca são considerados rejeitos. Estudos realizados com resíduos de diversas frutíferas mostram que a romã (*Punica granatum* L.), está entre as frutas que apresentam altas concentrações de compostos fenólicos de capacidade antioxidante, sendo que a casca compõe aproximadamente 50% da fruta (incluindo a rede de membranas internas). Por estas razões, a caracterização e a valorização destes coprodutos é necessária, reduzindo custos de produção e minimizando o passível ambiental, através do reaproveitamento de seus compostos em outros alimentos, como as linguiças. O extrato liofilizado de casca de romã (ELCR) apresentou rendimento de 18,96% em relação ao total do pó bruto da casca utilizado no processo de extração e liofilização, com atividade antioxidante de 98,7% (ABTS) e 90,21% (DPPH). A partir da estratificação e caracterização dos compostos antioxidantes, foram produzidas quatro formulações de linguiça frescal tipo Toscana sendo: amostra controle com adição de eritorbato de sódio na concentração 0,025% (ES) e extrato liofilizado de casca de romã nas concentrações de 0,025% (ELCR1), 0,050% (ELCR2) e 0,1% (ELCR3). Após o embutimento, os tratamentos foram embalados a vácuo e armazenadas à 5±1°C sob iluminação artificial de 12 horas/dia, simulando uma gôndola de supermercado, e avaliadas no 1º, 15º e 30º dias. A coordenada de cor L* apresentou leve escurecimento e a* diferiu (p<0,05) entre os extratos ELCR2 e ELCR3 em relação ao ES, enquanto b* não apresentou diferença. O índice de peróxidos apresentou comportamento distinto nos tratamentos, com pouca significância (p>0,05). Os valores de TBARS mantiveram-se abaixo da faixa de detecção da rancidez oxidativa, sendo que a adição do extrato liofilizado de casca de romã foi significativa (p<0,05) quando comparado ao ES. Não houve alterações lipídicas significativas durante o período de armazenamento. Na análise sensorial, não foi identificadas diferenças (p>0,05) entre o controle e o extrato liofilizado de casca de romã, para avaliação de cor e sabor entre 7 (gostei moderadamente) e 8 (gostei muito). O extrato liofilizado de casca de romã apresentou efeito antioxidante e pode ser utilizado no retardamento da oxidação lipídica em linguiça tipo Toscana.

Palavras-chave: antioxidante, romã, linguiça, eritorbato de sódio, análise sensorial.

ABSTRACT

Natural and functional ingredients progressively gain the preference of consumers and researchers, serving as an alternative to conventional food additives. Natural antioxidants stand out as a promising alternative to the synthetic ones, and may present equivalence or better characteristics for the control of alterations in meat products, such as lipid oxidation, considered one of the main causes for the reduction of product lifetime and the rejection of consumption of these foods. Sausages are among the most consumed processed meat products, because of the ease of preparation and consumption. It is an high profitability product, which adds value to the raw material for the meat processing industries. The fruits stand out with the highest concentrations of antioxidant compounds, distributed in the pulp, seed and peel. Both during in natura consumption as in the fruit processing industry, parts such as seeds and peels are considered tailings. Studies carried out with residues of several fruits show that the pomegranate (*Punica granatum* L.) is among the fruits that present high concentrations of phenolic compounds of antioxidant capacity, and the bark comprises approximately 50% of the fruit (including the internal membrane network). For these reasons, the characterization and valorization of these co-products is necessary, reducing production costs and minimizing the environmental liability, through the reuse of their compounds in other foods, such as sausages. The freeze-dried extract of pomegranate peel (ELCR) presented yield of 18.96% in relation to the total crude peel powder used in the extraction and lyophilization process, with antioxidant activity of 98.7% (ABTS) and 90.21% (DPPH). From the stratification and characterization of antioxidant compounds, four Tuscan-style fresh sausage formulations were produced: a control sample with addition of 0.025% sodium erythorbate (ES) and lyophilized pomegranate peel extract at concentrations of 0.025% (ELCR1), 0.050% (ELCR2) and 0.1% (ELCR3). After the sausage making process, treatments were vacuum packed and stored at $5 \pm 1^{\circ}\text{C}$ under artificial lighting of 12 hours per day, simulating a supermarket shelf, and evaluated at the 1st, 15th and 30th days. The color coordinate L^* presented slight darkening and a^* differed ($p < 0.05$) between the extracts ELCR2 and ELCR3 in relation to the ES, while b^* showed no difference. The peroxide index presented a distinct behavior in the treatments, with little significance ($p > 0.05$). The values of TBARS remained below the oxidative rancidity detection range, and the addition of the freeze-dried extract of pomegranate peel was significant ($p < 0.05$) when compared to ES. There were no significant lipid changes during the storage period. The sensorial analysis did not identified differences ($p > 0.05$) between the formulations with sodium erythorbate and lyophilized pomegranate peel extract, with color and flavor evaluation between 7 (I moderately liked it) and 8 (I liked it a lot). The freeze-dried extract of pomegranate peel had antioxidant effect and can be used in delaying lipid oxidation in Tuscan-style sausages.

Keywords: antioxidant, pomegranate, sausage, sodium erythorbate, sensory analysis

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Participação de produtos cárneos por categoria.....	28
Figura 2 - Consumo de embutidos no Brasil em 2010.	29
Figura 3 - Representação do diagrama de Hunter Lab conforme as variáveis de cor gráfica para análise de cor instrumental.	37
Figura 4 – Frutos da Romã (<i>Punica Granatum L.</i>)	44
Figura 5 - Efeitos causados pelo banho de ultrassom.....	48
Figura 6 - Fluxograma do processamento da linguiça tipo Toscana com extratos de casca de romã e com eritorbato de sódio utilizados.....	55
Figura 7 – Resultados de escala hedônica do teste de aceitabilidade de linguiças tipo Toscana contendo ES e ELCR3.....	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características físico-químicas de linguiças frescas tipo Toscana.....	30
Tabela 2 – Formulações de linguiças frescas do tipo Toscana com diferentes tratamentos antioxidantes.....	54
Tabela 3 - Rendimento bruto (pó) e extrato liofilizado das cascas de romã.	63
Tabela 4- Concentração de fenóis, flavonoides e atividade antioxidante (% de inibição) de cada forma do extrato de casca de romã.....	64
Tabela 5 - Concentrações de ácidos fenólicos encontrados no extrato da casca de romã determinadas por CLAE.	65
Tabela 6 - Resultados da composição centesimal das linguiças tipo Toscana formuladas com diferentes tratamentos antioxidantes.	66
Tabela 7 - Resultados do pH da linguiça tipo Toscana durante o tempo de armazenagem.	67
Tabela 8- Resultados do índice de peróxidos em mEq/kg das linguiças resfriadas nos tempos de armazenagem.	72
Tabela 9- Valores de TBARS da linguiça tipo Toscana refrigerada durante 30 dias.....	74

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Limites permitidos de antioxidantes sintéticos para produtos cárneos.	40
Quadro 2 - Ficha de avaliação do teste triangular.	61
Quadro 3 - Ficha de avaliação de teste de aceitabilidade.	62
Quadro 4 - Valores das coordenadas colorimétricas L^* , a^* e b^* para as linguiças tipo Toscana durante o armazenamento.	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ABCS	Associação Brasileira de Criadores de Suínos
ABPA	Associação Brasileira de Proteína Animal
ABIPECS	Associação Brasileira das Indústrias Processadoras e Exportadoras de Carne Suína
ABTS	2,2'-azino-bis (3-etil-benzotiazolina-6-sulfônico)
ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
a_w	Atividade de água
BHA	Butilhidroxianisol
BHT	Butilhidroxitolueno
CEAGESP	Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo
CEPA	Centro de Pesquisa em Alimentação
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
EACR	Extrato Aquoso de Casca de Romã
EDTA	Etileno Diamino Tetra Acetato
ELCR	Extrato Liofilizado de Casca de Romã
ES	Eritorbato de Sódio
GAE	Ácido Gálico Equivalente
GP	Galato de Propila
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
kcal	Quilocaloria
INS	International Number of Série
IFRS	Instituto Federal do Rio Grande do Sul
IP	Índice de peróxidos
MDA	Malonaldeido
NaCl	Cloreto de sódio
Nm	Nanômetro
pH	Potencial hidrogeniônico
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
TBA	Ácido 2-tiobarbitúrico
TBARS	Substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico

TBHQ	Terc-butilhidroquinona
TCA	Ácido Tricloro Acético
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TEAC	Capacidade Antioxidante Equivalente a Trolox
TEP	Tetraetoxipropano
UPF	Universidade de Passo Fundo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	25
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	28
2.1	PRODUÇÃO DE CARNE SUÍNA E PRODUTOS DERIVADOS.....	28
2.2	CARACTERIZAÇÃO DE EMBUTIDOS CÁRNEOS	29
2.3	LIPÍDIOS NO PROCESSAMENTO CÁRNEO	31
2.4	OXIDAÇÃO LIPÍDICA	32
2.6.1	Mecanismo da reação de oxidação lipídica	33
2.7	QUANTIFICAÇÃO DE PRODUTOS DA OXIDAÇÃO.....	34
2.7.1	Índice de Peróxidos (IP)	34
2.7.2	Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico-TBARS.....	35
2.8	COR DOS PRODUTOS CÁRNEOS	36
2.9	ANTIOXIDANTES	38
2.9.1	Antioxidantes Sintéticos.....	39
2.9.2	Antioxidantes Naturais	41
2.10	MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	42
2.10.1	Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil).....	42
2.10.2	Método ABTS (2,2'-azino-bis (3-etil-benzotiazolina-6-sulfônico)).....	43
2.11	ROMÃ	43
2.12	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO	47
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	49
3.1	PREPARO E QUANTIFICAÇÃO DOS EXTRATOS	49
3.1.1	Matéria-prima	49
3.1.2	Extração dos compostos fenólicos.....	49
3.1.3	Liofilização.....	50
3.1.4	Quantificação de fenóis totais	50
3.1.5	Determinação de flavonoides totais.....	51
3.1.6	Determinação de atividade antioxidante por DPPH.....	51
3.1.7	Determinação da atividade antioxidante por ABTS.....	52
3.1.8	Identificação de compostos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) ..	53
3.2	FORMULAÇÕES E ANÁLISES DOS EMBUTIDOS FRESCAIS	53
3.2.1	pH.....	56

3.2.2	Umidade.....	56
3.2.3	Cinzas	56
3.2.4	Lipídios.....	57
3.2.5	Proteínas	57
3.2.6	Cor objetiva	58
3.2.7	Determinação do índice de peróxidos	58
3.2.8	Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)	59
3.2.9	Análise sensorial.....	60
3.2.10	Análise estatística	62
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	63
4.1.1	Rendimento do extrato de casca de romã	63
4.1.2	Quantificação de fenóis e flavonoides totais, ABTS e DPPH	64
4.1.3	Ácidos fenólicos	65
4.1.4	Composição centesimal da linguiça tipo Toscana	66
4.1.5	pH	67
4.1.6	Cor	69
4.1.7	Índice de peróxidos.....	72
4.1.8	TBARS	74
4.1.9	Análise sensorial.....	77
5	CONCLUSÃO	79
	REFERÊNCIAS	80
	APÊNDICE A – ARTIGO CIENTÍFICO.....	98
	ANEXO I – TCLE	119

1 INTRODUÇÃO

O aumento na expectativa de vida da população está ligado a diversos fatores, como a mudança nos hábitos alimentares. Com o desafio constante em inovar, oferecendo produtos de qualidade funcional aos consumidores, diversas pesquisas apontam para a necessidade de alternativas que possam substituir produtos sintéticos, convencionalmente utilizados no processamento de alimentos.

Nos produtos cárneos, os lipídios conferem características desejáveis como sabor, suculência, valor nutricional e aroma. Devido sua riqueza em proteínas, gordura, umidade, sais minerais e outros nutrientes, as linguiças fazem parte do grupo de alimentos com maior suscetibilidade a alterações de ordem microbiológica e físico-química. Complexa e de difícil controle, a oxidação lipídica leva os alimentos cárneos ao estado de rancificação, com a produção de compostos indesejáveis, reduzindo a vida útil e a aceitabilidade para o consumo.

Em resposta ao crescente interesse da população em optar por uma alimentação mais saudável, a indústria de carnes e processados está buscando alternativas aos antioxidantes sintéticos.

As linguiças estão entre os produtos cárneos mais consumidos devido à facilidade de preparo e consumo. Para prolongar a estabilidade destes alimentos no armazenamento, diversas tecnologias são utilizadas, sendo uma delas o emprego de antioxidantes. São constantes as alegações e pesquisas que apontam associações entre antioxidantes sintéticos, utilizados na indústria de alimentos para retardar os processos de oxidação, com doenças de ordem crônica e degenerativas em humanos.

A oxidação lipídica leva a diminuição da qualidade sensorial e vida de prateleira das linguiças. Estas alterações são retardadas com a utilização intencional de antioxidantes sintéticos, principalmente o eritorbato de sódio, utilizado na maioria dos produtos cárneos industrializados. Este aditivo, não possui indicação numérica da quantidade máxima permitida para aplicação, sendo indicada sua utilização como “*quantum satis*” para atingir o efeito desejado.

Apesar do eritorbato de sódio não apresentar restrições quanto sua utilização, questões relativas à segurança alimentar, como o emprego dos aditivos comerciais e a tendência de os consumidores preferirem alimentos com menos conservantes, justifica a realização de pesquisas com antioxidantes naturais, principalmente extraídos de frutas, visando contribuir para a substituição dos antioxidantes convencionais.

Dentre as alternativas tecnológicas para ampliar a vida útil das carnes e seus derivados, emprega-se compostos antioxidantes de fontes naturais, indo ao encontro das expectativas dos consumidores como uma estratégia importante e inovadora.

Os valores destes produtos são reconhecidos, mas ainda existem desafios na extração, identificação e aplicação de seus compostos bioativos em substituição aos sintéticos (CASAGRANDE, 2014).

Os compostos fenólicos são conhecidos por protegerem os alimentos das reações de oxidação. As frutas estão entre os alimentos mais estudados para a extração destes compostos, sobretudo das partes não consumidas *in natura* ou desprezadas no processamento industrial, já que há presença destes compostos em todas as partes que as compõem. Por esta razão, a valorização das partes não comestíveis destas frutas é necessária, reduzindo custos de produção e minimizando o impacto ambiental.

A romã (*Punica granatum* L.) é uma fruta que se destaca devido às altas concentrações de compostos antioxidantes. Utilizada principalmente para a extração de sucos, as sementes e as cascas geralmente são descartadas, contudo alguns estudos apontam que as maiores quantidades de compostos com capacidade antioxidante são encontradas na casca.

A casca e o mesocarpo são considerados produtos secundários e compõem aproximadamente 50% da fruta, podendo ser valorizados e aproveitados para extração de compostos antioxidantes pela indústria de aditivos naturais. No Brasil, a principal forma de consumo da romã ainda é *in natura* (polpa e sementes), sendo a casca descartada.

A utilização destes antioxidantes naturais poderá ser perceptível pelo consumidor devido a sua adstringência, quando aplicados em quantidades significantes em comparação aos limites dos antioxidantes convencionais. Também, devido aos custos de extração destes compostos, os mesmos devem ser eficazes em baixas concentrações.

Optou-se pela realização da pesquisa utilizando como produto de origem animal, linguiças do tipo Toscana, por ter valor comercial acessível às diferentes classes de consumidores e apresentar facilidade no preparo, sendo o embutido cárneo industrializado mais consumido pela população brasileira.

Teve-se como objetivo principal avaliar a estabilidade lipídica de linguiça frescal tipo Toscana com extrato liofilizado da casca de romã (*Punica granatum* L.) em comparação ao eritorbato de sódio durante um período de 30 dias de armazenamento resfriado.

Assim, este trabalho foi desenvolvido em sequência, com as etapas de secagem das cascas de romã, extração, liofilização e caracterização dos extratos, formulação e fabricação das linguiças do tipo Toscana embaladas a vácuo e mantidas sob refrigeração durante o *shelf-*

life. Durante o período, os tratamentos foram submetidos as análises físico-químicas e sensorial.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PRODUÇÃO DE CARNE SUÍNA E PRODUTOS DERIVADOS

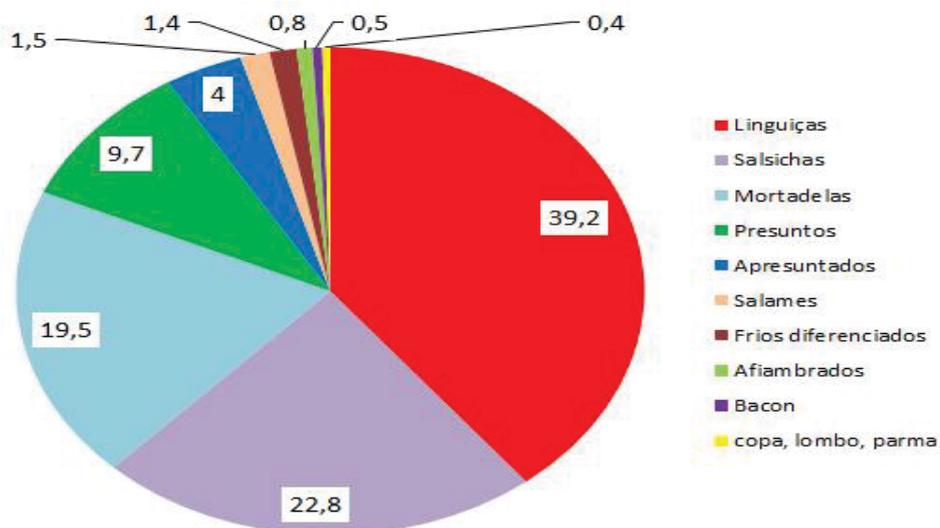
A carne suína é a matéria-prima básica para a elaboração de diversos produtos cárneos industrializados. A produção brasileira de carne suína atingiu 3,73 milhões de toneladas, mantendo-se como o 4º maior produtor e o 4º maior exportador mundial, sendo que 80,4% é absorvida pelo mercado interno. Embora seja proibida para mais de 20% da população mundial, principalmente judeus e muçulmanos, a carne suína é a mais produzida e consumida no mundo (ABPA, 2017).

No Brasil, o consumo da carne suína tem apresentado crescimento, alinhado com a tendência global. Em duas décadas, o país tornou-se o 6º maior consumidor, com consumo *per capita* em torno de 14,4 kg, sendo 89% em produtos industrializados e 11% o consumo *in natura* (ABPA, 2017).

Em 2015, os produtos processados de suínos somaram R\$ 25,6 bilhões, sendo que as linguiças frescas lideraram o rendimento desta categoria, contribuindo com mais de 22,62% do total faturado (ABPA, 2017).

A categoria de frios cárneos e embutidos é basicamente composta pelos seguintes produtos: salsicha e salsichão, linguiça (defumada e frescal), presunto, apresuntado, afiambrados, frios diferenciados, salame, mortadela, copa, lombo, presunto Parma e bacon. O grupo que inclui linguiças, salsichas, salsichão e mortadela representa 81,6% do volume vendido de frios e embutidos (Figura 1).

Figura 1- Participação de produtos cárneos por categoria.

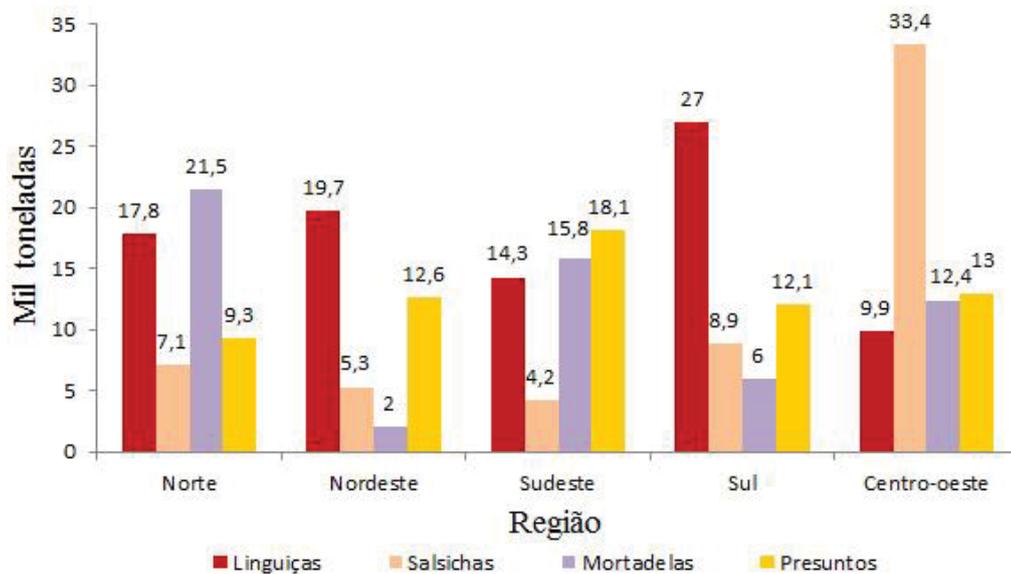


Fonte: Hue (2011).

Em geral, produtos embutidos são consumidos durante as refeições principalmente no almoço, momento em que o brasileiro consome a linguiça, optando pelos frios nas demais refeições na forma de lanches como alternativa rápida de preparo (HUE, 2011).

Conforme dados do IBGE (2010), no último relatório de pesquisa de orçamento familiar, onde foi realizada uma análise do consumo alimentar pessoal, as linguiças estão dentre os produtos carnes de maior preferência (Figura 2),

Figura 2 - Consumo de embutidos no Brasil em 2010.



Fonte: IBGE 2010.

2.2 CARACTERIZAÇÃO DE EMBUTIDOS CÁRNEOS

Os embutidos surgiram da necessidade do aproveitamento da carne fresca e/ou congelada, principalmente de partes com menor valor comercial das carcaças de animais de açougue. Há vários métodos de processamento, com o objetivo de desenvolver características organolépticas e propriedades desejáveis (SCHWERT, 2014).

Ebutidos são os produtos carnes elaborados com carne ou com órgão comestíveis, curados ou não, condimentados, cozidos ou não, defumados e dessecados ou não, tendo como envoltório a tripa, a bexiga ou outra membrana animal (BRASIL, 2017).

As linguiças estão entre os produtos processados mais antigos, tradicionais e com grande aceitação pelos consumidores (PAULA, 2013). No Brasil, as linguiças são caracterizadas conforme a Instrução Normativa nº 4, de 31/03/2000 (BRASIL, 2000),

classificadas de acordo com sua tecnologia de fabricação e composição da matéria-prima, para atender as características físico-químicas.

De acordo com a IN nº4 de 31/03/2000, entende-se por linguiça o produto cárneo industrializado, obtido de carnes de animais de açougue, adicionados ou não de tecidos adiposos, ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial, e submetido ao processo tecnológico adequado. Define-se como linguiça tipo Toscana o produto cru curado obtido exclusivamente de carnes suína, adicionada de gordura suína e ingredientes. Tem como ingredientes obrigatórios, o sal e a carne suína, sendo os demais opcionais, exceto a carne mecanicamente separada (CMS) que é proibida neste embutido (BRASIL, 2000).

As linguiças podem ter a designação de seus nomes, segundo as regiões onde foram primeiramente desenvolvidas, como a Toscana (Toscana-Itália), Portuguesa (Portugal), Calábria (Calábria-Itália), dentre outras (TERRA, 2004). Para isso, os nomes devem ser acompanhados da designação “tipo”, como “linguiça tipo Toscana”.

As linguiças são classificadas de acordo com o seu processo tecnológico de fabricação e da composição da matéria-prima utilizada, visando atender as características físico-químicas determinadas na legislação brasileira (Tabela 1).

Tabela 1 - Características físico-químicas de linguiças frescas tipo Toscana.

Características	Unidade (%)	Quantidade
Umidade	máx.	70
Gordura	máx.	30
Proteína	min.	12
Cálcio (em base seca).	máx.	0,1
Amido ¹	máx.	0
CMS ²	máx.	0
Proteína não cárnea ³	máx.	0

(1)A adição de amido não é permitida em linguiças tipo Toscana frescal;

(2)É proibido o uso de CMS (Carne Mecanicamente Separada) em linguiças tipo Toscana frescal;

(3)Não é permitida a adição de proteínas não cárneas (vegetal e/ou animal), como proteína agregada em linguiças tipo Toscana. Fonte: BRASIL (2000).

Conforme a tecnologia de produção, após o preparo das massas e embutimento, as linguiças são levadas para câmaras frias de armazenamento, onde permanecem por tempo suficiente para que ocorra o desenvolvimento das características desejáveis neste tipo de embutido (SARCINELLI et al., 2007), com tempo de cura de no mínimo 12 horas entre 5 e 8°C.

Pela natureza das matérias-primas utilizadas, ausência de tratamento térmico e alto teor de gordura, estes produtos estão propensos às deteriorações de ordem microbiológica e oxidação lipídica (GEORGANTELIS, 2007 apud PAULA, 2013). Assim, requerem um controle higiênico-sanitário mais rígido, visando não aumentar a carga microbiana no produto (TERRA, 2004).

Na fabricação de linguiças frescas, uma formulação adequada deve basear-se em informações precisas sobre a composição das matérias-primas, ingredientes, pH e temperatura, entre outras, visando reduzir possíveis variáveis interferentes na sua elaboração.

As principais etapas envolvidas no processamento da linguiça são: recepção e preparo da matéria-prima, moagem e mistura de carnes, condimentos e aditivos até a completa homogeneização para o desenvolvimento de sabor típico e início do processo de cura no descanso refrigerado por 12 horas, seguido por embutimento embalagem, expedição ou estocagem sob resfriamento ou congelamento (PAULA, 2013).

2.3 LIPÍDIOS NO PROCESSAMENTO CÁRNEO

Em geral, os alimentos lipídicos são conhecidos como gorduras (sólidos) ou óleos (líquidos), correspondendo ao seu estado físico à temperatura ambiente. A estabilidade física destes é importante para a qualidade do alimento, já que muitos lipídeos existem como dispersões/emulsões, sendo termodinamicamente instáveis (DAMODARAN, 2010).

Segundo Pardi (2007), os lipídeos desempenham papel relevante na alimentação, graças ao seu valor energético (9,1 Kcal/g), aos ácidos graxos essenciais, às vitaminas lipossolúveis e aos seus fosfolipídios.

A adição de gordura é relacionada com a qualidade agradável e palatabilidade do produto, mas também pode ser responsável por alterações devido às reações de oxidação, o que vem sendo evitado em excesso, por razões nutricionais e de saúde pública.

O teor de gordura da carne exerce grande influência no sabor, consistência e suculência dos produtos embutidos, sendo que para a boa aceitabilidade pelos consumidores, devem possuir pelo menos 15% de gordura, com a possibilidade de redução para 10% com boa aceitabilidade (PAULINO, 2005).

De acordo com Ferreira et al. (2009), pode-se substituir em até 50% o índice de gorduras nas linguiças frescas por proteínas lácteas de soro de leite, sem interferências na qualidade sensorial.

2.4 OXIDAÇÃO LIPÍDICA

Assim como as perdas de alimentos por deterioração microbiológica, a oxidação lipídica é uma das maiores causas de perdas de qualidade nos alimentos e seu controle é um desafio constante para as indústrias de alimentos e pesquisadores (MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2017).

Oxidação lipídica é o termo geralmente utilizado para descrever uma sequência complexa de alterações químicas, resultantes da interação de lipídeos com oxigênio. Durante reações de oxidação, os ácidos graxos esterificados em triacilgliceróis e fosfolipídios decompõem-se, formando moléculas pequenas e voláteis que produzem os aromas indesejados conhecidos como rancidez oxidativa (DAMODARAN, 2010).

Como as gorduras animais *in natura* normalmente são desprovidas de antioxidantes naturais, a oxidação pode rapidamente degradá-las, causando rancidez (VIEIRA, 2012). No processo de rancidez oxidativa, as cadeias dos ácidos graxos insaturados produzem peróxidos na presença de oxigênio onde, da ruptura destes, resultam carboxilados de baixo peso molecular, causadores do mau odor exalado dos produtos afetados (EVANGELISTA, 2008).

Em geral, esses compostos voláteis são prejudiciais à qualidade dos alimentos, embora existam produtos como alimentos fritos, cereais desidratados e queijos para os quais pequenas quantidades dos compostos da oxidação de lipídeos constituem componentes positivos do sabor (DAMODARAN, 2010).

É uma alteração que limita a vida de prateleira de vários alimentos, devido à deterioração, que culmina na redução da qualidade do produto. Estas alterações podem ser percebidas por mudanças de sabor, cor, textura, valor nutricional e produção de compostos potencialmente tóxicos (MONTEIRO, 2013).

Os principais fatores que afetam a deterioração da qualidade da carne pela oxidação lipídica, incluem o teor de ácidos graxos poli-insaturados, a composição dos fosfolipídios e a presença de radicais livres. As condições de processamento, etapas de moagem, mistura e adição de ingredientes na formulação, temperatura de armazenamento, tipo de embalagem e exposição à luz, são alguns dos fatores extrínsecos que contribuem para a oxidação lipídica (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006).

2.4.1 Mecanismo da reação de oxidação lipídica

Considerado um fenômeno bastante complexo, a oxidação dos lipídeos ocorre na presença do oxigênio na forma enzimática ou não enzimática, sendo induzida ou catalisada pela luz, metais, calor, fotossensibilizadores e substâncias reativas ao azoto e oxigênio. Para que aconteça a oxidação não enzimática, deve haver a presença do oxigênio, podendo ocorrer por dois mecanismos: auto-oxidação e foto-oxidação (MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2017).

É provável, que a principal via geradora de radicais livres seja a decomposição de hidroperóxidos, que existem em alimentos, antes mesmo do início da auto-oxidação (SCHWERT, 2014).

De acordo com Hamilton (2003) o mecanismo da auto-oxidação divide-se em três fases: iniciação, propagação e terminação. O estágio de iniciação resulta na formação de dois radicais livres:

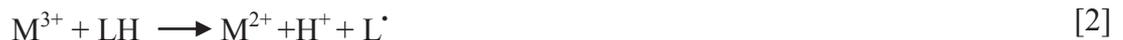


Onde:

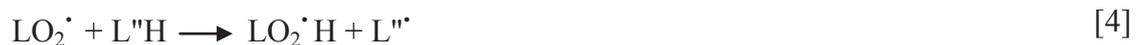
LH: ácido graxo insaturado

L[•] e H[•]: radicais livres

A formação deste primeiro radical livre na cadeia L[•] pode ocorrer de diferentes formas. Uma possibilidade é que um átomo de metal pode catalisar esta primeira reação:



O íon metálico pode ser oriundo da embalagem ou de condições de processamento do alimento. Uma vez que o radical livre (L[•]) é formado, este reagirá com o oxigênio e acontece a fase de propagação, produzindo o primeiro produto intermediário instável, o hidroperóxido:

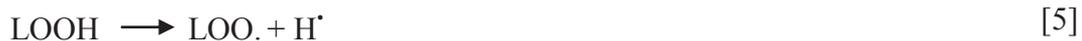


Estas equações mostram que o radical livre peroxi (LO₂[•]) pode atacar a molécula original LH ou outra molécula lipídica L[•] H para quebrar a LH, formando outros radicais alquil (HAMILTON, 2003).

Como principal característica da fase de propagação está o alto consumo de O₂, o aumento dos níveis de peróxido e hidroperóxido e a alteração das características sensoriais do alimento. Na fase de terminação, uma grande quantidade de radicais peroxila é acumulada,

onde reagirão entre si, formando compostos não radicais. Uma vez formado, o hidroperóxido pode quebrar a molécula em inúmeras maneiras (ERICKSON, 2008 apud MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2017).

As equações [5], [6] e [7], mostram como um grande número de radicais são gerados e auxiliam na formação de uma reação em cadeia, gerando um fluxo de radicais livres com a formação de *off-flavours* consideráveis (HAMILTON, 2003).



Os *off-flavours* produzidos durante a oxidação lipídica, geralmente indicam que o alimento não é mais comestível (BRASIL, 2014).

Durante esta etapa, o consumo de oxigênio e os níveis de hidroperóxido tendem a diminuir, as mudanças sensoriais aumentam e as alterações físicas começam a aparecer (ERICKSON, 2008 apud MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2017).

2.5 QUANTIFICAÇÃO DE PRODUTOS DA OXIDAÇÃO

O acompanhamento do desenvolvimento da oxidação lipídica pode ser feito através dos produtos primários da oxidação dos ácidos graxos, tais como os hidroperóxidos e dienos conjugados, ou produtos da oxidação secundária, como pentanal, hexanal e malonaldeído. O malonaldeído geralmente é o principal representante desses produtos, sendo determinado colorimetricamente como Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) (FIGUEIRÊDO et al., 2014).

2.5.1 Índice de Peróxidos (IP)

O índice de peróxidos é um método de determinação que representa a diferença entre a formação e a decomposição de peróxidos, apresentando-se os dados em milimoles de oxigênio ativo por kg de matéria graxa (PAULA, 2013).

Este índice é um indicador em estágio inicial da oxidação muito sensível, mostrando que a deterioração das características de cor e sabor em função de sua estabilidade, poderá acontecer (SOARES, 2012).

A variação do nível de peróxidos durante o *shelf-life* do alimento ocorre de forma gaussiana, sendo que um nível baixo de peróxidos não serve como garantia de boa estabilidade oxidativa podendo, ao contrário, ser sinônimo de alteração pronunciada e, níveis altos, indicarem degradação (PAULA, 2013).

De acordo com Soares (2012), para o monitoramento da aceitabilidade de alimentos em relação à extensão da sua deterioração, é possível utilizar os seguintes métodos para dosar os peróxidos:

- a) **Método Iodométrico de LEA:** é feita a medição do íon iodo produzido a partir da decomposição do iodeto de potássio pelos peróxidos. Alguns pontos devem ser observados para este tipo de determinação:
- O iodo liberado pode se fixar às duplas ligações dos ácidos graxos insaturados, dando um valor de IP por defeito;
 - O oxigênio presente no meio pode liberar o iodo originando um valor errado de IP por excesso. Aconselha-se efetuar o desarejamento prévio do meio e evitar a agitação no decorrer da reação;
 - A determinação do ponto final da titulação é difícil quando o nível de peróxidos é baixo (IP = 0,06-20), mesmo em presença de um indicador (amido). Nestes casos deve-se optar por uma determinação potenciométrica ou, como alternativa, medir o valor de absorbância, a 350 ou 290nm, dos íons em meio metanol/ácido acético.
- b) **Método colorimétrico:** os peróxidos presentes oxidam o Fe^{2+} a Fe^{3+} , que é dosado por colorimetria ($\lambda=500\text{nm}$) sob a forma de cloreto ou tiocianato férrico (HALLIWELL, 2005 apud PAULA, 2013).

Os métodos usados para a determinação do IP apresentam um caráter empírico, pois os resultados e a exatidão dos testes dependem das condições experimentais utilizadas, como variação do peso da amostra, condições de reação tempo e temperatura. Tradicionalmente os valores de IP estão entre 0 e 20 mEq/kg e nesse último valor, é possível detectar odor de rancidez (MENTEN et al., 2003).

2.5.2 Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico-TBARS

O TBARS é um dos métodos mais usuais para acompanhar o processo evolutivo da oxidação de lipídios em carnes e produtos cárneos, devido sua simplicidade e rapidez (BRUM, 2009; ALMEIDA et al., 2015). O ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) quantifica o

malonaldeído (MDA), considerado um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poli-insaturados, que se formam durante o processamento.

Esta reação envolve o TBA com o MDA, produzindo um composto de cor vermelha, medido espectrofotometricamente no comprimento de onda a 532 nm (MONTEIRO, 2013), podendo variar entre 500 a 550 nm (BRUM, 2009; OSAWA et al., 2005).

Processos envolvidos na elaboração de produtos cárneos, que incluam moagem, mistura e cozimento, favorecem a formação de MDA, sendo fundamental o emprego do teste na avaliação da qualidade do produto final (MONTEIRO, 2013).

Os resultados são expressos em mg de malonaldeído por kg de amostra.

Para a determinação da oxidação lipídica através deste método, todas as análises devem ser feitas através de um único meio de extração. Dessa maneira, é possível avaliar a eficácia da aplicação de diferentes embalagens ou de antioxidantes na estabilidade de determinados alimentos (BRUM, 2009).

2.6 COR DOS PRODUTOS CÁRNEOS

A cor dos alimentos tem influência significativa na decisão de compra de um consumidor, sendo considerado um dos atributos mais importantes para avaliação da qualidade global de linguiças, levando até mesmo ao esquecimento momentâneo das características nutricionais do produto (PAULA, 2013).

A mioglobina é o pigmento responsável pela cor nas carnes. Em condições normais, na carne fresca, pode apresentar-se de três formas básicas: mioglobina reduzida de cor vermelha púrpura, característica do interior muscular; oximioglobina, formada quando a mioglobina entra em contato com o ar formando a coloração vermelha brilhante, desejável pelo consumidor; metamioglobina, formada pela exposição prolongada ao oxigênio, apresentando cor marrom pardo, sem boa aceitação pelos consumidores (OSÓRIO et al., 2009).

Quando a exposição é prolongada, durante a vida útil do alimento, este pigmento sofre oxidação, causada pela modificação do íon ferroso (Fe^{2+}) para íon férrico (Fe^{3+}), formando o pigmento metamioglobina (PAULA, 2013).

O colorímetro realiza a determinação objetiva da cor, programado com as coordenadas colorimétricas do sistema L^* , a^* , b^* , de acordo com a CIELAB (*Commission International for Illumination*). O uso de * caracteriza os padrões determinados por esta comissão. Este aparelho fornece três variáveis de acordo com o diagrama de Hunter (SCHWERT, 2014).

O diagrama de Hunter Lab (Figura 3) ilustra as variáveis de cor detectadas pelo modelo instrumental. O valor L^* , situado no centro dos eixos, indica a luminosidade. O valor de a^* , situado no eixo horizontal, mede a variação entre a cor vermelha à verde. O valor de b^* mede a variação entre o amarelo e o azul. Assim, a razão a^*/b^* pode ser utilizada para estimar o teor de mioglobina em uma amostra (SCHWERT, 2014).

Figura 3 - Representação do diagrama de Hunter Lab conforme as variáveis de cor gráfica para análise de cor instrumental.



Fonte: SCHWERT (2014).

Na determinação da cor pelo sistema CIELAB, o parâmetro " L^* " mensura a luminosidade e ou brilho em escala de 0 a 100, indicando que quanto menores forem os valores, mais escura é a cor da amostra e quanto maiores, mais clara, respectivamente.

Desta forma, sendo que os principais parâmetros indicativos de qualidade para produtos cárneos são o brilho (L^*) e a cor vermelha (a^*), para que a coloração dos produtos cárneos permaneça com o tom de vermelho desejado, é esperado que os valores de " b^* " na amostra sejam baixos e " a^* " elevados.

Um produto cárneo poderá ter sua cor influenciada pela adição de um corante, processamento incorreto ou adição de sais de cura, como nitrato e nitrito, que reagem com os componentes da carne, intensificando a coloração, além de sabor e aroma característicos (DOMINGUEZ, 2002 apud PAULA, 2013).

2.7 ANTIOXIDANTES

Podem ser chamados de antioxidantes todos aqueles compostos capazes de diminuir ou prevenir significativamente a oxidação de outra substância, normalmente através de sua própria oxidação, sendo que este deve ser encontrado em menor quantidade que a substância a ser oxidável. Existem diversos compostos que podem atuar nessa atividade, dentre os quais, podem-se citar os compostos fenólicos, enzimas antioxidantes, ligantes de ferro, proteínas transportadoras e outros (MOURA, 2016; SOARES, 2002).

Devido ao interesse de pesquisadores, indústria e consumidores, são crescentes as linhas de pesquisa que relacionam os compostos bioativos e seus benefícios à saúde. Entre estes compostos, os mais pesquisados são aqueles que possuem propriedades antioxidantes, por apresentarem a capacidade de estabilizar ou desativar radicais livres, evitando danos estruturais celulares (PAZ et al., 2014).

O estresse oxidativo ocorre em todos os organismos expostos a ambientes oxigenados. Logo, os sistemas biológicos possuem diversas defesas antioxidantes a fim de se proteger da oxidação. Não existe uma definição uniforme para antioxidante, pois diversos mecanismos químicos podem inibir a oxidação (DAMODARAN et al., 2010).

Em geral, os tecidos biológicos a partir dos quais os alimentos são obtidos contêm muitos sistemas antioxidantes endógenos, mas o processamento pode removê-los ou causar estresse oxidativo (DAMODARAN et al., 2010).

Portanto, é comum que se incorpore proteção antioxidante adicional aos alimentos processados. Os mecanismos antioxidantes, dos compostos que são usados para aumentar a estabilidade oxidativa de alimentos, incluem o controle de radicais livres, pró-oxidantes e intermediários da oxidação (DAMODARAN et al., 2010).

O controle da oxidação não desejada nos alimentos costuma ser alcançado pelo emprego de técnicas de processamento e embalagens, que excluem o oxigênio ou envolvem a adição de agentes químicos apropriados (DAMODARAN et al., 2010).

Os antioxidantes de uso mais comuns em alimentos, são as substâncias fenólicas, apresentando, na maioria das vezes, graus variáveis de eficiência na proteção de sistemas alimentares, sendo que as combinações costumam fornecer mais proteção geral que a fornecida por simples efeitos aditivos, enquanto que os antioxidantes mistos, por vezes têm ação sinérgica (DAMODARAN et al., 2010).

O uso de antioxidantes devem apresentar requisitos como: ser compatível com o substrato, não conferir odor ou sabor estranho ao produto, ser efetivo durante o período de

armazenamento do produto alimentício, estável ao processo de aquecimento e facilmente incorporado ao alimento (MELO; GUERRA, 2002).

Evangelista (2008) classifica os aditivos de acordo com a origem em três classes:

- a) Naturais: obtidos por processos extrativos;
- b) Semissintéticos: obtidos de substâncias naturais, por fracionamento ou síntese;
- c) Sintéticos: obtidos em laboratórios por processo de síntese.

2.7.1 Antioxidantes Sintéticos

De acordo com Vieira (2012), os antioxidantes mais utilizados para prolongar a estabilidade no armazenamento dos alimentos, são o butil-hidroxianisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), galato de propila (GP) e terc-butilhidroquinona (TBHQ). Destes, os antioxidantes BHA e BHT são mais utilizados em produtos sujeitos a cocção elevada, por possuírem maior resistência ao calor (EVANGELISTA, 2008).

Conforme a Resolução RDC nº 65 de novembro de 2011, que dispõe sobre o regulamento técnico de inserção de aditivos químicos em produtos cárneos, os antioxidantes sintéticos permitidos para inserção em produtos cárneos frescos, embutidos ou não embutidos e as respectivas quantidades que podem ser incorporadas ao produto, devem atender os limites máximos permitidos (BRASIL, 2011).

Pesquisas com testes toxicológicos apontam potenciais atividades carcinogênicas destes compostos (SOARES, 2002). Estudos tem associado o uso de antioxidantes sintéticos, com diferentes doenças em seres humanos e em animais, o que provocou por parte das autoridades o enrijecimento das normas que versam a respeito de seu uso em alimentos, vindo a despertar o interesse do isolamento de antioxidantes, extraídos de fontes naturais (CASAGRANDE, 2014).

O quadro 1 apresenta algumas características destes antioxidantes sintéticos, com seus limites máximos permitidos em alimentos (BRASIL, 2011).

Quadro 1 - Limites permitidos de antioxidantes sintéticos para produtos cárneos.

INS	Aditivo antioxidante	Características e aplicações	Limite Máximo (g/100g ou g/100mL)
320	BHA	Eficácia superior na proteção de gorduras de origem animal à de vegetal, mas também eficaz para ácidos graxos de cadeia curta. Instável a altas temperaturas.	0,01 a 0,05 sobre o teor de gordura.
321	BHT	Similar ao BHA, além de atuar como sinergista quando utilizado conjuntamente, onde o BHA combate o radical livre e é regenerado pelo BHT. Instável a altas temperaturas.	0,01 a 0,05 sobre o teor de gordura.
310	GP	Também é um sinergista para o BHA, no entanto em altas concentrações pode atuar como pró-oxidante. Eficiência limitada quando utilizado para alimentos gordurosos, como os fritos, massas e biscoitos.	0,01 a 0,02 sobre o teor de gordura.
319	TBHQ	Mais indicado para óleos e frituras, sendo assim, mais eficaz do que o BHA e o BHT em óleos vegetais e similares ao BHA para gorduras de origem animal.	0,02 sobre o teor de gordura.
316	Eritorbato de sódio, isoascorbato de sódio	Embutidos frescos e cozidos e defumados	<i>quantum satis</i>

INS: *International Numbering System*. Fonte: BRASIL (2011).

Na maioria dos antioxidantes, a dosagem orientativa indicada é especificada como *quantum satis* (*q.s.*). O limite *quantum satis*, é a quantidade necessária para obter o efeito tecnológico desejado, desde que não altere a identidade e a genuidade do produto (BRASIL, 2016).

O eritorbato de sódio (ES) é um estereoisômero de ascorbato de sódio, capaz de retardar a oxidação lipídica por extinção do oxigênio singlete, doando átomos de hidrogênio e atuando como agente redutor. Também pode atuar de forma sinérgica, com a recuperação dos radicais carotenoides anatócitos formados devido à oxidação (RAMALHO, 2006). Os órgãos

internacionais disponibilizam uma lista com 40 aditivos utilizados pela indústria que atuam como antioxidantes, com os seus respectivos níveis máximos e produtos indicados para aplicação (BRASIL, 2015). No Brasil, o órgão responsável por controlar as quantidades de antioxidantes sintéticos utilizados nos alimentos é o Ministério da Saúde (BOROSKI et al., 2015).

2.7.2 Antioxidantes Naturais

São produzidos pelas células vivas, para manter um equilíbrio de oxirredução delicado, no processo de metabolismo de nutrientes e função imunológica. São originados do metabolismo secundário das plantas, sendo essenciais para seu crescimento e reprodução e formam-se principalmente em condições de estresse, como ferimentos e radiações ultravioletas, atuando como agente antipatogênicos (PATHIRANA; SHAHIDI, 2005).

Os vegetais são a fonte mais abundante de antioxidantes e outros fitoquímicos, utilizados com a finalidade de melhorar as características organolépticas de produtos cárneos (JIANG; XIONG, 2016). Em geral, as frutas são boas fontes de antioxidantes, principalmente as de cor intensa avermelhada (KULKARNI et al., 2011). Os ácidos fenólicos são classificados de acordo com sua estrutura química e caracterizam-se pela presença de um anel de benzeno, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e ou metoxila na molécula, responsáveis por conferirem ação antioxidante (KARAKAYA, 2004).

Segundo Casagrande (2014), estudos com antioxidantes naturais encontrados em frutas, vegetais e em subprodutos agroindustriais, tem se multiplicado cada vez mais, com o objetivo de utilização de seus compostos nos alimentos, em substituição aos antioxidantes sintéticos.

Quando utilizados como antioxidantes, com a finalidade de preservar a qualidade do alimento, estes compostos naturais também podem promover a saúde (JIANG; XIONG, 2016).

A extração dos antioxidantes naturais pode ocorrer a partir de excedentes de produções, como bagaços, cascas, caules e folhas de plantas. É realizada através de solventes, com a finalidade de obter extratos contendo os compostos de interesse mais concentrados (OLIVEIRA et al., 2010).

São compostos químicos, que contém um ou mais anéis aromáticos ligados a substituintes hidroxílicos, incluindo a exemplo, os ácidos fenólicos (compostos simples),

assim como moléculas de maior complexidade como taninos hidrolisados e condensados (YORDI et al., 2012).

Os compostos fenólicos são amplamente encontrados nas plantas, sendo objeto de estudos devido ao seu potencial antioxidante. Produtos do metabolismo secundário têm como principal função a proteção da planta contra condições adversas, sendo que o perfil dos compostos fenólicos é distinto entre diferentes variedades e cultivares (SANTIAGO et al., 2014).

Estes compostos atuam por meio do mecanismo de doação de hidrogênio e/ou transferência de elétrons para os radicais livres e por isso, são chamados de sequestradores de radicais livres. O número de hidroxilas presentes nos compostos fenólicos, assim como sua localização, tem influência direta na sua atuação como antioxidante (RAMALHO, 2006; BOROSKI, 2015).

Estudos demonstraram o potencial antioxidante dos ácidos fenólicos do fruto da romã (LANSKY, 2007; GONZÁLEZ-MOLINA et al., 2009; FISCHER, 2011), com o objetivo de substituir os antioxidantes sintéticos, largamente utilizados na conservação de alimentos lipídicos. Entretanto, as maiores concentrações dos compostos com estas propriedades encontram-se na casca da romã. A valoração desta parte do fruto, um subproduto da agroindústria, merece maior aprofundamento em pesquisas para sua aplicação em outros alimentos.

2.8 MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os métodos mais utilizados para avaliação do potencial antioxidante e redutor, principalmente de fontes naturais, são o DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e o ABTS (2,2'-azino-bis (3-etil-benzotiazolina-6-sulfônico)) (ALVES et al., 2010).

2.8.1 Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

A molécula de DPPH é caracterizada como um radical livre em virtude da desorganização do elétron na camada de valência. Esta modificação confere-lhe uma coloração violeta, caracterizada por uma banda de absorção a aproximadamente 520 nm em etanol (ALVES, 2010).

O ensaio baseia-se na medida da capacidade antioxidante de uma determinada substância em sequestrar o radical DPPH. A hidrazina é obtida com mudança simultânea na

coloração de violeta a amarelo pálido. Costuma-se monitorar o decaimento da absorvância, no comprimento de onda observado entre 515 nm e 528 nm, produzido pela adição do antioxidante a uma solução alcoólica do radical DPPH. É considerado um dos mais fáceis, precisos e reprodutivos na avaliação da atividade antioxidante (ALVES, 2010).

A interação do antioxidante com o DPPH depende de suas conformações estruturais, sendo que para melhor entender estes mecanismos de reação dos substratos, é necessário à separação e identificação dos compostos através de cromatografia e a caracterização dos intermediários e outros produtos da reação (HENTZ, 2015).

2.8.2 Método ABTS (2,2'-azino-bis (3-etil-benzotiazolina-6-sulfônico))

Este é um dos métodos mais utilizados para medir a capacidade antioxidante, utilizado para determinar compostos hidrofílicos e lipofílicos que podem ser solubilizados em meios orgânicos e aquosos, capturando o radical 2,2'-azino-bis (3-etil-benzotiazolina-6-sulfônico) através de uma reação química, eletroquímica ou enzimática, dependendo da natureza dos compostos antioxidantes. (KUSKOSKI et al., 2005; ALVES et al. 2010).

É considerado um método simples e pode ser avaliado em diferentes faixas de pH, tornando-se uma importante metodologia para o estudo do efeito do pH em mecanismos oxidantes. Possui como limitante, não ser um representante das biomoléculas e também não ser encontrado em nenhum sistema biológico. Dinamicamente, qualquer componente que apresente um potencial redutor menor que este radical, pode reagir como o mesmo (MAGALHÃES et al., 2008).

2.9 ROMÃ

Devido suas propriedades e efeitos promotores da saúde, redução de doenças crônicas e do risco de doenças cardiovasculares, o fruto da romã (*Punica granatum* L.) (Figura 4) é altamente valorizado, com estudos clínicos comprovando seus benefícios e capacidade antioxidante (NEORI et al., 2009).

Conhecida como romãzeira, da família Punicaceae, é cultivada mundialmente (RUMMUN et al., 2013). Santiago et al. (2011) citam que a cultura da romãzeira tem grande apelo comercial mundial, devido ao aumento na demanda por frutas *in natura* e processados com propriedades funcionais e, segundo Sumner et al. (2005) a romã tem uma longa história medicinal, amplamente utilizada por muitos povos, principalmente os orientais.

Figura 4 – Frutos da Romã (*Punica Granatum* L.)

Fonte: < <http://www.alphagreen.com.br/medicinais/roma> > (2017).

O cultivo da romã concentra-se em regiões de clima semiárido, naturalmente adaptada ao clima temperado e subtropical (OZGEN et al., 2008), sendo amplamente distribuída por todo o Brasil (OLIVEIRA et al., 2010). Somente na Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP), foram comercializadas aproximadamente 380 toneladas da fruta em 2011 (SILVA, 2013).

A presença de compostos de atividade antimicrobiana e antioxidante tem sido relatada em todas as partes desta planta (TEHRANIFAR et al., 2011). Na indústria de alimentos, a romã é utilizada, sobretudo para a extração de suco e outras bebidas à base da fruta, sendo que aproximadamente 40 a 50% do peso do fruto são representados pela casca (AL-SAID; OPARA; AL-YAHYAI, 2009; GULLON et al., 2016).

A produção de suco é inferior à metade do peso do fruto, gerando uma quantidade significativa de resíduo, utilizado principalmente como ração animal (KADERIDES; GOULA; ADAMOPOULOS, 2015). Quando processadas em grandes volumes pela indústria, podem representar problemas ambientais, principalmente a casca (AMYRGIALAKI et al., 2014).

Entre os fitoconstituintes presentes na planta, destacam-se os flavonoides (apigenina e narigenina), taninos (punicalagina), alcaloides, ácido ascórbico, ácidos graxos conjugados (ácido púnico) e o ácido ursólico (LANSKY; NEWMANN, 2007).

A casca da romã tem em sua composição, compostos fenólicos como as antocianinas (delfinidina, cianidina e pelargonidina), quercetina, ácidos fenólicos (cafeico, catequínico,

clorogênico, elágico, gálico e quínico), conferindo a cor vermelha ao fruto e taninos hidrolisáveis que representam 92% da atividade antioxidante do fruto inteiro (BASSO; PIAIA, 2015).

O ácido elágico destaca-se como um dos compostos mais abundantes na casca da romã. Este composto possui atividade antioxidante de forma rápida, devido a sua estrutura fenólica.

A punicalagina possui atividade antimicrobiana e fungicida sendo utilizado em países como a China (TEHRANIFAR et al., 2011) e, pode compreender entre 11 a 20 g/kg dos elagitaninos da casca da romã (ISMAIL; SESTILI; AKHTAR, 2012).

A fruta contém uma rica variedade de flavonoides, constituindo aproximadamente 0,2 a 1% do peso do fruto, sendo que cerca de 30% de todas as antocianinas estão concentradas na casca. A capacidade antioxidante, compostos fenólicos e outros constituintes dos frutos, são dependentes do tipo de cultivar, localização geográfica, clima, solo, estágio de desenvolvimento e maturação, além de outros fatores de interferência (FISCHER et al., 2011; NEORI et al., 2009).

Esta composição torna a casca de romã especial em comparação com outros resíduos de alimentos vegetais. Apesar de sua rejeição como alimento, a casca possui quantidades mais elevadas de compostos nutricionais e bioativos quando comparada com as partes comestíveis e outras frutas (SESTILI et al., 2007; ORGIL et al., 2014).

Basso e Piaia (2015) utilizaram o extrato de casca de romã na elaboração de pães, verificando que suas formulações obtiveram um índice de aceitação superior a 70% pelos provadores.

O potencial de utilização de antioxidantes naturais, como da polpa e sementes de romã na conservação de produtos cárneos tem sido demonstrado com grande eficiência (JARDINI et al., 2007). Em pesquisa realizada com 28 tipos de frutas comumente consumidas na China, GUO et al. (2003) concluíram que a casca da romã apresentou a maior atividade antioxidante em relação às demais frutas estudadas.

Jardini et al. (2007) avaliaram a atividade antioxidante dos diferentes extratos de polpa e semente de romã, constatando que a ação antioxidante do extrato aquoso das sementes foi maior que o apresentado pelo antioxidante sintético BHT em meio lipídico, enquanto o extrato aquoso da polpa foi significativamente mais eficiente em relação ao BHA.

Teles e Costa (2014) avaliaram o extrato aquoso de romã e encontraram atividade antimicrobiana na concentração inibitória mínima de 6,25% para o *Staphylococcus aureus* e de 12,5% para *Escherichia coli*.

Wu et al. (2016) testaram o extrato da casca de romã como agente antimicrobiano, na inibição de microrganismos em pescados e observaram a diminuição de até 4 logs do crescimento de *Vibrio parahaemolyticus* em camarão cozido com 10 dias de tratamentos.

Na literatura, ainda há poucos trabalhos que envolvam a aplicação dos extratos de romã em produtos cárneos, visando testar a sua capacidade antioxidante frente à oxidação lipídica.

Devatkal, Narsaiah e Borah (2010) avaliaram o uso de antioxidantes de sementes e casca da romã e da bergamota em hambúrgueres de carne de cabra durante o armazenamento ($4\pm 1^\circ\text{C}$) em diferentes métodos de embalagens, observando redução significativa no TBARS, onde os extratos da casca de romã foram mais eficientes que o da casca de bergamota, sendo que a combinação da embalagem a vácuo e a concentração de 1% do extrato da casca de romã resultaram em maior estabilidade da cor quando comparado aos tratamentos com atmosfera modificada.

El-Nashi et al. (2015) avaliaram o efeito do pó de cascas de romã na concentração de 1%, 2% e 3% em linguças de carne bovina armazenada ($4\pm 2^\circ\text{C}$) por 12 dias, registrando a estabilidade durante o armazenamento e a manutenção das características sensoriais positivas, em comparação ao controle.

Hamed et al. (2015) utilizaram subprodutos da romã na dieta de frangos, o que reduziu o TBARS e o teor de gordura bruta na carne e melhores resultados na coxa e peito, indicando a suplementação na ração com até 2% de subprodutos de romã.

Turgut et al. (2016) avaliaram o efeito do extrato da casca de romã em almôndegas refrigeradas, mostrando que a adição do extrato liofilizado prolongou em oito dias a vida útil do produto quando comparado ao antioxidante sintético BHT, além de melhorar a aceitação sensorial do produto cárneo.

A valorização destes resíduos normalmente descartados no consumo e pela indústria de sucos é comercialmente viável, com substâncias de elevado potencial para as indústrias farmacêuticas, de cosméticos e de alimentos além de trazer benefícios nas questões de segurança alimentar e na gestão de resíduos industriais (HASNAOUI; AMYRGIALAKI et al., 2014; AKHTAR et al., 2015).

Morsy, Mekawi e Elsabagh (2018) pesquisaram o impacto das nanopartículas de casca de romã liofilizadas utilizadas como antioxidante e antimicrobiano na concentração de 1 e 1,5% em almôndegas armazenadas a 4°C (± 1) por 15 dias em comparação com o butilhidroxitolueno (BHT) e constataram haver atividade antioxidante, além de significativa melhora na capacidade de retenção de água no alimento.

2.10 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

A extração de antioxidantes naturais divide-se em três etapas: mistura do soluto e solvente; separação das fases e extração e eliminação do soluto em contato com o solvente.

É definida como uma operação unitária, capaz de separar ou eliminar um componente através de outro material ou fase, sem provocar alterações nos demais, podendo a fase utilizada para a extração ser: líquido-líquido, sólido-líquido, um sólido ou líquido e um gás (ORDÓÑEZ et al., 2005).

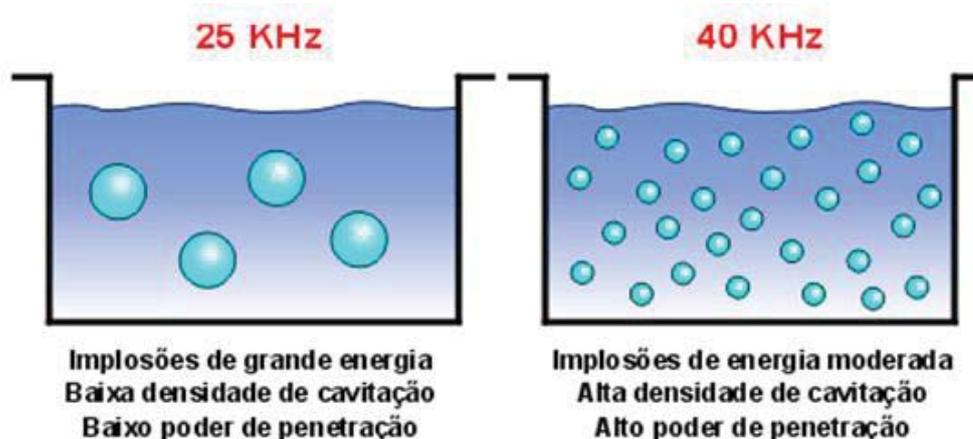
Para a identificação e isolamento de compostos bioativos em fontes naturais, como frutas, sementes e especiarias, é preciso realizar a extração com solventes de polaridades diferentes. As pesquisas que enfocam essas extrações têm objetivo de encontrar a melhor alternativa para aplicação em alimentos (ANDREO, 2007; JORGE e RAMALHO, 2006).

Quanto menores forem às partículas, mais fácil será a extração, diminuindo o tempo de percurso do soluto até o solvente. Os solventes utilizados pelas indústrias devem ser compatíveis com diversos solutos, atóxicos, de baixo custo, não perigosos ou inflamáveis. A solubilidade do soluto no solvente é fator importante para a obtenção de uma concentração final significativa, evitando assim a necessidade de várias repetições para a extração (ORDÓÑEZ et al., 2005).

De acordo com Melecchi (2005) dentre as técnicas de extração de polifenóis totais, o banho de ultrassom destaca-se pela eficiência e redução no tempo de extração quando comparado com outros métodos. É um dispositivo relativamente simples, encontrado na maioria dos laboratórios de química e analítica. Geralmente estes equipamentos trabalham utilizando frequência entre 20 e 40 kHz, sendo eficazes na extração de compostos provenientes de fontes vegetais (CAVALHEIRO, 2013).

É um processo, que utiliza a energia das ondas sonoras (mecânicas) que são transmitidas em frequência superior à da capacidade auditiva humana. Estas ondas, quando propagadas no meio líquido, produzem o fenômeno chamado de cavitação (Figura 5) (ESCLAPEZ et al., 2011).

Figura 5 - Efeitos causados pelo banho de ultrassom.



Fonte: <http://www.unique.ind.br/ultrasom.html>

Há uma migração dos gases dissolvidos no sistema para dentro destas cavidades, formando microbolhas, que aumentam e diminuem constantemente, gerando ciclos de expansão e compressão até a implosão das bolhas que liberam grande quantidade de calor e pressões elevadas, próximas a região da implosão. Com isso, ocorre o rompimento das células vegetais, facilitando a difusão do solvente extrator para o interior da matriz vegetal, favorecendo a extração com uma quantidade pequena de solventes (CAVALHEIRO, 2013).

O ambiente onde a matriz vegetal está localizada influencia no rendimento final do extrato, bem como o período em que a amostra foi coletada, local de armazenamento, teor de umidade e espaço geográfico (ANDRADE, 2011).

Pode haver formação de radicais oxidativos durante o processo, alterando quimicamente a matriz geral. A cavitação gera mudanças físicas e químicas permanentes aos líquidos, aquecimento e ruptura nos sólidos e instabilidade na interface de sistemas líquido-líquido e líquido-sólido (MELECCHI, 2005).

Segundo Cavalheiro (2013), a energia ultrassônica tende a perder intensidade e uniformidade de distribuição com o passar do tempo. As interferências do tamanho do recipiente e posição em que a amostra é colocada, também contribuem para a variabilidade dos resultados.

Além disso, sistemas de solvente composto de etanol, água e ácido cítrico (regulador de pH) podem proporcionar rendimentos muito satisfatórios na extração dos compostos polifenólicos com propriedades antioxidantes em pesquisas com folhas de oliveira e cascas de cebola (AMYRGIALAKI et al., 2014).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente, realizaram-se as extrações dos compostos da casca de romã, para as quantificações de potencial antioxidante e polifenóis presentes nesta matéria prima.

Após a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa, sob número de registro 63579517.6.0000.5342, iniciou-se a parte experimental, com o processamento e elaboração dos embutidos frescos e as avaliações necessárias, realizadas nos meses de setembro e outubro de 2017, no Instituto Federal do Rio Grande do Sul, campus de Sertão.

3.1 PREPARO E QUANTIFICAÇÃO DOS EXTRATOS

3.1.1 Matéria-prima

As frutas de romãzeira utilizadas neste estudo estavam maduras e foram adquiridas em um mercado local. As romãs foram lavadas, higienizadas e pesadas inteiras, antecedendo o processo de separação das partes dos frutos para os cálculos de rendimento. Após, foram cortadas em pedaços e separadas em casca, polpa e sementes.

As cascas, foram seccionadas em pedaços de cerca de 3 cm, espalhadas em formas de alumínio e colocadas em estufa de secagem (marca Splabor, SPL 102) com circulação e renovação de ar à temperatura de $40\pm 5^{\circ}\text{C}$ por 72 horas.

Depois de secas, as cascas foram novamente pesadas e trituradas em micro moinho tipo ciclone, com peneira de malha *20 mesh*. O material moído foi acondicionado em frasco hermético à temperatura ambiente ($\pm 22^{\circ}\text{C}$) e ao abrigo da umidade e luz até a extração dos compostos fenólicos.

3.1.2 Extração dos compostos fenólicos

A extração dos compostos fenólicos foi realizada conforme Cavalheiro (2013), utilizando-se a relação de 1:10 (g/mL) de material vegetal. A mistura foi submetida ao banho de ultrassom com potência de 40 KHz por tempo de 2 horas a temperatura de 40°C .

Após o término da extração, filtrou-se a solução em filtro de nylon e o sobrenadante do extraído foi diluído (1:10) e reextraído nas condições anteriores, armazenando-se os extratos aquosos sob refrigeração à temperatura de 4°C ($\pm 1^{\circ}\text{C}$) até utilização.

Esta solução foi caracterizada como Extrato Aquoso de Casca de Romã (EACR). Na sequência, realizou-se o congelamento em ultra freezer durante 24 horas à temperatura de -70°C ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) para posterior liofilização. O liofilizador foi calibrado de acordo com as instruções do fabricante.

3.1.3 Liofilização

A liofilização foi realizada na Central de Equipamentos Multiusuários (Cemulti) do Parque Científico e Tecnológico UPF Planalto Médio (UPF Parque), seguindo as condições especificadas pelo fabricante do equipamento. Após calibração do liofilizador, as placas com EACR congelado, foram dispostas na estante porta-bandejas do equipamento. O tempo de secagem foi de 26 horas com temperatura de -55°C .

Finalizado o processo, o produto foi caracterizado, como Extrato Liofilizado de Casca de Romã (ELCR), acondicionado em recipiente hermético envolvido em papel alumínio para evitar fotodegradação e manter as características para as próximas etapas.

3.1.4 Quantificação de fenóis totais

A quantificação de fenóis totais dos extratos EACR e ELCR, foi realizada utilizando-se uma solução de Folin-Ciocalteu, cujo princípio, baseia-se na redução de sais de molibdênio/tungstênio pelos grupos fenólicos, com concomitante formação de um complexo azul, monitorado espectrofotometricamente e cuja intensidade aumenta linearmente a 760 nm, descrito por Roesler et al. (2007).

Para a realização da determinação dos fenóis totais, foi obtida uma curva analítica com o ácido gálico (GAE), a fim de obter-se a equação da reta ($y=0,0152x+0,0463$, $R^2=0,9924$) Os valores de absorbância foram inseridos na equação da reta, expressos em miligrama por g de extrato (mg GAE/g).

Para a reação colorimétrica, uma alíquota de 0,5 mL da solução metanólica do extrato foi adicionada de 2,5mL de solução aquosa, do reativo Folin-Ciocalteu a 10% e 2,0 mL de carbonato de sódio a 7,5%.

A mistura foi incubada por 5 minutos em banho-maria a 50°C e posteriormente, a absorbância foi medida em espectrofotômetro a 760 nm. A quantificação dos compostos fenólicos nos extratos foi realizada em triplicata.

3.1.5 Determinação de flavonoides totais

Na determinação dos flavonoides totais, utilizou-se a catequina para a construção da curva analítica ($y = 0,0048x - 0,0145$, $R^2 = 0,9738$), sendo as leituras de absorbância, realizadas a 510 nm. Os valores foram expressos em concentração de Equivalentes de Catequina em mg por g de extrato (mg/g).

Para a formação do complexo $AlCl_3$ - flavonoide, foram adicionados em tubos de ensaio, 2 mL de H_2O , 500 μL do extrato aquoso, 150 μL de $NaNO_2$.

Os tubos foram agitados e aguardou-se por 5 minutos para então, ser acrescido de 150 μL de $AlCl_3$ (na concentração de 0,4 mol/L). Novamente, os tubos foram agitados e o tempo de espera para a adição de 1 mL de $NaOH$ (na concentração de 1 mol/L) e 1,2 mL de água, foi de 6 minutos. A absorbância foi medida usando-se o branco como referência. A quantificação dos flavonoides totais nos extratos foi realizada em triplicata.

3.1.6 Determinação de atividade antioxidante por DPPH

O mecanismo de reação consistiu na adição de 1000 μL de solução de DPPH (0,004%) e 200 μL dos extratos metanólicos, sendo as misturas, mantidas em temperatura ambiente, no escuro por 30 minutos. A diminuição da absorbância da solução resultante foi monitorada em espectrofotômetro (marca SHIMADZU, UV-1800) a 517 nm.

O mesmo procedimento foi adotado para o padrão de Trolox (Ácido (\pm) - 6- hidroxil-2, 5, 7,8- tetrametilcromano- 2- carboxílico), análogo à vitamina E, utilizado como controle, que foi utilizado nas mesmas concentrações dos extratos.

Para os cálculos da curva padrão, plotou-se respectivamente os valores nos eixos x (concentração) e y (absorbância). Através de regressão linear, determinou-se a equação da reta, obtendo-se a concentração da amostra através do coeficiente angular da equação da reta.

A capacidade de sequestrar o radical livre foi calculada e expressa como % de inibição de oxidação, conforme a equação:

$$\% \text{ inibição DPPH} = \frac{(Abs_{DPPH} - Abs_{amostra})}{Abs_{DPPH}} \times 100 \quad (8)$$

Onde:

Abs_{DPPH} : absorbância da solução metanólica do radical DPPH.

$Abs_{amostra}$: absorbância da amostra após 30 minutos de reação com a solução de DPPH.

Os resultados de percentual (%) de inibição dos extratos foram expressos em valores TEAC, definidos em μMol equivalentes de Trolox. g^{-1} .

3.1.7 Determinação da atividade antioxidante por ABTS

A determinação da atividade antioxidante pelo método da captura do radical ABTS foi realizado ao abrigo da luz, conforme metodologia descrita por Re et al., (1999) modificada por Kuskoski et al. (2004).

O ensaio é baseado na geração do radical monocátion (ABTS), de cor azul esverdeada, formado pela reação de persulfato de potássio com o ABTS, produzindo sua oxidação.

A atividade antioxidante total foi determinada através do ensaio com $\text{ABTS}^{\bullet+}$, obtido pela reação de 5mL de $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (sete mM) com 88 μL de persulfato de potássio 140 mM. O sistema foi mantido em repouso por 16 horas na ausência de luz. Uma vez formado, o radical ($\text{ABTS}^{\bullet+}$) foi diluído com água destilada, até obter o valor de 0,7 μMol equivalentes de Trolox g^{-1} , de absorvância a 734nm em leitura no espectrofotômetro.

A atividade antioxidante foi determinada pela descoloração do radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$, após o acréscimo do EACR e ELCR. O mecanismo de reação consistiu na adição de 250 μL de cada extrato (na concentração de 0,1g/mL) e 1250 μL do radical $\text{ABTS}^{\bullet++}$.

Os tubos foram então incubados por 6 minutos, ao abrigo da luz e posteriormente, realizados as leituras do decréscimo das absorvâncias, usando o branco como referência. O mesmo procedimento foi adotado para o padrão de Trolox em diferentes concentrações, obtendo a equação da reta. A capacidade de sequestrar radical livre (Equação 9) foi expressa como % de inibição de oxidação:

$$(\% \text{ inibição}) = 1 - (\text{Af}/\text{A0}) \times 100 \quad [9]$$

Onde:

- a) A0: absorvância inicial
- b) Af: absorvância final

Os resultados de percentual (%) de inibição dos extratos foram expressos em valores TEAC, definidos em μMol equivalentes de Trolox g^{-1} .

3.1.8 Identificação de compostos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Os compostos foram quantificados através da CLAE, com a utilização das curvas de calibração dos respectivos compostos de referência disponíveis, onde o ELCR foi ressuspensionado em metanol grau CLAE na concentração de 100 µg/mL, e filtrados em filtro de celulose de 0,45 micrometros.

As substâncias químicas de referência (SQR) utilizadas foram: ácido vanílico, ácido ferúlico, ácido p-cumárico, ácido cafeico, teobromina, e ácido clorogênico.

Para o preparo da fase móvel foi utilizada água ultrapurificada obtida pelo Sistema Directi-Q – Millipore®/Millipore Corporation (EUA), acetonitrila e metanol grau CLAE e ácido fosfórico grau PA. As SQR foram preparadas em concentrações que variaram de 10 a 150 µg/mL em metanol, para a confecção das curvas de calibração.

As análises por CLAE foram realizadas em cromatógrafo líquido de alta eficiência Flexar LC Perkin Elmer (Burnsville, MN, USA), equipado com bomba binária Flexar LC, detector Flexar PDA em 280 nm, auto-amostrador. Os dados cromatográficos foram analisados usando-se Software Chromera Workstation.

Utilizou-se uma coluna de fase reversa C18 ACE (250 x 4,6 mm, 5 µm). O volume de injeção foi de 20 µL. As injeções foram realizadas em triplicata. O método usado foi validado por Favaretto, 2014, com pequenas modificações. A fase móvel foi constituída de água pH 3,0 (fase A) e acetonitrila (fase B), com fluxo de 0,8 mL/min. A eluição foi realizada em gradiente. De 0 a 10 min, 85:15 (A: B), de 10 a 17 min 80:20 (A: B), e de 17 a 20 min 85:15 (A: B).

3.2 FORMULAÇÕES E ANÁLISES DOS EMBUTIDOS FRESCAIS

As matérias-primas para a produção das linguiças tipo Toscana foram obtidas de suínos abatidos em matadouro do Instituto Federal de Sertão, sob Serviço de Inspeção Municipal (SIM), obedecendo às normas higiênicas sanitárias e a tecnologia de abate preconizadas. Após resfriamento das carcaças à temperatura de 7°C (±1°C) por 12 horas realizou-se a desossa e separação de paleta, pernil e toucinho para a produção das massas cárneas no laboratório de Processamento de Carnes da Agroindústria do Instituto Federal do Rio Grande do Sul, *campus* de Sertão.

Optou-se pela utilização do eritorbato de sódio como controle, por não haver limite estabelecido pela legislação quanto a sua dosagem máxima e também porque é o antioxidante

comercial mais utilizado na produção de embutidos frescais, visto que outros já possuem restrição de uso em diversos países por haver relação do seu uso com doenças crônicas (POLÔNIO; PERES, 2009; FREITAS; FILHO, 2010; JIANG; XIONG, 2016).

As formulações foram definidas como demonstrado na Tabela 2. Os tratamentos com ELCR e com o ES foram preparados de maneira individual, mas com o mesmo padrão de massa.

Tabela 2 – Formulações de linguiças frescais do tipo Toscana com diferentes tratamentos antioxidantes.

Ingredientes(g)	Tratamentos*			
	ELCR1 (0,025%)	ELCR2 (0,05%)	ELCR3 (0,1%)	ES (0,025%)
Carne suína (g)	850	850	850	850
Toucinho (g)	150	150	150	150
NaCl (g)	25	25	25	25
Água gelada (mL)	30	30	30	30
Açúcar(g)	5	5	5	5
Pimenta preta(g)	1	1	1	1
Extrato ELCR (g)	0,25	0,5	1	-
Eritorbato-ES (g)	-	-	-	0,25

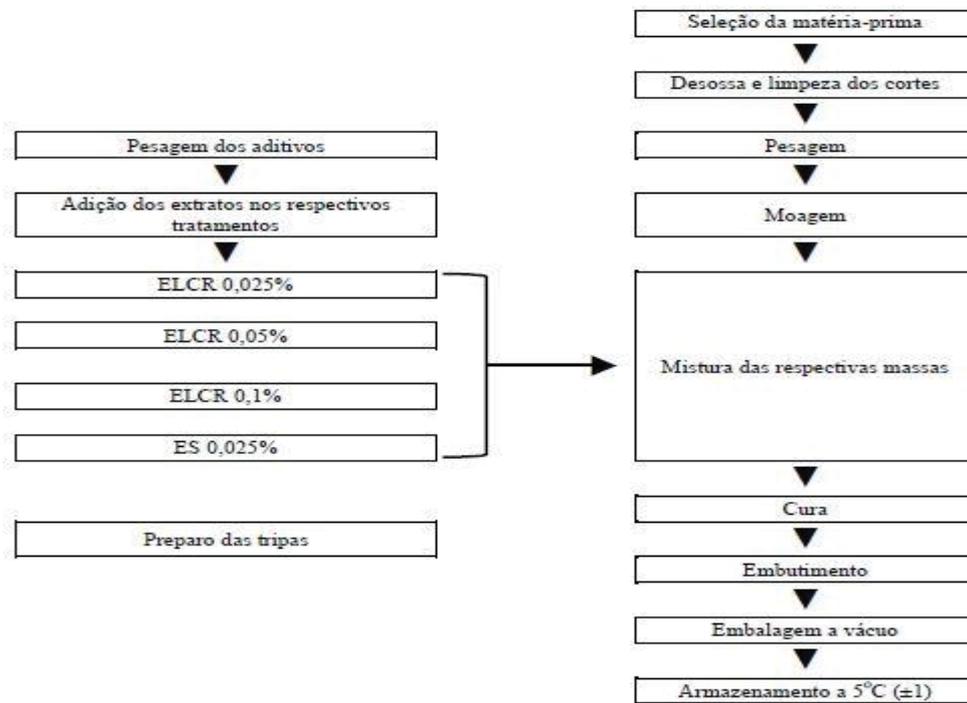
*Tratamentos: ELCR1=0,025%, ELCR2 =0,05%, ELCR3=0,1% de extrato liofilizado de casca de romã; ES= 0,025% de eritorbato de sódio (antioxidante controle). Fonte: elaborado pelo Autor (2017).

Nos procedimentos de fabricação das linguiças, as carnes e o toucinho foram cominuídos individualmente em disco de 8 mm em moedor elétrico. O preparo dos aditivos foi realizado separadamente para cada tratamento e nos que receberam ELCR a solubilização foi realizada com a água da formulação.

Entre cada formulação os equipamentos e utensílios foram higienizados (enxague com água, esfrega com detergente neutro e secagem com flanelas).

A elaboração das linguiças seguiu o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade discriminado na Instrução Normativa de nº 4 (BRASIL, 2000) e está representado na Figura 6.

Figura 6 - Fluxograma do processamento da linguiça tipo Toscana com extratos de casca de romã e com eritorbato de sódio utilizados.



Fonte: elaborado pelo Autor (2017).

As massas de cada formulação foram acondicionadas em embalagens plásticas com retirada manual de ar, mantendo-se por 12 horas a $5^{\circ}(\pm 1^{\circ}\text{C})$. O embutimento foi realizado em embutidora manual utilizando tripas naturais previamente higienizadas com água a 40°C , clorada, modelando-se a massa em gomos padronizados, que foram fracionados em porções de 3 a 4 gomos de aproximadamente 25 gramas cada, embalados a vácuo e identificados individualmente.

Os tratamentos de linguiças frescas foram identificados e levados para armazenagem em câmara de refrigeração à temperatura de $5^{\circ}\text{C} (\pm 1^{\circ}\text{C})$ e submetidos à iluminação artificial (lâmpada fluorescente de 40 Watts) por 12 h/dia, simulando uma gôndola de supermercado, até o momento das determinações físico-químicas.

As amostras de cada tratamento foram avaliadas em triplicata para pH, composição centesimal e cor, nos tempos de 1, 15 e 30 dias após preparo.

3.2.1 pH

Para as leituras de pH, utilizou-se pHmetro (marca Metrohm 826 mobile) de perfuração calibrado para leitura direta e em triplicata, realizando perfurações em diferentes pontos nos gomos de linguças das amostras de cada tratamento.

3.2.2 Umidade

Para a determinação da umidade utilizou-se a metodologia segundo Adolfo Lutz (2008).

Foram pesadas 5 g de cada amostra e levadas à estufa de dessecação a 105°C por 3 horas. O resultado foi expresso em % de água/100g de massa de linguça, calculado conforme a equação 10.

$$\text{Umidade} = \frac{P - p}{P} \times 100 \quad [10]$$

onde:

P= massa do alimento (g)

p= massa do alimento seco (g)

3.2.3 Cinzas

Para a determinação de cinzas (Adolfo Lutz, 2008) pesou-se 5g de cada amostra em cadinhos previamente identificados e tarados. Em seguida, realizou-se a incineração do material em bico de Bunsen, sendo transferidas para mufla a 550° C até a eliminação completa pela queima da matéria orgânica.

Após, os cadinhos foram retirados e resfriados em dessecador até a temperatura ambiente e pesados em balança analítica e a quantidade de cinzas foi avaliada conforme a equação 11 e seu valor expresso em porcentagem (%) de cinzas;

$$\text{Cinzas (\%)} = \frac{100 \times N}{P} \quad [11]$$

Onde:

N= cinzas(g)

P=amostra inicial(g)

3.2.4 Lipídios

Para a determinação de lipídios (Adolfo Lutz, 2008), pesou-se 1,0g de amostra em cartucho Soxhlet. Após pesado o reboiler, adicionou-se 150 mL de éter de petróleo. O reboiler e o cartucho foram levados para o extrator de óleos e graxas (marca Marconi-MA-491), ligando-se a placa aquecedora e a torneira de água do condensador.

Após fervura, a extração foi mantida por 5 horas, tomando-se o cuidado em manter o nível do éter no reboiler. Para finalizar o processo de evaporação do solvente, transferiu-se a amostra para a estufa de secagem e a determinação do extrato etéreo foi calculada da seguinte forma:

$$EE(g) = \frac{P_1 - P_2}{P_a} \times 100 \quad [12]$$

Onde:

EE=extrato etéreo

P₁=tara do balão + resíduo extraído

P₂=tara do balão vazio

P_a=peso da amostra

3.2.5 Proteínas

O teor de proteína foi calculado pelo método de Kjeldal (Adolfo Lutz, 2008), baseando-se na determinação do nitrogênio total. Pesou-se 1 g de amostra em papel manteiga, transferindo-se para o tubo Kjeldahl, juntamente com o papel. Adicionou-se uma medida de mistura catalítica (formada por sulfato de cobre e sulfato de potássio) ao tubo e acrescentou-se 20 mL de ácido sulfúrico concentrado.

A digestão foi realizada em bloco digestor (marca Lucadema - LUCA 2302), inicialmente ligando o bico digestor lentamente, programando o controlador para a temperatura de 420°C, até que a solução apresentasse tonalidade azul-esverdeada. Em erlenmeyer de 250mL, preparou-se 50mL de ácido bórico 4%, com a adição da mistura de

indicadores (verde de bromocresol e vermelho de metila), colocando-se a mangueira coletora do destilador no erlenmeyer.

Adaptou-se o tubo de Kjeldahl ao destilador e adicionou-se 50mL de hidróxido de sódio a 40% em local apropriado do destilador. No final do processo de destilação, coletou-se 50 mL do destilado no erlenmeyer, titulando-se com solução de ácido clorídrico (0,1mol/L) até a viragem do indicador (verde claro para rosa), anotando-se o volume gasto na titulação.

O cálculo do teor de proteínas (%) foi realizado conforme a equação 13:

$$\% \text{ de proteínas} = \frac{V \times f \times 0,0014 \times FC \times 100}{p} \quad [13]$$

Onde:

V = volume de ácido clorídrico gasto na titulação (mL)

f = fator de correção do ácido clorídrico

FC = Fator de conversão de nitrogênio em proteína (6,25)

p = peso da amostra (g)

3.2.6 Cor objetiva

Os pós-testes iniciaram com as medições de cor objetiva, realizadas com colorímetro (marca Minolta CR 400) por refletância, sendo os valores no espaço de cor L*(luminosidade) e os componentes a* (vermelho-verde) e b* (amarelo-azul) com leituras em triplicata. O equipamento foi previamente calibrado, de acordo com as instruções do fabricante.

3.2.7 Determinação do índice de peróxidos

A determinação do índice de peróxidos foi realizada segundo metodologia Adolfo Lutz (2008), em triplicata. O índice de peróxidos identifica os peróxidos orgânicos formados nas fases iniciais de rancificação que atuam sobre o iodeto de potássio e liberam o iodo que é titulável com o tiosulfato de sódio na presença de amido.

Foram preparadas as soluções de amido a 1% (m/v); solução de ácido acético-clorofórmio (3:2 v/v); solução de tiosulfato de sódio 0,1N e solução saturada de iodeto de potássio (KI).

Pesou-se 5g de amostra juntamente com 30mL da solução de ácido acético-clorofórmio em um liquidificador para trituração e dissolução da amostra por 3 minutos. Ao final, a solução foi transferida para um papel filtro em erlenmeyer e lavagem do copo do liquidificador com 10mL da mesma solução.

Após a filtração, adicionou-se 0,5mL da solução saturada de KI, deixando em repouso ao abrigo da luz por 1 minuto. Acrescentou-se 30mL de água e realizou-se a titulação com a solução de tiosulfato de sódio 0,1N sob agitação até o desaparecimento da coloração amarelada. Em seguida adicionou-se 0,5mL da solução de amido e continuou-se a titulação até o desaparecimento da coloração azul.

Para o cálculo do índice de peróxidos utilizou-se a seguinte equação 14:

$$\frac{(A - B) \times N \times f \times 1000}{P} \quad [14]$$

Onde:

A= nº de mL da solução de tiosulfato de sódio (0,1 ou 0,01N) gasto na titulação da amostra;

B= nº de mL da solução de tiosulfato de sódio (0,1 ou 0,01N) gasto na titulação do branco;

N= normalidade da solução de tiosulfato de sódio;

F= fator da solução de tiosulfato de sódio;

P= nº de g da amostra.

Os resultados do índice de peróxidos analisados em cada tratamento nos dias determinados foram expressos em meq por kg da amostra.

3.2.8 Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

Para determinação do índice de TBARS, foi utilizado o método espectrofotométrico descrito Vincke (1970) e adaptado por Marangoni e Moura (2011). Os aldeídos foram extraídos através do preparo ácido-aquoso. Foram pesados 5g de amostra de cada tratamento com linguiça tipo Toscana e homogeneizadas por 3 minutos em um agitador mecânico com 30mL de solução de ácido acético (TCA) 7,5%.

A mistura foi filtrada em papel filtro e adicionada cerca de 10mL de TCA 7,5% para lavagem. Uma alíquota de 2mL do filtrado foi transferida para tubo de ensaio com tampa e 2

mL de solução de TBA 0,02M. Os tubos foram aquecidos em banho-maria por 20 min à 100°C, resfriados e realizada posteriormente a leitura das absorvâncias em espectrofotômetro UV/visível a 530 nm.

Para a quantificação do complexo colorido, foi elaborada uma curva padrão, utilizando o composto padrão 1, 1, 3,3-tetraetoxipropano (TEP), cuja hidrólise ácida gera o MDA na proporção 1:1 mol. Foi preparada uma solução contendo 20mg de TEP em TCA 7,5% e a partir desta foram preparadas soluções de trabalho com concentrações que variaram de $2 \cdot 10^{-7}$ a $2 \cdot 10^{-5}$ mol/L. Para os cálculos da curva padrão, plotou-se respectivamente os valores nos eixos x (concentração) e y (absorvância).

Através de regressão linear, determinou-se a equação da reta, obtendo-se a concentração da amostra através do coeficiente angular da equação da reta. O cálculo de TBARS foi realizado através da seguinte equação:

$$\text{TBARS} = \left(\frac{A \times F \times 1000}{10} \right) \quad [15]$$

Onde:

A= Absorvância lido a 530nm.

F= fator calculado pela equação da reta (coeficiente angular).

Os resultados para o TBARS foram expressos em mg de MDA por kg de amostra.

3.2.9 Análise sensorial

As análises sensoriais foram realizadas no Laboratório de Análise Sensorial do CEPA, na Universidade de Passo Fundo (CEPA/UPF) através dos testes discriminativo triangular e afetivo de aceitabilidade, aplicados em sequência.

Com a finalidade de atender aos protocolos de análise sensorial e garantir que as linguças atenderam aos parâmetros microbiológicos para o consumo foram realizadas as análises de:

- Clostrídios sulfito redutores (IN nº62 de 26/08/2003, capítulo IV-MAPA);
- *Staphylococcus* coagulase positiva (ISSO 6888-1:1999);
- *Salmonella* spp. (AOAC Official Methods of Analysis 2003.09 Salmonella in selected Foods);

- Coliformes termotolerantes (AOAC Official Methods of Analysis. Microbiological Methods. 991. 14. 19th ed. 2012).

Para os dois testes sensoriais, a formulação controle (ES 0,025%) e com extrato (ELCR 0,1%) foram avaliadas no 28º dia após a elaboração, com a participação de um grupo de 53 provadores não treinados, composto por servidores e alunos da UPF de ambos os sexos e diferentes faixas etárias.

Os participantes receberam prévia orientação de como proceder durante as avaliações, além de receberem e assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 1).

As amostras foram submetidas a tratamento térmico antes do teste sensorial, sendo assadas em forno elétrico a 200°C por 60 minutos e, no momento de servir, cortadas em pequenas fatias (~1 cm de arestas), apresentadas em pratos descartáveis, codificadas individualmente com números aleatórios de 3 dígitos, acompanhadas da ficha de avaliação (Quadro 2). Para a limpeza do palato os julgadores receberam com as amostras um copo com água.

Quadro 2 - Ficha de avaliação do teste triangular.

Nome: _____	Data: __/__/__	
<p>Você está recebendo 3 amostras codificadas. Duas amostras são iguais e uma é diferente. Por favor, avalie da esquerda para a direita, anotando o número de cada amostra na ordem e circule a amostra DIFERENTE.</p>		
nº _____	nº _____	nº _____
Comentários: _____		

Fonte: elaborado pelo Autor (2017).

Logo após o teste triangular, cada provador recebeu uma nova porção, para avaliar os atributos de aceitabilidade solicitados, indicando uma nota em escala hedônica, que variou de 1 (desgostei muitíssimo) a 9 (gostei muitíssimo). O índice de aceitabilidade (Quadro 3) foi avaliado em relação aos atributos de odor, textura, cor e aspecto global.

Quadro 3 - Ficha de avaliação de teste de aceitabilidade.

Nome: _____	Data: ___/___/___	
Por favor, prove as amostras de linguiça, da esquerda para a direita e dê uma nota para cada solicitação abaixo, seguindo a seguinte escala:		
9-Gostei muitíssimo		
8-Gostei muito		
7-Gostei moderadamente		
6-Gostei ligeiramente		
5-Não gostei/nem desgostei		
4-Desgostei ligeiramente		
3-Desgostei moderadamente		
2-Desgostei muito		
1-Desgostei muitíssimo		
	nº: _____	nº: _____
Cor	_____	_____
Textura	_____	_____
Sabor	_____	_____
Aspecto Global	_____	_____
Comentários: _____		

Fonte: elaborado pelo Autor (2017).

3.2.10 Análise estatística

Os resultados das análises físico-químicas das linguiças foram analisados utilizando-se a média e o desvio padrão das triplicatas e tratados estatisticamente pela análise de variância ANOVA (com teste de normalidade) e teste de Tukey a 5% de significância ($p > 0,05$), utilizando o software SPSS Statistics (versão 23).

Para a representação estatística dos resultados da análise sensorial, utilizou-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1.1 Rendimento do extrato de casca de romã

O cálculo de rendimento do extrato liofilizado foi feito a partir da massa total das cascas de romã após a secagem. As outras partes (polpa e sementes) foram pesadas para obtenção do rendimento total em relação aos frutos utilizados. A Tabela 3 apresenta os rendimentos da romã nas diferentes etapas, até a obtenção do extrato final.

Tabela 3 - Rendimento bruto (pó) e extrato liofilizado das cascas de romã.

Parte	Peso das partes da fruta <i>in natura</i>	Rendimento			
		Em relação ao total	Em pó bruto após secagem	Após a liofilização do pó das cascas	
casca	1.077,62 g	46,44 %	96,26 g	18,25 g	18,96%
outros	1.242,90 g	53,56 %	133,82 g	-	-
Total	2.320,52 g	100 %	230,08 g	-	-

Fonte: elaborado pelo Autor (2017).

O extrato liofilizado representou 0,78% de rendimento final em comparação a massa inicial de fruta, e 18,96% em proporção ao pó bruto das cascas. Barros (2011), também utilizou a liofilização para a obtenção de seus extratos e atingiu 25,96% para a casca de romã, seguida de 23,06% casca de maçã; 15,63 % casca de uva e 11,85 % da casca de buriti. Marchi (2015) encontrou valores entre 39% ($\pm 0,35$) e 39,6% ($\pm 1,5$) após a secagem das cascas de romã em estufa a 40°C e 50°C.

Como o processo de liofilização é realizado em condições de alto vácuo, existe pouco contato com o ar, minimizando a oxidação do extrato. Outra vantagem é que o produto final da liofilização (forma porosa) torna-o de fácil dissolução. Em outros métodos de secagem dependendo da concentração da solução a ser seca, ocorre a presença de sais concentrados que desnaturam as proteínas.

Optou-se pela aplicação do extrato na forma liofilizada na linguiça tipo Toscana em pequenas frações, com a finalidade de minimizar possíveis interferências residuais, perceptíveis pelos provadores no momento da análise sensorial. Alcançou-se, assim, um dos principais objetivos, de oferecer eficiência em baixas concentrações.

4.1.2 Quantificação de fenóis e flavonoides totais, ABTS e DPPH

Os extratos EACR e ELCR foram submetidos aos ensaios de fenóis totais, flavonoides, DPPH e ABTS, para fins comparativos.

O percentual de inibição, mostrado na Tabela 4, foi interpretado de acordo com a metodologia empregada por Melo et al. (2006), da seguinte forma: > que 70% = eficiência em sequestrar o radical livre; 60-70% = ação antioxidante moderada e < 60% = fraca capacidade de sequestrar o radical DPPH.

Tabela 4- Concentração de fenóis, flavonoides e atividade antioxidante (% de inibição) de cada forma do extrato de casca de romã.

Extrato	Concentração de polifenóis totais (mg GAE/g)	Concentração de flavonoides totais (Catequina, mg/g)	(%) inibição ABTS	(%) inibição DPPH
EACR	66,14 (±0,12)	6,84 (±0,09)	99,30 (±0,03)	91,71 (±0,11)
ELCR	89,52 (±0,37)	12,05 (±0,25)	98,70 (±0,07)	90,21 (±0,26)

EACR= extrato aquoso de casca de romã; ELCR=extrato liofilizado de casca de romã; GAE= Equivalentes de Ácido Gálico; Resultados representam a média das triplicatas. Fonte: elaborado pelo Autor (2017).

Verificou-se que as duas formas de extrato possuem ação antioxidante, com alta eficiência em sequestrar os radicais livres. Esse efeito também foi relatado por Fischer; Barros, (2011). O extrato liofilizado manteve um percentual maior de polifenóis e flavonoides totais, indicando que o processamento concentra os compostos ativos. O conteúdo de compostos fenólicos totais encontrados no presente estudo é comparável ou superior ao de outros estudos e frutas, confirmando que o extrato de casca de romã é uma boa fonte de antioxidantes naturais (ALMEIDA et al., 2015).

Diamanti et al. (2017) encontraram para o pó de casca de romã 58,7 mg GAE/g e no extrato aquoso após liofilização 42,16 mg GAE/g, com ação inibitória dos radicais entre 75 e 86%, enquanto Galaz et al. (2017) indicaram valores de 101,9 mg GAE/g.

De forma semelhante, Kazemi et al. (2016) encontraram variações entre 272,05 e 320,26 mg GAE/g, quando avaliaram os efeitos de variáveis na extração por ultrassom de antioxidantes de casca de romã. Elfalleh et al.(2009) tiveram valores de 97,72 e 87,33 mg

GAE/g enquanto Hasnaoui et al. (2014) obtiveram 256,11(\pm 0,73) e 251,61(\pm 42,69) mg GAE/g em base seca.

Li et al. (2006) registraram 249,4 mg GAE/g. Morsy, Mekawi e Elsabagh (2018), encontraram para o extrato da casca 215,2 mg GAE/g em base seca e 205,07 a 261,70 mg GAE/g no extrato aquoso de casca de romã.

Devatkal, Narsaiah e Borah (2010) ao avaliarem o efeito antioxidante dos extratos da casca de frutas cítricas, pó de sementes e casca de romã em processados a base de carne de cabra, relataram que a quantidade de compostos fenólicos encontrados no extrato de casca de romã foi significativamente maior que na casca de outras frutas ($p < 0,05$).

As variações encontradas nos resultados entre as pesquisas estão relacionadas às técnicas de extração utilizando diferentes solventes, tempo e temperatura utilizados, bem como, os fatores edafoclimáticos (características de adubação, do solo, umidade, temperatura, exposição solar) que influenciam diretamente na quantidade dos compostos encontrados, além da variedade da fruta e estágio de maturação (CHINI et al., 2016).

A água, como solvente, não apresenta os melhores resultados na extração, porém elimina a necessidade de posteriores purificações e possíveis riscos na aplicação dos extratos em alimentos.

O arranjo das duplas ligações e o número de hidroxilas presentes em cada molécula dos polifenóis, incluindo flavonoides e taninos hidrolisáveis, também contribuem para as oscilações encontradas na atividade antioxidante, além do sinergismo químico entre os diversos compostos da casca (BARROS, 2011).

4.1.3 Ácidos fenólicos

No extrato liofilizado de casca de romã foram encontrados os ácidos fenólicos: clorogênico, cafeico e ferúlico (Tabela 5). Foram realizados somente as análises cromatográficas com as soluções disponíveis naquele momento.

Tabela 5 - Concentrações de ácidos fenólicos encontrados no extrato da casca de romã determinadas por CLAE.

Ácidos fenólicos (g/100g de extrato)		
Ácido clorogênico	Ácido ferúlico	Ácido cafeico
0,141 (\pm 0,02)	0,102 (\pm 0,01)	0,004 (\pm 0,00)

Fonte: elaborado pelo Autor (2017).

De acordo com os resultados expressos, os ácidos clorogênico e ferúlico foram predominantes no extrato da casca de romã. Mesmo em menor quantidade, foi possível a quantificação do ácido cafeico. Os demais ácidos pesquisados (vanílico, cumárico e a teobromina) não foram encontrados. Em outros trabalhos também foram constatados a presença destes ácidos fenólicos na romã, através da CLAE (FISCHER; CARLE; KAMMERER, 2011; LI et al., 2015).

As cascas possuem cerca de 10 vezes mais compostos fenólicos que a polpa. Uma das prováveis causas deve-se porque os compostos fenólicos serem metabólicos secundários, que estão envolvidos nos mecanismos de defesa da planta contra radiações ultravioletas ou por agressões externas (MORZELLE, 2016).

4.1.4 Composição centesimal da linguiça tipo Toscana

As análises de composição dos tratamentos de linguiças tipo Toscana (Tabela 6), mostram que os valores atenderam o enquadramento das especificações exigidas pela legislação vigente.

Tabela 6 - Resultados da composição centesimal das linguiças tipo Toscana formuladas com diferentes tratamentos antioxidantes.

Tratamento	Proteína (%) *	Gordura (%) *	Umidade (%) *	Cinzas (%)
ELCR 1	25,61 a (±1,50)	9,93 a (±1,74)	61,24 a (±3,63)	2,38 a (±0,67)
ELCR 2	24,88 a (±0,86)	11,53 a (±1,03)	59,36 a (±2,89)	2,60 a (±0,19)
ELCR 3	23,95 a (±1,85)	11,15 a (±2,83)	59,27 a (±1,91)	2,89 a (±0,14)
ES	25,18 a (±1,18)	12,23 a (±1,76)	58,78 a (±1,46)	2,82 a (±0,11)
Limites*	12 (mín.)	30 (máx.)	70 (máx.)	

*Médias seguidas de mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). Tratamentos com extrato: ELCR1 (0,025%), ELCR2 (0,05%), ELCR3 (0,1%), Controle: ES (0,025%). *Limites estabelecidos pela IN 04 (BRASIL, 2000). Fonte: elaborado pelo Autor (2017).

Não foram encontradas diferenças significativas ($p>0,05$) entre os tratamentos analisados de linguiça tipo Toscana. Um dos fatores que colaborou para este resultado foi à correta homogeneização das matérias-primas, durante o preparo das massas de linguiça tipo Toscana. O teor de gordura dos ensaios foi inferior à metade do limite máximo estabelecido pela legislação. Os teores de proteína estiveram acima dos limites mínimos exigidos pela legislação (BRASIL, 2000).

Os valores de umidade estão próximos aos encontrados por El-Nashi (2015) quando aplicou o pó da casca de romã em linguiça bovina (58,82 a 61,89%) armazenadas a $4^{\circ}\text{C} \pm 2$ durante 12 dias.

4.1.5 pH

A evolução do pH dos tratamentos de linguiça tipo Toscana estão apresentadas na Tabela 7. As medições foram realizadas em triplicatas em 1, 15 e 30 dias. As médias de pH entre os tratamentos oscilaram de 6,16 a 5,66 durante o tempo de armazenamento.

Tabela 7 - Resultados do pH da linguiça tipo Toscana durante o tempo de armazenagem.

Tratamento	pH*		
	1º dia	15º dia	30º dia
ELCR 1	6,03 abA ($\pm 0,01$)	5,56 abB ($\pm 0,01$)	5,21 aC ($\pm 0,02$)
ELCR 2	6,03 abcA ($\pm 0,05$)	5,59 acB ($\pm 0,01$)	5,21 aC ($\pm 0,00$)
ELCR 3	6,05 bA ($\pm 0,05$)	5,60 cB ($\pm 0,01$)	5,20 aC ($\pm 0,01$)
ES	6,03 aA ($\pm 0,05$)	5,57 aB ($\pm 0,05$)	5,21 aC ($\pm 0,01$)

*Médias \pm (desvio padrão) seguidas de mesmas letras minúsculas nas colunas e mesmas letras maiúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$). Tratamentos com extrato: ELCR1 (0,025%), ELCR2 (0,05%), ELCR3 (0,1%), Controle: ES (0,025%). Fonte: elaborado pelo Autor (2017).

De acordo com a Tabela 7, verifica-se que os tratamentos apresentaram comportamento semelhante, pois na evolução do pH, não foram observadas diferenças

significativas ($p > 0,05$) entre os tratamentos durante o período de armazenamento refrigerado. Estes valores estão de acordo com a faixa (6,8-5,2) estabelecida para produtos cárneos (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006).

Quando comparados entre si, no 1º dia de estocagem, ELC3 apresentou diferença significativa ($p < 0,05$), em relação ao controle (ES), repetindo-se no 15º dia.

Saleh et al. (2017) obteve o resultados dentro desta faixa (6,27-5,73) para os embutidos utilizando o pó de casca de romã. Benedicti (2014) encontrou valores semelhantes (5,37-5,17), quando avaliou o pH das linguiças tipo Toscana com extrato de aipo durante a cura. Nos embutidos em que utilizaram pó de casca de romã em diferentes concentrações, El-Nashi et al. (2015), não encontraram significância ($p > 0,05$), durante o período de armazenamento.

Paula (2013) observou o decréscimo de pH (6,15-5,23) em linguiça tipo Toscana até o último dia de estocagem, ao testar diferentes tipos de embalagens, nas mesmas condições de temperatura. Do mesmo modo, o pH declinou de 5,88 a 5,61 com a adição de pó de casca de romã em carne suína (QIN et al., 2013). Naveena et al. (2008) relataram não haver diferença significativa no pH, quando aplicaram extrato de suco de romã em empanados de frango.

Kufner (2010) observou aumento de pH (5,9-6,3) em linguiças de frango quando adicionou extratos de manjerona nos tratamentos até o 21º dia de estocagem.

Monteiro (2013) relatou que a diminuição no pH das linguiças pode estar relacionada com a fermentação durante o período de armazenamento, ocasionada entre outras, pela adição de glicose ou açúcar na formulação, podendo haver naturalmente, a presença de frutose nos extratos.

O declínio gradual do pH pode ser atribuído à temperatura de estocagem ($5^{\circ}\text{C} \pm 1$) e a barreira ao oxigênio, formada com a embalagem a vácuo, resultando em reações mais lentas de degradação do glicogênio e formação de ácido láctico. Paula (2013) trabalhou com temperaturas de até 8°C , encontrando alterações mais significativas. A refrigeração e a embalagem a vácuo também tornaram as linguiças menos susceptíveis as alterações microbiológicas. Outra variável que contribuiu no comportamento do pH foi a padronização dos cortes cárneos e a homogeneização das massas para o preparo das linguiças.

Os valores de pH para as linguiças são considerados satisfatórios para este tipo de produto, pois de acordo com a legislação vigente, não há especificação exata para esta variável. As alterações de pH são mais facilmente percebidas, quando há uma faixa maior de variação, principalmente em outros tipos de embutidos cárneos como os curados e maturados, interferindo na qualidade e *shelf-life*.

4.1.6 Cor

Uma das características mais importantes para o consumidor, diz respeito à cor, considerado um forte indicativo na decisão em optar por adquirir um produto cárneo. A cor dos produtos cárneos é afetada constantemente, com a adição de extratos vegetais (ALMEIDA et al., 2015).

Os parâmetros de cor (Quadro 4) foram medidos na superfície de fatias de linguiças ao longo dos 30 dias de armazenagem.

Quadro 4 - Valores das coordenadas colorimétricas L*, a* e b* para as linguças tipo Toscana durante o armazenamento.

Dia	Cor L*			Cor a*			Cor b*		
	1°	15°	30°	1°	15°	30°	1°	15°	30°
ELCR1	50,41 bA (±0,02)	48,70 bB (±0,09)	56,28 aC (±0,74)	12,57 bA (±0,07)	14,34 aB (±0,54)	11,49 bC (±0,14)	10,05 bA (±0,05)	9,29 bA (±0,61)	7,76 bB (±0,20)
	47,19 cA (±0,04)	43,30 cB (±0,01)	41,62 bC (±0,20)	13,47 cA (±0,02)	11,41 bB (±0,11)	11,39 bB (±0,16)	10,34 cA (±0,01)	7,92 abcB (±0,13)	7,16 bC (±0,31)
	51,13 dA (±0,03)	43,17 cB (±0,11)	41,75 bC (±0,16)	11,21 dA (±0,02)	10,92 bAB (±0,21)	10,68 bB (±0,17)	9,43 dA (±0,01)	7,11 acB (±0,42)	7,86 bC (±0,03)
ES	52,35 aA (±0,01)	46,58 aB (±0,51)	45,91 aB (±0,20)	14,75 aA (±0,08)	13,81 aA (±0,89)	14,82 aA (±0,63)	11,20 aA (±0,05)	7,58 aB (±0,86)	9,74 aA (±0,60)

*Médias (± desvio padrão) seguidas de mesmas letras minúsculas nas colunas e mesmas letras maiúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo de Tukey ($p > 0,05$).

Tratamentos com extrato: ELCR1 (0,025%), ELCR2 (0,05%), ELCR3 (0,1%), Controle: ES (0,025%) Fonte: elaborado pelo Autor (2017).

Ao analisar o valor de luminosidade L^* , observou-se que todos os tratamentos com ELCR apresentaram diferença ($p < 0,05$), quando comparadas entre si e com o controle no início da armazenagem.

Tratamentos com ELCR2 e ELCR3, não diferenciaram-se entre si ($p > 0,05$) no 15º e 30º dias e ELCR1 manteve-se semelhante ao controle no 30º dia.

A coordenada colorimétrica L^* , durante armazenagem das linguiças, indicou haver leve escurecimento das linguiças, observado pelo decréscimo dos valores da luminosidade (NAVEENA, 2008).

Para a luminosidade de L^* , Benedicti (2014) encontrou em linguiça tipo Toscana valores que variaram de 59,73 a 52,34, estando de acordo também com os intervalos encontrados por Chiavaro et al. (2008) de 62,8 a 52,9 ao final de 15 dias de armazenamento. Estévez et al., (2005) constataram em salsichas armazenadas por período de 60 dias que, quando não aplicou extratos de alecrim o valor de L^* diminuía para os tratamentos durante o tempo de estocagem.

Para a coordenada colorimétrica a^* , houve descoloração (FERNANDES et al., 2018) nos tratamentos com extrato de casca de romã, diferenciando-se do controle ($p < 0,05$) durante o armazenamento resfriado. A estabilidade apresentada por ELCR2 e ELCR3 para a^* foram equivalentes no dia 30, contudo não manteve os mesmos níveis do ES para a coloração vermelha para as linguiças. A cor dos embutidos cárneos, em muitas situações é mantida por tecnologias que empregam o uso de corantes.

Na coordenada colorimétrica b^* , os tratamentos apresentaram comportamentos distintos durante o *shelf-life*, onde ELCR2 e ELCR3 não apresentaram diferença ($p > 0,05$) entre si no 15º e 30º dia.

As alterações entre os parâmetros de cor dos produtos cárneos são consequência da oxidação lipídica e alterações do pigmento nitrosohemocromo acelerados pela ação da luz, resultando em moléculas orgânicas (porfirinas) de coloração verde, amarelas ou incolores, que possuem no centro de sua estrutura, um espaço para acomodação de um íon metálico (BENEDICTI, 2014).

A luz acelera o processo de descoloração dos produtos cárneos através da indução da dissociação do óxido nítrico da estrutura dos pigmentos de hemoglobina, sendo agravados ainda mais pela exposição dos produtos em balcões iluminados nos pontos de venda (PAULA, 2013).

Stefanello et al. (2015) verificaram comportamento semelhante nas linguiças com a adição de extrato de cogumelo, quando comparados ao controle.

Para a cor objetiva, os extratos que tiveram melhor efeito nos tratamentos foram o ELCR2 e ELCR3, apesar de não se diferenciarem-se ao final do armazenamento. A variação de cor dos embutidos frescos e cozidos durante o *shelf-life* tem a interferência de diversas variáveis, sendo que na maioria das formulações destes produtos cárneos, além de antioxidantes, também são adicionados corantes sintéticos e ou naturais com a finalidade de intensificar sua coloração.

4.1.7 Índice de peróxidos

Os resultados de índice de peróxidos dos tratamentos ao longo dos 30 dias ficaram dentro da faixa aceitável de 0 e 20 mEq/kg de amostra (MENTEN et al., 2003).

As médias dos tratamentos mostraram não haver diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos no 1º dia no índice de peróxidos (Tabela 8).

Tabela 8- Resultados do índice de peróxidos em mEq/kg das linguiças resfriadas nos tempos de armazenagem.

Tratamento	Índice de peróxidos (mEq/kg da amostra) *		
	1º dia	15º dia	30º dia
ELCR 1 (0,025%)	1,59 aA (±0,27)	6,60 aB (±0,14)	10,16 bC (±0,21)
ELCR 2 (0,05%)	1,91 abA (±0,41)	5,85 aB (±0,47)	9,32 cC (±0,41)
ELCR 3 (0,1%)	1,02 aA (±0,36)	4,91 bB (±0,45)	8,62 acC (±0,26)
ES	1,59 aA (±0,14)	6,35 aB (±0,09)	8,00 aC (±0,14)

*Médias (± desvio padrão) seguidas de mesmas letras minúsculas nas colunas e mesmas letras maiúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). Tratamentos com extrato: ELCR1 (0,025%), ELCR2 (0,05%), ELCR3 (0,1%), Controle: ES (0,025%). Fonte: elaborado pelo Autor (2017).

No 15º dia o ELCR3 apresentou diferença ($p < 0,05$) quando comparado com os demais tratamentos com ELCR e com o ES. No 30º dia, ELCR1 e ELCR2, apresentaram os maiores valores para o índice de peróxidos. No final do *shelf-life*, ELCR3 não apresentou diferença

($p > 0,05$) com o ELCR2 e com o controle. Todos os tratamentos apresentaram comportamento distinto ($p < 0,05$) quando analisados de forma individual, durante o *shelf-life*.

Constatou-se um aumento significativo ($p < 0,05$) para todos os tratamentos a partir do 15º dia, com valor máximo para o tratamento ELCR1 de 10,16 mEq/kg no 30º dia. Este aumento pode estar relacionado à taxa mais rápida de formação de peróxidos durante o armazenamento, que na degradação de peróxidos em produtos de oxidação secundária (BAZARGANI-GILANI; ALIAKBARLU; TAJIK, 2015), certamente por esse tratamento conter a menor concentração do ELCR.

Soares (2012) ao avaliar a linguiça tipo Toscana armazenada em diferentes embalagens, verificou não haver tendência à estabilização do índice de peróxidos (11,04 a 13,61 mEq/kg da amostra) no 28º dia de armazenamento. Qin (2013) constatou flutuações de valores entre 3,32 e 8,46 mEq/kg de amostra até os 12 dias de armazenagem dos produtos cárneos. Souza (2014) verificou a variação (30,71 a 154,94 mEq/kg da amostra) ao submeter linguiças a diferentes temperaturas de congelamento, até o 150º dia de armazenagem.

O índice de peróxidos é um método muito sensível, o que indica facilmente nos estágios iniciais do processo oxidativo, as alterações lipídicas com a deterioração de sabor e cor (SOUZA, 2014).

Até o 30º dia os tratamentos encontravam-se em fase de propagação de peróxidos, concluindo-se que as reservas de ácidos graxos insaturados ainda não haviam se esgotado e que após este período de estocagem, poderiam ser identificadas reações mais complexas responsáveis pelas características de odor e sabor rançoso, devido aos antioxidantes irem diminuindo sua ação ao longo do tempo.

Níveis muito baixos para o índice de peróxidos podem não ser os mais indicados para a avaliação da estabilidade oxidativa, podendo inclusive, ser sinônimo de degradação pronunciada. São poucos os trabalhos que avaliam o índice de peróxidos em embutidos cárneos (PAULA, 2013).

O declínio acontece no momento em que inicia a fase de degradação, sobretudo dos hidroperóxidos, formando produtos de baixo peso molecular (hidrocarbonetos, cetonas, aldeídos, álcoois e ácidos) responsáveis pelas alterações sensoriais. Os hidroperóxidos são responsáveis pela formação de substâncias (carbonilas), que reagem ao TBA sendo o MDA, o principal deles. Por essa razão a análise de TBARS, também é indicada para a avaliação da oxidação lipídica.

4.1.8 TBARS

Com o objetivo de avaliação da oxidação lipídica nas linguiças frescas tipo Toscana, analisou-se a presença de TBARS nos tratamentos, expressando os resultados em mg de MDA por kg de amostra.

Este teste quantifica o MDA, um dos principais produtos resultantes da decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poli-insaturados, formados durante o processo da oxidação. A Tabela 9 apresenta a evolução da reação de oxidação lipídica (TBARS) nos períodos analisados.

Tabela 9- Valores de TBARS da linguiça tipo Toscana refrigerada durante 30 dias.

Tratamento	TBARS (mg malonaldeído /kg) *		
	1º dia	15º dia	30º dia
ELCR 1	0,09 bA (±0,00)	0,07 bB (±0,00)	0,07 abB (±0,00)
ELCR 2	0,07 cA (±0,00)	0,10 cB (±0,00)	0,06 bA (±0,00)
ELCR 3	0,07 cA (±0,00)	0,05 dB (±0,00)	0,04 cB (±0,00)
ES	0,10 aA (±0,00)	0,06 aB (±0,00)	0,08 aC (±0,00)

*Médias (± desvio padrão) seguidas de mesmas letras minúsculas nas colunas e mesmas letras maiúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). Tratamentos com extrato: ELCR1 (0,025%), ELCR2 (0,05%), ELCR3 (0,1%), Controle: ES (0,025%). Fonte: elaborado pelo Autor (2017).

As médias dos tratamentos ELCR2 e ELCR3 não mostraram diferença significativa entre si ($p > 0,05$) no 1º dia. Do mesmo modo, no dia 30 entre os tratamentos ES e ELCR1 assim como ELCR2 e ELCR1 os resultados não foram significantes.

O acréscimo nas concentrações de ELCR aumentou ($p < 0,05$) a capacidade de eliminação de radicais causadores de oxidação lipídica, quando comparados ao ES, constatado também por outros autores (NEGI; JAYAPRAKASHA; JENA, 2003; NAVEENA et al. 2008).

Notou-se diferença significativa ($p < 0,05$) de TBARS nos tratamentos ELCR2 e ELCR3 e o controle em quase todos os períodos, mantendo as menores oscilações ao longo do armazenamento nas linguças com ELCR3.

Os valores mais baixos para o TBARS foram constatados em ELCR3 nos dias 15 e 30 (0,05 e 0,04 mg MDA/ kg, respectivamente). No 1º dia, os valores de TBARS estavam iguais ou próximos de 0,1 mg de MDA/kg, o que também foi constatado em outras pesquisas com produtos a base de carne (KIM et al., 2014; ALMEIDA et al., 2015). Nos tratamentos com extrato, fica evidente que no decorrer do *shelf-life* os valores permaneceram ou diminuíram, indicando considerável efeito antioxidante.

Os efeitos inibitórios da peroxidação lipídica do ELCR devem-se aos seus compostos fenólicos que apresentam atividade antioxidante, bloqueando as reações em cadeia de radicais livres (NEGI; JAYAPRAKASHA; JENA, 2003).

Os valores de TBARS, geralmente aumentam durante o prolongamento da estocagem de produtos cárneos, alcançando um valor máximo e depois declinando devido a reações adicionais do MDA com grupos amino (CHANNON; TROUT, 2002).

A quantidade e qualidade da gordura também contribuíram favoravelmente para os baixos valores de índice de peróxidos e TBARS, resultando em linguças com valores inferiores a 50% do limite estabelecido pela legislação.

Dessa forma, a oxidação lipídica pode ocorrer tão lentamente, que não chega a ser considerada um problema (SOARES, 2012).

Outras possíveis causas para os baixos valores de TBARS devem-se ao MDA reagir com uma larga escala de compostos ou então, pela formação de trienos ou dienos de MDA, diminuindo a quantidade de MDA livre para reagir com o TBA. Como consequência, os valores avaliados de TBARS poderão ser reduzidos ao longo do período (GATELLIER et al., 2007).

As diferenças podem aumentar, quando são adicionadas grandes quantidades de gordura e submetidas a um armazenamento mais prolongado e sem controle das condições de resfriamento ou congelamento, pois além de alterações oxidativas, outras reações de degradação proteica e de ordem microbiológica, podem ser identificadas com maior facilidade.

A faixa de percepção de odores de ranço possíveis de serem identificadas, por provadores treinados e não treinados, com TBARS, está entre 0,5 e 2,0 mg MDA/kg de amostra (GATELLIER et al., 2007; TRINDADE et al., 2009; ALMEIDA et al., 2015) sendo um valor estimado como aceitável para produtos a base de carne (MORAES; PINTO, 2013).

Já Monteiro (2013) relata que índices de TBARS de até 1,59 mg MDA/kg de amostra, são considerados baixos para serem percebidos em análise sensorial e também como agentes causadores de grandes malefícios a saúde, nestes níveis.

Os valores encontrados nas linguiças tipo Toscana, com ELCR e com o ES, foram menores que 0,5 mg MDA/kg, ou seja, não seriam perceptíveis sensorialmente durante o período de 30 dias de sob armazenamento resfriado ($5\pm 1^{\circ}\text{C}$).

Contudo, não há uma referência de limites de número de TBARS na legislação e nem consenso, pois a literatura trata de vários estudos onde foram relatados valores superiores (MAGGIONI et al., 2008; PAULA, 2013).

Vieira (2012) observou que linguiça tipo Toscana armazenada a 4°C obteve valores entre 0,02 e 0,093 mg MDA/kg até o 21º dia de armazenagem, nos diferentes tratamentos em que aplicou extrato de própolis. Qin (2013) constatou 0,41 e 1,07 mg MDA/kg até o 12º dia de armazenagem com suco e pó de casca de romã em carne suína moída. Busatta (2006) encontrou valores superiores de TBARS (0,806 a 1,27 mg MDA/kg), quando avaliou a adição de extratos de manjerona e orégano em linguiça tipo Toscana.

Paula (2013) avaliou linguiças tipo Toscana e obteve resultados entre 0,064-0,721 mg MDA/kg, durante os 35 dias de armazenamento em diferentes tipos de embalagens. Naveena et al. (2008) consideraram o extrato de casca de romã, como eficaz antioxidante, quando analisado em carne de frango, retardando a ação de rancidez oxidativa.

Outros extratos, também tiveram resultados semelhantes quando aplicados em produtos cárneos (DEVATKAL, NARSAIAH e BORAH, 2010; VIEIRA, 2012; PIOVESAN, 2012; MONTEIRO, 2013; MAHAJAN, BHAT, KUMAR, 2015).

Em alguns casos, na ausência de TBA, os extratos ácidos podem exibir um pico elevado de absorção a 532nm, resultando numa superestimação da extensão lipídica TBARS (GANHÃO; ESTÉVEZ; MORCUENDE, 2011). Isso ficou evidente quando se verificou o valor para ELCR2 no 15º dia.

Os valores de TBARS devem ser usados com cautela, pois a reação ao TBA, não é específica para o MDA, sendo que outros compostos também podem reagir (FIGUEIRÊDO et al, 2014).

A atividade dos compostos antioxidantes, não é influenciada apenas pelo seu percentual de inibição, mas também pela localização física do composto antioxidante em relação ao substrato oxidável, além de fatores externos. Um mesmo composto antioxidante pode apresentar capacidade antioxidante de forma distinta em outras matrizes alimentares (MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2017).

A oxidação lipídica é um dos principais fatores envolvidos na deterioração dos ácidos graxos insaturados em produtos cárneos (VIEIRA, 2012; MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2017). Assim, o tempo de conservação diminui à medida que a presença de dupla ligações aumenta (MAGGIONI, et al., 2008).

4.1.9 Análise sensorial

Para atender aos critérios de segurança microbiológica de consumo, os tratamentos foram submetidos às análises microbiológicas enquadrando os resultados, dentro dos limites aceitáveis pela legislação (BRASIL, 2001).

Os testes triangular e de aceitabilidade, foram aplicados no 28º dia após a fabricação das linguiças. Os extratos de casca de frutas são conhecidos por causarem a sensação de adstringência decorrente da precipitação das proteínas presentes na saliva durante a sua ingestão. Quando adicionados em determinadas quantidades nos alimentos, os taninos e compostos fenólicos presentes nas cascas de frutas poderão ser percebidos através de análise sensorial.

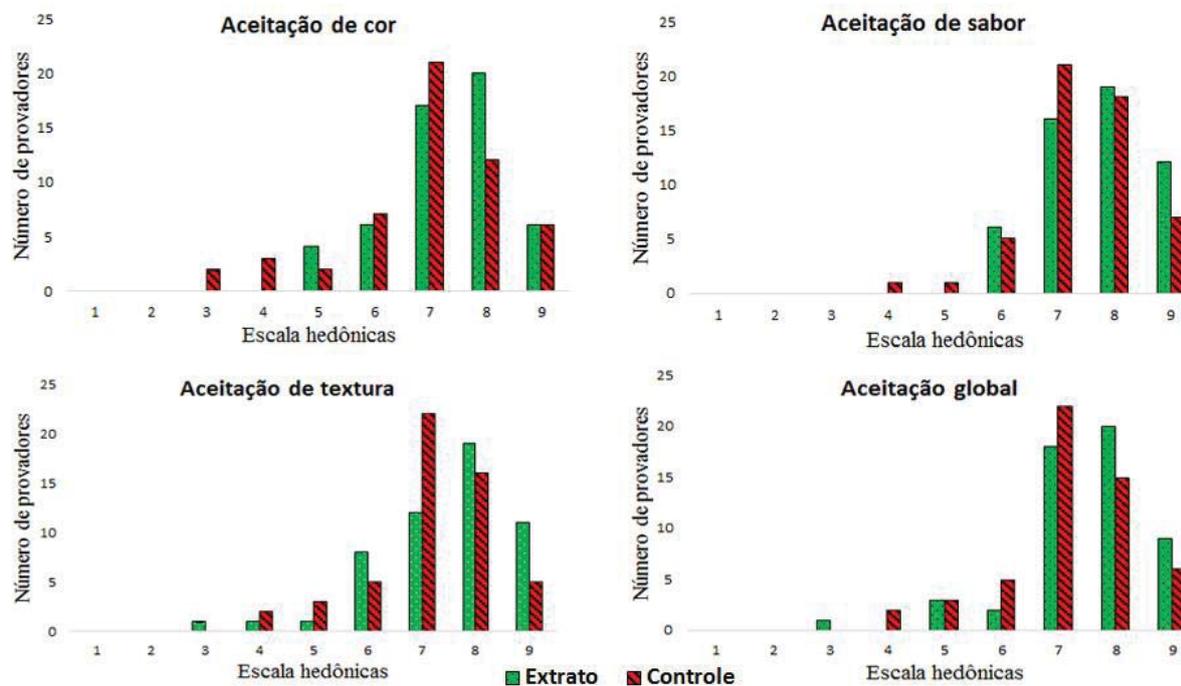
No teste triangular, os resultados indicaram que do total de 53 provadores não treinados, 30 (56,6%) não perceberam diferença entre o controle (ES) e com extrato (ELCR3), firmando que não há diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos.

Os índices de aceitabilidade não diferiram ($p > 0,05$) pelo teste de Mann-Whitney, sob os atributos sensoriais avaliados. Não foi possível identificar nenhum sabor desagradável, possíveis de indicar sinais de rancidez ou adstringência, que pudessem levar a rejeição das amostras pelos provadores.

Dessa forma, as linguiças com ELCR (0,01%) e ES (0,025%), foram igualmente aceitas. Outros autores obtiveram resultados semelhantes em seus trabalhos (DEVATKAL, NARSAIAH E BORAH 2010; BENEDICTI, 2014; ALMEIDA et al., 2015).

Apesar das diferenças estatísticas na avaliação pelo teste de aceitabilidade, não foram identificadas diferenças significativas em relação ao controle ($p > 0,05$) para o atributo cor. A aceitabilidade da cor foi satisfatória, com pontuação média atribuída para ELCR3 e ES de 7,56 e 7,26. Estes valores estão representados dentro de um intervalo de 7 (gostei moderadamente) e 8 (gostei muito) representados na Figura 7.

Figura 7 – Resultados de escala hedônica do teste de aceitabilidade de linguiças tipo Toscana contendo ES e ELCR3.



Escala hedônica: 1-Desgostei muitíssimo; 2-Desgostei muito; 3-Desgostei moderadamente; 4-Desgostei ligeiramente; 5-Não gostei/nem desgostei; 6-Gostei ligeiramente; 7-Gostei moderadamente; 8-Gostei muito; 9-Gostei muitíssimo. Fonte: elaborado pelo Autor (2017).

Com relação à aceitação global, observou-se que a maior média observada foi para o tratamento ELCR3(7,56) enquanto o controle ES (7,47), situando-se entre “gostei moderadamente” e “gostei muito”.

No teste de aceitabilidade realizado por Paula (2013), a partir do 28º dia seus provadores treinados, puderam identificar diferenças ($p < 0,05$) na rancificação nas linguiças armazenadas em diferentes tipos de embalagens.

Isso indica que os ELCR até a fração de 0,01% apresentam parâmetros sensoriais semelhantes ao controle, viabilizando sua aplicação como antioxidante.

5 CONCLUSÃO

A adição do extrato de casca de romã nas concentrações 0,05% e 0,1% em linguiças tipo Toscana reduziu a oxidação dos lipídios e mantiveram os escores sensoriais, indicando que o ELCR foi eficaz para retardar a oxidação lipídica.

Nas avaliações de estabilidade oxidativa na linguiça tipo Toscana, pela análise de índice de peróxidos e TBARS, as concentrações que tiveram os melhores resultados foram ELCR2 e ELCR3 até o 30º dia, indicando que o ELCR é superior ou equivalente ao ES.

As alterações lipídicas não foram significantes no período de 30 dias. O ELCR apresenta ação antioxidante com equivalência ao ES, sendo indicados como atuantes na inibição da oxidação lipídica para a linguiça tipo Toscana.

Para a linguiça tipo Toscana com até 12,23% de gordura, os tratamentos foram aceitos pelos consumidores, sem diferenciação significativa ($p > 0,05$) com a presença do ELCR, sobre os atributos avaliados em relação ao ES.

A embalagem a vácuo, condições de temperatura de armazenagem e baixo teor de gordura utilizada nas formulações, contribuíram para minimizar o processo oxidativo. O aperfeiçoamento das técnicas de extração e conservação destes extratos em escala industrial faz-se necessária, com a finalidade de manter suas características por um tempo mais prolongado.

A liofilização é importante pois preserva melhor os extratos sendo um método mais confiável apesar dos custos, minimizando as perdas por auto-oxidação e destruição das paredes celulares, além de prolongar a vida útil dos extratos quando conservados em condições herméticas e ao abrigo da luz.

O uso dos extratos de casca de romã como antioxidante em linguiças tipo Toscana mostra-se uma alternativa altamente promissora, melhorando além das características de estabilidade lipídica e sensorial, as características de funcionalidade do alimento, bem como, reduzindo os resíduos das indústrias alimentícias e conseqüentemente a poluição ambiental.

REFERÊNCIAS

ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual 2016**. Disponível em: <http://abpabr.com.br/storage/files/versao_final_para_envio_digital_1925a_final_abpa_relatorio_anual_2016_portugues_web1.pdf>. Acesso em: 14 fev. 2017.

AKHTAR, S. et al. Pomegranate peel and peel extracts: Chemistry and food features. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 174, p.417-425, maio 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.035>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614017646>>. Acesso em: 20 maio 2017.

ALMEIDA, P. L. de et al. Effect of jabuticaba peel extract on lipid oxidation, microbial stability and sensory properties of Bologna-type sausages during refrigerated storage. **Meat Science**, [s.l.], v. 110, p.9-14, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.06.012>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174015300401>>. Acesso em: 27 jan. 2018.

AL-SAID, F.A.; OPARA, L. U. ; AL-YAHYAI, R. A. Physico-chemical and textural quality attributes of pomegranate cultivars (*Punica granatum* L.) grown in the Sultanate of Oman. **Journal Of Food Engineering**, [s.l.], v. 90, n. 1, p.129-134, jan. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.06.012>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877408002859>>. Acesso em: 14 dez. 2016.

ALVES, C. Q. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, [s.l.], v. 33, n. 10, p.2202-2210, 2010. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422010001000033>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422010001000033>. Acesso em: 28 ago. 2016.

AMYRGIALAKI, E. et al. Optimization of the extraction of pomegranate (*Punica granatum*) husk phenolics using water/ethanol s. **Industrial Crops and Products**, [s.l.], v. 59, p.216-222, ago. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.05.011>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669014002763>>. Acesso em: 01 ago. 2016.

ANDRADE, K. S. **Avaliação das técnicas de extração e do potencial antioxidante e dos extratos obtidos a partir de casca e de borra de café (*Coffea arábica* L.)**. 2011. 132 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011. Disponível em: <

<http://www.pgeal.ufsc.br/files/2011/01/Dissertação-diagramada-Kátia.pdf>>. Acesso em: 18 jul. 2016.

ANDREO D. Avaliação da capacidade antioxidante do extrato de gengibre (*Gengiber officinale*) adicionado ao óleo. **Revista: Instituto Adolfo Lutz**, São José do Rio Preto, Sp, v. 66, n. 2, p.152-157, 2007. Disponível em: <<http://revistas.bvs-vet.org.br/rialutz/article/view/7706/7930>>. Acesso em: 18 jul. 2016.

AULTON, Michael E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 677 p.

BARROS, Z. M. P. **Cascas de frutas tropicais como fonte de antioxidantes para enriquecimento de suco pronto**. 2011. 85 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Scola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2011. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-22112011-143150/pt-br.php>>. Acesso em: 06 jul. 2017.

BAZARGANI-GILANI, B.; ALIAKBARLU, J.; TAJIK, H. Effect of pomegranate juice dipping and chitosan coating enriched with Zataria multiflora Boiss essential oil on the shelf-life of chicken meat during refrigerated storage. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [s.l.], v. 29, p.280-287, maio 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2015.04.007>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1466856415000752>>. Acesso em: 22 jan. 2018.

BUSATTA, C. **Caracterização química e atividade antimicrobiana in vitro e em alimentos dos extratos de orégano e manjerona**. 2006. 110 Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Ciências Agrárias, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Erechim, 2006. Disponível em: <http://www.uricer.edu.br/eal_hp/DissertPDF/Turma2004/DissertCassianoBusata-2006.pdf> Acesso em: 22 jun. 2017.

BASSO, C.; PIAIA, E. Extrato e casca de romã (*P. granatum*) na elaboração de pães. **Revista Higiene Alimentar**, Sorocaba, v. 29, n. 248/249, p.95-99, 2015.

BENEDICTI, C. M. **Produção de linguiça frescal (toscana) através de cura natural com extrato de aipo (*Apium graveolens*)**. 2014. 61 f. TCC (Graduação) - Curso de Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2014. Disponível em: <http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/2343/1/CM_COALM_2013_2_04.pdf>. Acesso em: 02 mai. 2017.

BOROSKI, M.; VISENTAINER, J. V.; COTTICA, S. M.; MORAIS, D. R. Antioxidantes Princípios e Métodos Analíticos, 1. ed. Curitiba, Appris, 2015.

BRASIL. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. Disponível em <<http://alimentusconsultoria.com.br/wp-content/uploads/2017/03/DECRETO-N%C2%BA-9.013-DE-29-DE-MAR%C3%87O-DE-2017.pdf>> Acesso em: 05 mai. 2017.

BRASIL. Instituto Adolfo Lutz. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 1ª edição digital; São Paulo, 2008, 1000p. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf>. Acesso em: 03 set. 2016.

BRASIL. Ministério Da Agricultura e do Abastecimento Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa Nº 04**. Publicação em 31 de março de 2000. Disponível em: <http://www.agais.com/normas/carne/carnes_linguica.htm> Acesso em 15 mai. 2016.

BRASIL. Resolução RDC nº 12, de janeiro de 2001. Aprova o “**Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**”. Órgão emissor: ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b> Acesso em: 09 out. 2017.

BRASIL. Resolução RDC nº 65, de 29 de novembro de 2011. Órgão emissor: ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <http://bvms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/res0065_29_11_2011.html>. Acesso em: 11 set. 2016.

BRASIL. Resolução RDC nº 123, de 04 de novembro de 2016. Órgão emissor: ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2858750/%281%29RDC_123_2016_.pdf/0c2f728c-458c-4ee6-bd32-2d5bbaa586d1>>. Acesso em: 20 jan. 2017.

BRUM, E.B. de. **Antioxidante natural de marcela (*Achyrocline satureioides*) e de erva mate (*Ilex paraguariensis*) na elaboração de linguiça tipo Toscana**. 2013. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Ciências Agrárias, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2009. Disponível em: <http://www.uricer.edu.br/cursos/arq_trabalhos_usuario/2448.pdf>. Acesso em: 25 dez. 2016.

CASAGRANDE, M. **Avaliação do potencial antioxidante de coprodutos de indústrias de suco de uva e de vinho visando sua aplicação em linguiça de frango**. 2014. 121 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e

Bioquímicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2014. Disponível em: <http://www.utfpr.edu.br/patobranco/estrutura-universitaria/diretorias/dirppg/pos-graduacao/mestrados/ppgtp/discentes/PB_PPGTP_M_CasagrandeMaira_2014.pdf>. Acesso em: 26 jul. 2016.

CAVALHEIRO, C. V. **Extração de compostos fenólicos assistida por ultrassom e determinação de ácidos graxos e minerais em folhas de *Olea europea* L.** 2013. 93 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013. Disponível em: <http://cascavel.ufsm.br/tede/tde_arquivos/22/TDE-2014-02-24T145837Z-4853/Publico/CAVALHEIRO, CAROLINE VIEGAS.pdf>. Acesso em: 14 fev. 2017.

CHANNON, H. A.; TROUT, G. R. Effect of tocopherol concentration on rancidity development during frozen storage of a cured and an uncured processed pork product. **Meat Science**, [s.l.], v. 62, n. 1, p.9-17, set. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0309-1740\(01\)00221-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0309-1740(01)00221-2). Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174001002212>>. Acesso em: 28 abr. 2017.

CHIAVARO, E. et al. Efficacy of different storage practices in maintaining the physicochemical and microbiological properties of fresh pork sausage. **Journal of Muscle Foods**, [s.l.], v. 19, n. 2, p.157-174, abr. 2008. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-4573.2008.00109.x>. Disponível em <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1745-4573.2008.00109.x/abstract>>. Acesso em 22 nov. 2017.

CHINI, S. O. et al. Procyanidins in Lotus L. genotypes grown in soil with different saturations of aluminum. **Semina: Ciências Agrárias**, [s.l.], v. 37, n. 1, p.85-93, 29 fev. 2016. Universidade Estadual de Londrina. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n1p85>. Disponível em: <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/19978>>. Acesso em: 24 fev. 2017.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. São Paulo: Artmed, 2010.

DEVATKAL, S. K.; NARSAIAH, K.; BORAH, A. Anti-oxidant effect of extracts of kinnow rind, pomegranate rind and seed powders in cooked goat meat patties. **Meat Science**, [s.l.], v. 85, n. 1, p.155-159, maio 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.12.019>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174009003994>>. Acesso em: 21 mai. 2017.

DIAMANTI, A. C. et al. Green extraction of polyphenols from whole pomegranate fruit using cyclodextrins. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 214, p.61-66, jan. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.072>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814616310949>>. Acesso em: 22 mai. 2017.

DUARTE-ALMEIDA, J. M. et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema betacaroteno/ácido linoléico e método de sequestro de radicais DPPH•. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [s.l.], v. 26, n. 2, p.446-452, jun. 2006. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0101-20612006000200031>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010120612006000200031&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em: 12 nov. 2016.

ELFALLEH, W. et al. Physico-chemical properties and DPPH-ABTS scavenging activity of some local pomegranate (*Punica granatum*) ecotypes. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, [s.l.], v. 60, n. 2, p.197-210, jan. 2009. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/09637480903067037>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19629823>>. Acesso em: 26 out. 2017.

EL-NASHI, HAFSSA B. et al. Quality characteristics of beef sausage containing pomegranate peels during refrigerated storage. **Annals Of Agricultural Sciences**, [s.l.], v. 60, n. 2, p.403-412, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aos.2015.10.002>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0570178315000378>>. Acesso em: 02 ago. 2016.

ESCLAPEZ, M. D. et al. Ultrasound-Assisted Extraction of Natural Products. **Food Engineering Reviews**, [s.l.], v. 3, n. 2, p.108-120, 3 maio 2011. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s12393-011-9036-6>. Disponível em: <<https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-79958046081&origin=inward&txGid=E139B2778B15E3E66F94A28A30D5572B.wsnAw8kcdt7IPYLO0V48gA:1>>. Acesso em: 19 jan. 2017.

ESTÉVEZ, M.; CAVA, R. Lipid and protein oxidation, release of iron from heme molecule and colour deterioration during refrigerated storage of liver pâté. **Meat Science**, [s.l.], v. 68, n. 4, p.551-558, dez. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.05.007>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174004001317>>>. Acesso em: 22 nov. 2017.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008. 652p.

FAVARETTO, A. **Aspectos alelopáticos, fitoquímicos e anatômicos do capim-annoni-2**. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade de Passo Fundo, 2014.

FERNANDES, R.P.P. et al. Assessment of the stability of sheep sausages with the addition of different concentrations of *Origanum vulgare* extract during storage. **Meat Science**, [s.l.], v. 137, p.244-257, mar. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.11.018>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174017301742>> Acesso em: 24 jan. 2018.

FERREIRA, A. C. B.; FONSECA, L. M. da SANTOS, W. L. M. dos. Composição centesimal e aceitação de linguiça elaborada com reduzido teor de gordura e adicionada de concentrados protéicos de soro de leite. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 01, p. 209-214, 2009. Jan.-fev.

FIGUEIRÊDO, B. C. et al. Effect of annatto powder and sodium erythorbate on lipid oxidation in pork loin during frozen storage. **Food Research International**, [s.l.], v. 65, p. 137-143, nov. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.07.016>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996914004931>>. Acesso em: 14 dez. 2016.

FISCHER, U. A.; CARLE, R.; KAMMERER, D. R. Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD–ESI/MSn. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 127, n. 2, p. 807-821, jul. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.156>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814611000707>>. Acesso em: 02 ago. 2016.

FREITAS, K. H. G.; FILHO, O. Simultaneous determination of butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT) in food samples using a carbon composite electrode modified with Cu₃(PO₄)₂ immobilized in polyester resin. **Talanta**, [s.l.], v. 81, n. 3, p.1102-1108, 15 maio 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2010.02.004>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914010001013>>. Acesso em: 22 nov. 2017.

GALAZ, P. et al. Effect of drum drying temperature on drying kinetic and polyphenol contents in pomegranate peel. **Journal Of Food Engineering**, [s.l.], v. 208, p. 19-27, set. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.04.002>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877417301425>>. Acesso em: 22 mai. 2017.

GANHÃO, R.; ESTÉVEZ, M.; MORCUENDE, D. Suitability of the TBA method for assessing lipid oxidation in a meat system with added phenolic-rich materials. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 126, n. 2, p.772-778, maio 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.064>. Disponível em <

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814610014822>> Acesso em: 11 dez. 2017.

GATELLIER, P. et al. Use of a fluorescence front face technique for measurement of lipid oxidation during refrigerated storage of chicken meat. **Meat Science**, [s.l.], v. 76, n. 3, p.543-547, jul. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.01.006>. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174007000241?via=ihub>> Acesso em: 07 nov. 2017.

GONZÁLEZ-MOLINA, E.; MORENO, D. A.; GARCÍA-VIGUERA, C. A new drink rich in healthy bioactives combining lemon and pomegranate juices. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 115, n. 4, p. 1364-1372, ago. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.056>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814609000983>>. Acesso em: 22 set. 2016.

GULLON, B. et al. Assessment of polyphenolic profile and antibacterial activity of pomegranate peel (*Punica granatum*) flour obtained from co-product of juice extraction. **Food Control**, [s.l.], v. 59, p. 94-98, jan. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.05.025>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713515002844>>. Acesso em: 12 jan. 2017.

GUO, C. et al. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. **Nutrition Research**, [s.l.], v. 23, n. 12, p. 1719-1726, dez. 2003. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nutres.2003.08.005>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0271531703001842>>. Acesso em: 06 fev. 2017.

HAMILTON, R. J. Oxidative rancidity as a source of off-flavours. **Taints And Off-flavours In Foods**, [s.l.], p. 140-161, 2003. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1533/9781855736979.140>. Disponível em < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781855734494500106>> Acesso em: 09 jun. 2017.

HASNAOUI, N.; WATHELET, B.; J.-ARAUJO, A. Valorization of pomegranate peel from 12 cultivars: Dietary fibre composition, antioxidant capacity and functional properties. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 160, p. 196-203, out. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.089>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614004804>>. Acesso em: 21 mai. 2017.

HENTZ, R. **Otimização da extração de antocianinas da casca da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) e avaliação da capacidade antioxidante.** 2015. 80 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2015. Disponível em: <http://www.uricer.edu.br/cursos/arq_trabalhos_usuario/2703.pdf>. Acesso em: 11 ago. 2016.

HUE, C. K. **O mercado de frios no Brasil: uma estimação da demanda a partir de um modelo AIDS em três estágios.** 2011. 62 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado Profissional em Finanças e Economia, Escola de Economia de São Paulo, Fundação Getúlio Vargas, São Paulo, 2011. Disponível em: <<http://bibliotecadigital.fgv.br/dspace/bitstream/handle/10438/8332/66080100267.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 06 ago. 2016.

IBGE. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. **Pesquisa de Orçamentos familiares: Aquisição alimentar domiciliar per capita.** Rio de Janeiro, 2010. 282p.

ISMAIL, T.; SESTILI, P.; AKHTAR, S. Pomegranate peel and fruit extracts: A review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects. **Journal Of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 143, n. 2, p. 397-405, set. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2012.07.004>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874112004734>>. Acesso em: 16 mar. 2017.

JARDINI, F. A. et al. Avaliação da atividade antioxidante do extrato hidroalcoólico da romã (*Punica granatum*, L.) sobre células da linhagem Caco-2. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [s.l.], v. 27, p. 80-83, ago. 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0101-20612007000500014>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612007000500014>. Acesso em: 11 mai. 2016.

JIANG, J.; XIONG, Y. L. Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: A review. **Meat Science**, [s.l.], v. 120, p. 107-117, out. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.04.005>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174016300973>>. Acesso em: 14 dez. 2016.

KADERIDES, K.; GOULA, A. M.; ADAMOPOULOS, K. G. A process for turning pomegranate peels into a valuable food ingredient using ultrasound-assisted extraction and encapsulation. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [s.l.], v. 31, p. 204-215, out. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2015.08.006>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1466856415001617>>. Acesso em: 06 jan. 2017.

KARAKAYA S. Bioavailability of Phenolic Compounds. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, [s.l.], v. 44, n. 6, p. 453-464, nov. 2004. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10408690490886683>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15615428>>. Acesso em: 12 ago. 2016.

KAZEMI, M. et al. Optimization of pulsed ultrasound-assisted technique for extraction of phenolics from pomegranate peel of Malas variety: Punicalagin and hydroxybenzoic acids. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 206, p. 156-166, set. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.017>. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814616303594>>. Acesso em: 22 mai. 2017.

KIM, H-W. et al. Effects of kimchi and smoking on quality characteristics and shelf life of cooked sausages prepared with irradiated pork. **Meat Science**, [s.l.], v. 96, n. 1, p.548-553, jan. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.08.023>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174013005081>>. Acesso em: 27 jan. 2018.

KIM, S.-J.; CHO, A. R.; HAN, J. Antioxidant and antimicrobial activities of leafy green vegetable extracts and their applications to meat product preservation. **Food Control**, [s.l.], v. 29, n. 1, p.112-120, jan. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.05.060>. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713512002940>>. Acesso em: 14 out. 2017.

KUFNER, D. E. **Atividade antioxidante do extrato aquoso de manjerona (*Origanum majorana* L.), em linguiça frescal de frango**. 2010. 56 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Ciências Agrárias, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2010. Disponível em: http://www.uricer.edu.br/cursos/arq_trabalhos_usuario/2123.pdf>. Acesso em: 11 ago. 2016.

KULKARNI, S. et al. Effect of grape seed extract on oxidative, color and sensory stability of a pre-cooked, frozen, re-heated beef sausage model system. **Meat Science**, [s.l.], v. 88, n. 1, p. 139-144, maio 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.12.014>. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174010004444>>. Acesso em: 14 dez. 2016.

KUSKOSKI, E. M. et al.. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n.4, p. 691-693, 2004.

KUSKOSKI, E. M. et al. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [s.l.], v. 25, n. 4, p. 726-732, dez. 2005. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0101-20612005000400016>. Disponível em:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612005000400016>. Acesso em: 02 ago. 2016.

LANSKY, E. P.; NEWMAN, R. A. *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and can. **Journal Of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 109, n. 2, p. 177-206, jan. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2006.09.006>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874106004570>>. Acesso em: 28 ago. 2016.

LI, J. et al. Chemical fingerprint and quantitative analysis for quality control of polyphenols extracted from pomegranate peel by HPLC. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 176, p.7-11, jun. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.040>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614019517>>. Acesso em: 27 jan. 2018.

LI, Y. et al. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 96, n. 2, p.254-260, maio 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.02.033>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814605001780>>. Acesso em: 14 out. 2017.

MAGALHÃES, L. M. et al. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. **Analytica Chimica Acta**, [s.l.], v. 613, n. 1, p.1-19, abr. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2008.02.047>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267008003863>>. Acesso em: 09 dez. 2016.

MAGGIONI, D., ROTTA, P. P., PRADO, R. M., ZAWADZKI, F., ITO, R. H., PRADO, I. N. Fatores que afetam a estabilidade da carne. **Revista Nacional da carne**. N 374, v.32, abril 2008.

MAHAJAN, D.; BHAT, Z.F.; KUMAR, S. Pomegranate (*Punica granatum*) rind extract as a novel preservative in cheese. **Food Bioscience**, [s.l.], v. 12, p.47-53, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2015.07.005>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2212429215300109>>. Acesso em: 11 jan. 2018.

MARANGONI, C.; MOURA, N. F. de. Antioxidant activity of essential oil from *Coriandrum Sativum* L. in Italian salami. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [s.l.], v. 31, n. 1, p. 124-128, mar. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0101-20612011000100017>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612011000100017>. Acesso em: 12 mar. 2017.

MARCHI, L. B. et al. Evaluation of antioxidant and antimicrobial capacity of pomegranate peel extract (*Punica granatum*) under different drying temperatures. **Chemical Engineering Transactions**. V.44, p. 121-126, mai. 2015. DOI:10.3303/CET 1544021. Disponível em : <<mailto:https://www.aidic.it/cet/15/44/021.pdf>>. Acesso em 09 nov. 2017.

MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. Influence of salt on lipid oxidation in meat and seafood products: A review. **Food Research International**, [s.l.], v. 94, p. 90-100, abr. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.02.003>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996917300558>>. Acesso em: 01 abr. 2017.

MELECCHI, M. I. S. **Caracterização química de extratos de Hibiscus tiliaceus L: estudo comparativo de métodos de extração**. 2005. Tese (Doutorado em Química), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005. Disponível em: <http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/6036?locale=pt_BR>. Acesso em 05 jun. 2017.

MELO, E. de A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 36, n. 1, p. 1-11, 2002.

MELO, E. de A. et al. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [s.l.], v. 26, n. 3, p.639-644, set. 2006. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0101-20612006000300024>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612006000300024>. Acesso em: 05 jun. 2017.

MENTEN, J.F.M., GAIOTTO, J.B. RACANICCI, A.M.C. **Valor nutricional e qualidade de óleos e gorduras para frangos de corte**. IN: Simpósio sobre manejo e nutrição de aves e suínos. Campinas SP. CBNA. p. 93-134, 2003.

MONTEIRO, S. S. **Caracterização química da casca de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.), avaliação de seus extratos e aplicação em linguiça de frango para aumento do shelf-life**. 2013. 91 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013. Disponível em: <<http://jararaca.ufsm.br/websites/ppgcta/48fa4714be3b1bc18496e95e574e0ef7.htm>>. Acesso em: 19 jul. 2016.

MORAES, K. de; PINTO, L. A. de A. Condições de secagem de uma pasta de anchoita modificada enzimaticamente na oxidação lipídica, lisina disponível e atividade antioxidante do produto. **Ciência Rural**, [s.l.], v. 43, n. 3, p.530-536, mar. 2013. FapUNIFESP (SciELO).

<http://dx.doi.org/10.1590/s0103-84782013005000008>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782013000300026> Acesso em: 10 nov. 2017.

MOREIRA, G. M. B. et al. Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico de *Punica granatum* Linn. sobre *Staphylococcus* spp. **Pesq. Vet. Bras.**, [s.l.], v. 34, n. 7, p. 626-632, jul. 2014. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-736x2014000700003>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2014000700003>. Acesso em: 11 ago. 2016.

MORSY, M. K.; MEKAWI, E.; ELSABAGH, R. Impact of pomegranate peel nanoparticles on quality attributes of meatballs during refrigerated storage. **Lwt**, [s.l.], v. 89, p.489-495, mar. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.022>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643817308411>>. Acesso em: 10 jan. 2018.

MORZELLE, M. C. Efeito neuroprotetor da casca de romã (***Punica granatum***). 2016. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016. doi: 10.11606/T.11.2016.tde-30092016-182359. Disponível em:< <mailto:http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-30092016-182359/pt-br.php> >. Acesso em: 15 fev. 2018.

MOURA, C. de. **Potencial antioxidante de extratos hidroalcoólicos de mirtilo, polpa de açaí e goji berry: efeito na estabilidade oxidativa e sensorial em queijo petit suisse**. 2016. 112 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Tecnologia de Processamentos Químicos e Bioquímicos, Centro Tecnológico, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2016. Disponível em: <http://www.utfpr.edu.br/patobranco/estrutura-universitaria/diretorias/dirppg/pos-graduacao/mestrados/ppgtp/discentes/PB_PPGTP_M_MOURACristiane_2016.pdf>. Acesso em: 21 mai. 2017.

NAVEENA, B. M . et al. Comparative efficacy of pomegranate juice, pomegranate rind powder extract and BHT as antioxidants in cooked chicken patties. **Meat Science**, [s.l.], v. 80, n. 4, p.1304-1308, dez. 2008. Elsevier BV.<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.06.005> . Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174008002064>>. Acesso em: 14 nov. 2017.

NEGI, P.S.; JAYAPRAKASHA, G.K.; JENA, B.S. Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 80, n. 3, p.393-397, mar. 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0308-8146\(02\)00279-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0308-8146(02)00279-0). Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814602002790>>. Acesso em: 06 dez. 2017.

NEORI, H. B. et al. Seasonal and cultivar variations in antioxidant and sensory quality of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit. **Journal Of Food Composition And Analysis**, [s.l.], v. 22, n. 3, p. 189-195, maio 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2008.10.011>. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157509000039>>. Acesso em: 14 dez. 2016.

OLIVEIRA, L. P. et al. Atividade citotóxica e antiangiogênica de *Punica granatum* L., Punicaceae. **Rev. Bras. Farmacogn.**, [s.l.], v. 20, n. 2, p. 201-207, maio 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-695x2010000200011>. Disponível em:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2010000200011>. Acesso em: 01 ago. 2016.

ORDÓÑEZ, J. A. et al. **Tecnologia de Alimentos - Alimentos de Origem Animal**. Porto Alegre: Artmed, 2005. v. 2, 279 p. .

ORGIL, O. et al. The antioxidative and anti-proliferative potential of non-edible organs of the pomegranate fruit and tree. **Lwt - Food Science And Technology**, [s.l.], v. 58, n. 2, p.571-577, out. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.03.030>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643814001807>>. Acesso em: 10 jan. 2018.

OSAWA, C. C.; FELÍCIO, P. E. de; GONÇALVES, L. A. G. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**, [s.l.], v. 28, n. 4, p. 655-663, ago. 2005. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422005000400019>. Disponível em:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422005000400019>. Acesso em: 12 ago. 2016.

OSÓRIO, J. C, S; OSÓRIO, M. T. M; SANUDO, C. Características sensoriais da carne ovina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, São Paulo, v.38, supl. esp, p.292-300, 2009.

OZGEN, M. et al. Chemical and antioxidant properties of pomegranate cultivars grown in the Mediterranean region of Turkey. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 111, n. 3, p. 703-706, dez. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.043>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608004950>>. Acesso em: 12 ago. 2016.

PARDI, M.C.; SANTOS, I.F. SOUZA, E.R. PARDI, H. S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. 2ª edição. Goiânia: UFG, 2007. 520p.

PATHIRANA, C. L.; SHAHIDI, F. Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 93, n. 1, p.47-56, nov. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.08.050> . Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814604006910>>. Acesso em: 11 out. 2016.

PAULA, R. de **Avaliação da estabilidade de linguiça tipo Toscana resfriada armazenada em embalagens com diferentes barreiras ao oxigênio**. 2013. 106 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Ciências Agrárias, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2013. Disponível em: <http://www.uricer.edu.br/cursos/arq_trabalhos_usuario/2448.pdf>. Acesso em: 11 ago. 2016.

PAULINO, F. de O. **Efeito da redução de gordura e substituição parcial de sal em linguiça suína tipo toscana**. 2005. 110 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, Ciências Agrárias, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2005. Disponível em: <http://www.uff.br/higiene_veterinaria/teses/flavia_paulino_completa_mestrado.pdf>. Acesso em: 07 ago. 2016.

PAZ, M. et al. Brazilian fruit pulps as functional foods and additives: Evaluation of bioactive compounds. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 172, p.462-468, abr. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.102>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614014782>>. Acesso em: 16 out. 2016.

PIOVESAN, N. **Extratos naturais de sementes de mamão papaya (carica papaya L.) e marcela (achyrocline satureioides) e avaliação da capacidade antioxidante e antimicrobiana em linguiça de frango**. 2012. 66 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012. Disponível em: <http://cascavel.ufsm.br/tede//tde_busca/arquivo.php?codArquivo=4531>. Acesso em: 14 jun. 2017.

POLÔNIO, M. L. T.; PERES, F.. Consumo de aditivos alimentares e efeitos à saúde: desafios para a saúde pública brasileira. **Cadernos de Saúde Pública**, [s.l.], v. 25, n. 8, p.1653-1666, ago. 2009. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-311x2009000800002>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2009000800002>. Acesso em: 25 nov. 2017.

QIN, Y.-Y. et al. Antioxidant effect of pomegranate rind powder extract, pomegranate juice, and pomegranate seed powder extract as antioxidants in raw ground pork meat. **Food Science And Biotechnology**, [s.l.], v. 22, n. 4, p.1063-1069, ago. 2013. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s10068-013-0184-8>. Disponível em: <

<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10068-013-0184-8.pdf> >. Acesso em: 19 dez. 2017.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Atividade antioxidante do α -tocoferol e do extrato de alecrim em óleo de soja purificado. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São José do Rio Preto, v. 65, n. 01, p. 15-20, 2006. Jan.-abr. Disponível em: <http://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/88415/ramalho_vc_me_sjrp.pdf?sequence=1>. Acesso em: 02 ago. 2016.

ROESLER, R. et al. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [s.l.], v. 27, n. 1, p. 53-60, mar. 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0101-20612007000100010>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612007000100010&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em 03 jun. 2017.

RUMMUN, N. et al. Bioactivity of Nonedible Parts of *Punica granatum* L.: A Potential Source of Functional Ingredients. **International Journal Of Food Science**, [s.l.], v. 2013, p. 1-12, 2013. Hindawi Publishing Corporation. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/602312>. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/ijfs/2013/602312/>>. Acesso em: 12 ago. 2016.

SADIA. 2004. Tabela nutricional da linguiça Toscana. Disponível em <<http://www.sadia.com.br/produtos/linguica-toscana-1kg>> acesso em 16 jul. 2016.

SALEH, E. A. et al. Effect of pomegranate peel powder on the hygienic quality of beef sausage. **Journal Of Microbiology, Biotechnology And Food Sciences**, [s.l.], v. 6, n. 6, p.1300-1304, 1 jun. 2017. Slovak University of Agriculture in Nitra. <http://dx.doi.org/10.15414/jmbfs.2017.6.6.1300-1304>. Disponível em: <mailto:https://www.researchgate.net/publication/317579028_Effect_of_pomegranate_peel_powder_on_the_hygienic_quality_of_beef_sausage>. Acesso em: 03 dez. 2017.

SANTIAGO, C.P. de A et al. **Caracterização e avaliação do teor de antocianinas do suco de romã (*Punica granatum* L.)**. III Simpósio Brasileiro de pós-colheita-SPC, 2011. Disponível em <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/915071/caracterizacao-e-avaliacao-do-teor-de-antocianinas-do-suco-de-roma-punica-granatum-l>> Acesso em 06 ago. 2016 .

SARCINELLI, F. M; VENTURINI, S. K; SILVA, C. L. Processamento da carne suína, Boletim técnico. UFES, Universidade Federal do Espírito Santo. p.1-7 , 2007.

SCHWERT, R. **Avaliação do uso de fumaça líquida em linguiça tipo calabresa cozida e defumada**. 2014. 125 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Ciências

Agrárias, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2014. Disponível em: <http://www.uricer.edu.br/cursos/arq_trabalhos_usuario/2599.pdf>. Acesso em: 11 ago. 2016.

SESTILI, P et al. Cytoprotective effect of preparations from various parts of *Punica granatum* L. fruits in oxidativel y injured mammalian cells in comparison with their antioxidant capacity in cell free systems. **Pharmacological Research**, [s.l.], v. 56, n. 1, p.18-26, jul. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2007.02.003>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1043661807000485>>. Acesso em: 10 set. 2017.

SILVA, N. K. **Extração de óleos vegetais a partir de coprodutos gerados na produção de vinhos e de suco de romã**. 2013. 106 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: <<http://objdig.ufrj.br/61/dissert/796814.pdf>>. Acesso em: 02 ago. 2016.

SOARES, J. M. **Avaliação da oxidação lipídica e protéica em linguiças calabresa e toscana**. **Dissertação**. 2012. 108 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Ciências Agrárias, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2012. Disponível em: <http://www.uricer.edu.br/cursos/arq_trabalhos_usuario/2164.pdf>. Acesso em: 11 ago. 2016.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 1, p.71-81, jan. 2002. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1415-52732002000100008>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52732002000100008>. Acesso em: 02 ago. 2016.

SOUZA, S. A. de **Avaliação dos efeitos de diferentes temperaturas de congelamento e armazenamento sobre as características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais de linguiça suína tipo frescal**. 2014. 61 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Ciências Agrárias, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Erechim, 2014. Disponível em: <http://www.uricer.edu.br/cursos/arq_trabalhos_usuario/2561.pdf> Acesso em: 16 set. 2017.

STEFANELLO, F. S. et al. Efeito da adição de extrato de cogumelo do sol em linguiça suína e avaliação da estabilidade oxidativa e microbiológica do produto. **Semina: Ciências Agrárias**, [s.l.], v. 36, n. 1, p.171-186, 26 fev. 2015. Universidade Estadual de Londrina. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2015v36n1p171>. Disponível em <<mailto:http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/16702/15884>> Acesso em 04 jul. 2017.

SUMNER, M. D. et al. Effects of Pomegranate Juice Consumption on Myocardial Perfusion in Patients With Coronary Heart Disease. **The American Journal Of Cardiology**, [s.l.], v. 96, n. 6, p. 810-814, set. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.amjcard.2005.05.026>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16169367>>. Acesso em: 12 ago. 2017.

TEHRANIFAR, A. et al. High potential of agro-industrial by-products of pomegranate (*Punica granatum* L.) as the powerful antifungal and antioxidant substances. **Industrial Crops And Products**, [s.l.], v. 34, n. 3, p. 1523-1527, nov. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.05.007>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669011001415>>. Acesso em: 06 abr. 2017.

TELES, D.G.; COSTA, M. M. Estudo da ação antimicrobiana conjunta de extratos aquosos de Tansagem (*Plantago major* L., Plantaginaceae) e Romã (*Punica granatum* L., Punicaceae) e interferência dos mesmos na ação da amoxicilina in vitro. **Rev. Bras. Plantas Med.**, [s.l.], v. 16, n. 2, p. 323-328, 2014. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/1983-084x/11_123. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722014000500003>. Acesso em: 11 ago. 2016.

TERRA, A. B. M.; FRIES, L. L. M.; TERRA, N. N. **Particularidades na fabricação de salame**. São Paulo: Livraria Varela, 2004. 152 p.

TRINDADE, M.P; FONSECA, L.; JUIZ, P. J. L. Atividade antimicrobiana da tintura da casca de romã (*Punica granatum*) sobre cepas de *Staphilococcus aureus* e *Streptococcus pyogenes*: estudo in vitro. **Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde**, v.11, n.4, p.49-54, 2009.

TURGUT, S. S.; SOYER, A.; İŞIKÇI, F. Effect of pomegranate peel extract on lipid and protein oxidation in beef meatballs during refrigerated storage. **Meat Science**, [s.l.], v. 116, p. 126-132, jun. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.02.011>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26878610>>. Acesso em: 02 ago. 2017.

VIEIRA, V. B. **Obtenção do extrato de própolis assistida por micro-ondas, aplicação em linguiça tipo Toscana e avaliação da sua capacidade antioxidante**. 2012. 79 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012. Disponível em: <http://cascavel.ufsm.br/tede/tde_arquivos/22/TDE-2013-02-07T115421Z-3998/Publico/VIERA, VANESSA BORDIN.pdf>. Acesso em: 07 ago. 2016.

VYNCKE, W. Direct Determination of the Thiobarbituric Acid Value in Trichloroacetic Acid Extracts of Fish as a Measure of Oxidative Rancidity. **Fette, Seifen, Anstrichmittel**, [s.l.], v. 72, n. 12, p.1084-1087, 1970. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1002/lipi.19700721218>.

Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/lipi.19700721218/abstract>>. Acesso em: 03 jun. 2017

WU, J. et al. Pomegranate peel (*Punica granatum* L) extract and Chinese gall (*Galla chinensis*) extract inhibit *Vibrio parahaemolyticus* and *Listeria monocytogenes* on cooked shrimp and raw tuna. **Food Control**, [s.l.], v. 59, p. 695-699, jan. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.06.050>. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/280579830_Pomegranate_peel_Punica_granatum_L_extract_and_Chinese_gall_Galla_chinensis_extract_inhibit_Vibrio_parahaemolyticus_and_Listeria_monocytogenes_on_cooked_shrimp_and_raw_tuna>. Acesso em: 12 ago. 2016.

YORDI, E. G. et al. Antioxidant and Pro-Oxidant Effects of Polyphenolic Compounds and Structure-Activity Relationship Ev. **Nutrition, Well-being And Health**, [s.l.], p. 1-27, 23 fev. 2012. InTech. <http://dx.doi.org/10.5772/29471>. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/221925400_Antioxidant_and_Pro-Oxidant_Effects_of_Polyphenol>. Acesso em: 06 ago. 2017.

APÊNDICE A – Artigo científico

Extrato liofilizado da casca de romã (*Punica granatum* L.) como antioxidante natural em Linguiça tipo toscana**Lyophilized extract of pomegranate peel (*Punica granatum* L.) as a natural antioxidant in Tuscan sausage**

Gilberto Rogério Zago^{I*}, Elci Lotar Dickel^{II}, Charise Dallazem Bertol^{III} Laura Beatriz Rodrigues^I, Denise Bilibio^V, Luciana Daroit^{IV}, Luciana Ruschel dos Santos^I

^I Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos/PPGCTA – Universidade de Passo Fundo/UPF, BR 285, CEP 99052-900 – Passo Fundo, RS, Brasil. *e-mail: <mailto:gilberto.zago@yahoo.com.br>

^{II} Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, UPF – Passo Fundo, RS, Brasil.

^{III} Faculdade de Farmácia, UPF – Passo Fundo, RS, Brasil.

^{IV} Faculdade de Engenharia e Arquitetura, UPF – Passo Fundo, RS, Brasil.

^V Instituto Federal do Rio Grande do Sul- IFRS – Sertão, RS, Brasil.

RESUMO

As linguiças representam os produtos cárneos industrializados mais consumidos. Entre os antioxidantes utilizados, os naturais apresentam-se promissores, pois conferem aumento da atividade antioxidante e das propriedades funcionais do alimento. A romã (*Punica granatum* L.) apresenta alta concentração de compostos fenólicos e capacidade antioxidante, sendo que a casca compõe aproximadamente 50% da fruta. Este trabalho objetivou avaliar os efeitos do extrato liofilizado de casca de romã em diferentes concentrações (0,025, 0,05 e 0,1%), em linguiças tipo Toscana embaladas à vácuo por 30 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$, com iluminação por 12 horas/dia, simulando uma gôndola de supermercado, comparando com linguiças preparadas com eritorbato de sódio. As cascas foram secas em estufa e moídas. A extração aquosa, foi realizada em banho de ultrassom e após o extrato foi

lioofilizado. Foram quantificados os fenóis e flavonoides totais e a capacidade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS dos extratos de casca de romã. As linguiças tipo Toscana, seguiram o regulamento técnico de identidade e qualidade. Nas linguiças tipo Toscana, foram determinadas a composição centesimal de cada tratamento. No 1^o, 15^o e 30^o dias, os tratamentos foram acompanhados através de análises de pH, cor, índice de peróxidos e TBARS. Os tratamentos com 0,05 e 0,1% do extrato apresentaram os melhores resultados para o TBARS. O extrato liofilizado de casca de romã possui ação antioxidante mesmo em baixas concentrações, mantendo-se equivalente ao eritorbato de sódio. A análise sensorial foi semelhante entre as linguiças com o extrato e com o eritobarto. Os valores de pH, índice de peróxidos e TBARS mantiveram-se ao longo do tempo nas amostras, sendo que as preparadas com o extrato apresentaram os menores valores de peroxidação lipídica pelo TBARS. O uso da casca do romã como

antioxidante natural de linguiças Tipo Toscana mostra-se promissor devido ao aumento da estabilidade lipídica, propriedades funcionais e reaproveitamento de resíduos alimentícios.

Palavras-chave: *antioxidante, eritorbato de sódio, romã, análise sensorial, linguiça.*

INTRODUÇÃO

Nos produtos cárneos, os lipídios conferem características desejáveis como sabor, suculência, valor nutricional e aroma. Complexa e de difícil controle, a oxidação lipídica leva os alimentos cárneos ao estado de rancificação, com a produção de compostos indesejáveis, reduzindo a vida útil e a aceitabilidade para o consumo por parte dos consumidores.

A deterioração microbiológica e a oxidação lipídica são as maiores causas de perdas de qualidade nos alimentos e seu controle é um desafio constante (MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2017).

Devido a sua praticidade de preparo até o consumo, as linguiças destacam-se entre os processados cárneos de maior comercialização. Entende-se por linguiça, o produto cárneo industrializado, obtido de carnes de animais de açougue, adicionados ou não de tecidos adiposos, ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial, e submetido ao processo tecnológico adequado. Define-se como linguiça tipo Toscana, o produto cru

curado obtido exclusivamente de carnes suína, adicionada de gordura suína e ingredientes (BRASIL, 2000).

Como alternativa tecnológica para ampliar a vida útil das carnes e seus derivados, está o emprego de compostos antioxidantes de fontes naturais, que, também são considerados agentes promotores de saúde (JIANG; XIONG, 2016).

A romã (*Punica granatum* L.) se destaca pelas altas concentrações de compostos fenólicos e antioxidantes. Nos países de maior produção, esta fruta é processada na forma de suco e suas cascas desprezadas como resíduo industrial. O potencial antioxidante e antimicrobiano encontrando-se distribuídos em toda a planta (GONZÁLEZ-MOLINA et al., 2009; LANSKY, 2007; FISCHER, 2011; TEHRANIFAR et al., 2011).

A casca possui maiores quantidades de compostos nutricionais e bioativos, quando comparada com as partes comestíveis e com outras frutas (SESTILI et al., 2007; ORGIL et al., 2014), e por isso, representa um resíduo de elevado potencial para as indústrias farmacêuticas, de cosméticos e de alimentos (AMYRGIALAKI et al., 2014).

O presente estudo objetivou desenvolver linguiças tipo Toscana com extrato liofilizado de casca de romã e avaliar o potencial deste antioxidante em

retardar as reações de oxidação lipídica e nas propriedades sensoriais após armazenamento por 30 dias.

MATERIAL E MÉTODOS

As romãs foram lavadas, higienizadas, pesadas inteiras, cortadas em pedaços e separadas em casca, polpa e sementes para os cálculos de rendimento.

As cascas, foram seccionadas em pedaços de cerca de 3 cm, e secas em estufa (Splabor SPL 102) com circulação e renovação de ar a $40\pm 5^{\circ}\text{C}$ por 72 horas. Após, foram novamente pesadas e trituradas em micro moinho tipo ciclone (Marconi, MA-020), com peneira de malha de 20 *mesh*. O pó obtido foi acondicionado em frasco hermético, em temperatura ambiente até a extração dos compostos fenólicos.

A extração dos compostos fenólicos foi realizada conforme Cavalheiro (2013), através de banho de ultrassom em potência de 40 KHz durante 2 horas a temperatura máxima de 40°C . A solução resultante foi caracterizada como Extrato Aquoso de Casca de Romã (EACR). Na sequência, realizou-se o congelamento em ultrafreezer (marca ColdLab CL 600-80) durante 24 horas a -70°C ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) para a liofilização no equipamento (marca Terroni LS 3000), com duração total de 26 horas.

O produto foi denominado como Extrato Liofilizado de Casca de Romã (ELCR), sendo acondicionado em recipiente hermético, ao abrigo da luz e em temperatura ambiente.

A quantificação de fenóis totais dos EACR e ELCR foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu (ROESLER et al, 2007). Os valores foram expressos em mg de ácido gálico (GAE)/g de extrato. As absorbâncias foram medida em espectrofotômetro (marca SHIMADZU UV 1800) a 760 nm.

Para a determinação dos flavonoides totais, utilizou-se a catequina na construção da curva analítica, com leituras de absorbância a 510 nm. Para a formação do complexo AlCl_3 - flavonoide, foram adicionados em tubos de ensaio, 2 mL de H_2O , 500 μL do extrato aquoso, 150 μL de NaNO_2 . Os resultados foram expressos em equivalentes de catequina (mg catequina/g).

O ensaio para a determinação da atividade sequestradora do radical 2,2-difenil-1 picril hidrazil (DPPH), foi realizado conforme proposto por Roesler et al. (2007) e para a determinação da atividade antioxidante pelo método da captura do radical ABTS ((2,2'-azino-bis(3-etil-benzotiazolina-6-sulfônico)), conforme metodologia descrita por Re et

al. (1999) modificada por Kuskoski et al. (2004).

O processo de elaboração das linguiças seguiu o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade, discriminado na Instrução Normativa de nº 4 (BRASIL, 2000). Os tratamentos com ELCR 0,025% (ELCR1), 0,05% (ELCR2), e 0,1% (ELCR3) e o controle com eritorbato de sódio (ES), na concentração de 0,025%, foram preparados de maneira individual, mas com o mesmo padrão de massa cárnea.

Após o embutimento, foram embaladas à vácuo em pequenas porções e armazenadas sob refrigeração a 5 °C ($\pm 1^\circ\text{C}$) e com iluminação por 12 horas/dia, simulando uma gôndola de supermercado.

Uma amostra de cada tratamento foi avaliada em triplicata, nos tempos pré-determinados de 1, 15 e 30 dias para: composição centesimal, pH, cor objetiva, índice de peróxidos, e TBARS.

A determinação do índice de peróxidos foi realizada segundo metodologia Adolfo Lutz (2008) e os resultados expressos em meq por kg da amostra.

Para determinação do índice de TBARS, foi utilizado o método espectrofotométrico descrito Vincke (1970) e adaptado por Marangoni e Moura (2011). Os resultados para o ácido 2-

Tiobarbitúrico, foram expressos em mg de malonaldeído por kg de amostra.

As linguiças contendo ELCR3 (0,1%) e com ES (0,025%), foram submetidas a análise sensorial. A análise sensorial foi realizada através do teste discriminativo triangular e afetivo de aceitabilidade, aplicados em sequência com 53 provadores não treinados, no 28º dia após a fabricação das linguiças.

Os resultados foram tratados estatisticamente pela análise de variância ANOVA (com teste de normalidade) e teste de Tukey ($p > 0,05$) e, para os resultados da análise sensorial, utilizou-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney.

RESULTADOS

O ELCR apresentou rendimento final de 18,96% em relação ao total das cascas. Rendimentos semelhantes a esses também foram obtidos por outros autores após a liofilização: 25,96% para a casca de romã, 23,06% casca de maçã; 15,63 % casca de uva e 11,85 % da casca de buriti (Barros, 2011)) e 39,6% ($\pm 1,5$) para a cascas de romã (MARCHI, 2015).

Para o extrato na forma aquosa, os resultados de polifenóis e flavonoides totais foram de 66,14 mg GAE/g e 6,84 mg equivalentes de catequina/g de extrato. O percentual de inibição dos ensaios de

ABTS e DPPH foram de 99,3% e 91,70 %, respectivamente.

No extrato liofilizado, os resultados de polifenóis e flavonoides totais foram de 89,52 mg GAE/g e 12,05 mg equivalentes de catequina/g de extrato e o percentual de inibição nos ensaios de ABTS e DPPH os percentuais de inibição foram de 98,7% e 90,21 %, respectivamente.

Os extratos possuem ação antioxidante, com alta eficiência em sequestrar os radicais livres, sendo que o liofilizado obteve as maiores concentrações de polifenóis e flavonoides totais, indicando que o processamento concentra os compostos ativos, sendo comparável ou superior ao de outros estudos com frutas (ALMEIDA et al., 2015), confirmando o extrato de casca de romã como fonte de antioxidantes naturais, outros autores relatam quantidades de GAE/g para a casca do romã que variam de 42,16 mg GAE/g a 320,26 mg GAE/g. (DIAMANTI et al.; GALAZ et al., (2017); KAZEMI et al., (2016); ELFALLEH et al., (2009); HASNAOUI et al., (2014); LI et al., (2006). Morsy, Mekawi e Elsabagh, (2018) encontraram para o extrato da casca, cerca de 215,2 mg GAE/g (base seca) e 205,07 a 261,70 mg GAE/g no extrato aquoso de casca de romã.

Em processados a base de carne de cabra o efeito antioxidante do extrato da casca do romã foi superior aos extratos da

casca de frutas cítricas e pó de sementes (DEVATKAL, NARSAIAH E BORAH, 2010). A elevada capacidade antioxidante da casca de romã, também foi relatada por outros autores (FISCHER et al 2011; BARROS, 2011).

As variações encontradas nas pesquisas estão relacionadas às diferentes técnicas de extração, solventes empregados, tempo e temperatura utilizados, entre outros. A água, como solvente extrator elimina a necessidade de posteriores purificações e possíveis riscos na aplicação dos extratos em alimentos.

Fatores como variedade da fruta, condições de adubação, solo, clima, exposição solar, estágio de maturação, entre outras, influenciam nestas discrepâncias de resultados. O arranjo das duplas ligações e o número de hidroxilas presentes nas moléculas dos polifenóis, incluindo flavonoides e taninos hidrolisáveis contribuem para as oscilações encontradas na atividade antioxidante, além do sinergismo químico entre os diversos compostos da casca (BARROS, 2011).

Não foram encontradas diferenças significativas ($p > 0,05$) na composição centesimal, nos tratamentos de linguiça tipo Toscana, conforme a Tabela 1.

Tabela 1 - Resultados da composição centesimal das linguças tipo Toscana.

Tratamento	Proteína (%) *	Gordura (%) *	Umidade (%) *	Cinzas (%)
ELCR 1	25,61 ±1,50 ^a	9,93 ±1,74 ^a	61,24 ±3,63 ^a	2,38 ±0,67 ^a
ELCR 2	24,88 ±0,86 ^a	11,53 ±1,03 ^a	59,36 ±2,89 ^a	2,60 ±0,19 ^a
ELCR 3	23,95 ±1,85 ^a	11,15 ±2,83 ^a	59,27 ±1,91 ^a	2,89 ±0,14 ^a
ES	25,18 ±1,18 ^a	12,23 ±1,76 ^a	58,78 ±1,46 ^a	2,82 ±0,11 ^a
Limites**	12 (mín.)	30 (máx.)	70 (máx.)	

*Médias seguidas de mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). **Limites estabelecidos pela IN 04 (BRASIL, 2000). Tratamentos com extrato: ELCR1 (0,025%), ELCR2 (0,05%), ELCR3 (0,1%), ES (0,025%); Controle: ES (0,025%).

A homogeneização adequada das matérias-primas, durante o preparo das massas de linguça tipo Toscana colaborou para esses resultados. O teor de gordura dos ensaios foi inferior a 50% do limite máximo estabelecido pela legislação. Os resultados de composição centesimal, atendem ao padrão de identidade e qualidade de linguças frescas (BRASIL, 2000).

Os teores de proteína estiveram acima dos limites mínimos exigidos pela legislação (BRASIL, 2000).

Os valores de umidade estão próximos aos encontrados por El-Nashi (2015) quando aplicou o pó da casca de romã em linguça bovina (58,82 a 61,89%) armazenadas a 4° C ±2 durante 12 dias.

As médias de pH entre os tratamentos (Tabela 2) oscilaram de 6,16 a 5,66 durante o tempo de armazenamento.

Tabela 2 - Resultados do pH da linguça tipo Toscana durante o tempo de armazenagem.

Tratamento	pH*		
	1° dia	15° dia	30° dia
ELCR1	6,03±0,01 ^{abA}	5,56±0,01 ^{abB}	5,21±0,02 ^{aC}
ELCR2	6,03±0,05 ^{abcA}	5,59±0,01 ^{acB}	5,21±0,00 ^{aC}
ELCR3	6,05±0,05 ^{bA}	5,60±0,01 ^{cb}	5,20±0,01 ^{aC}
ES	6,03±0,05 ^{aA}	5,57±0,05 ^{aB}	5,21±0,01 ^{aC}

*Médias ± (desvio padrão) seguidas de mesmas letras minúsculas nas colunas e mesmas letras maiúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). Tratamentos com extrato: ELCR1 (0,025%), ELCR2 (0,05%), ELCR3 (0,1%), ES (0,025%); Controle: ES (0,025%). **Limites estabelecidos pela IN 04 (BRASIL, 2000)

Verifica-se que os tratamentos apresentaram comportamento semelhante entre si ($p > 0,05$). Quando comparados entre si, no 1° dia de estocagem, ELC3 apresentou diferença significativa

($p < 0,05$), em relação ao controle (ES), repetindo-se no 15° dia.

Estes valores, estão de acordo com a faixa (6,8-5,2) para produtos cárneos estabelecida (DUARTE-ALMEIDA et al. 2006). Saleh et al. (2017) obteve o

resultados dentro desta faixa (6,27-5,73) para os embutidos utilizando o pó de casca de romã. Nos embutidos em que utilizaram pó de casca de romã em diferentes concentrações, El-Nashi et al. (2015) não encontraram significância ($p>0,05$), durante o período de armazenamento.

Paula (2013) observou o decréscimo de pH (6,15-5,23) em linguiça tipo Toscana até o último dia de estocagem, ao testar diferentes tipos de embalagens, nas mesmas condições de temperatura. Do mesmo modo, o pH declinou de 5,88 a 5,61 com a adição de pó de casca de romã em carne suína (QIN et al., 2013). Naveena et al. (2008) relataram não haver diferença significativa no pH, quando aplicaram extrato de suco de romã em empanados de frango. Kufner (2010) observou aumento de pH (5,9-6,3) em linguiças de frango, quando adicionou extratos de manjerona nos seus tratamentos até o 21º dias de estocagem.

Monteiro (2013) relatou que a diminuição no pH das linguiças, pode estar relacionada com a fermentação durante o período de armazenamento, ocasionada entre outras, pela adição de glicose ou açúcar na formulação, podendo haver naturalmente, a presença de frutose nos extratos.

O declínio gradual do pH, pode ser atribuído à temperatura de estocagem ($5^{\circ}\text{C}\pm 1$) e a barreira ao oxigênio, formada

com a embalagem a vácuo, resultando em reações mais lentas de degradação do glicogênio e formação de ácido láctico. A homogeneização das massas cárneas, padronização, refrigeração e a embalagem a vácuo, também tornaram as linguiças menos susceptíveis as alterações microbiológicas e alterações de pH, sendo considerados satisfatórios para este tipo de produto, pois de acordo com a legislação vigente (BRASIL 2000) não há especificação exata para esta variável.

As alterações de pH, são mais facilmente percebidas quando encontram-se dentro de uma faixa maior de variação, principalmente em outros tipos de embutidos cárneos, como os curados e maturados, interferindo na qualidade e *shelf-life*.

Ao analisar o valor de luminosidade L^* , observou-se que todos os tratamentos com extrato liofilizado de casca de romã apresentaram diferença ($p<0,05$), quando comparadas entre si e com o controle no início da armazenagem (Figura 1).

Tratamentos com ELCR2 e ELCR3, não diferem entre si ($p>0,05$) no 15º e 30º dias e ELCR1 manteve-se semelhante ao controle no 30º dia.

Estévez et al. (2005) constataram em salsichas armazenadas por período de 60 dias, que quando não aplicou extratos de alecrim, o valor de L^* aumentava para

os tratamentos durante o tempo de estocagem.

Para o índice a^* , houve descoloração (FERNANDES et al., 2018) nos tratamentos com extrato de casca de romã (Figura 1), diferenciando-se do controle ($p < 0,05$) durante o armazenamento resfriado.

A estabilidade apresentada por ELCR2 e ELCR3 para a^* , foram equivalentes no dia 30, contudo, não manteve os mesmos níveis do ES para a coloração vermelha para as linguças. A cor dos embutidos cárneos, em muitas situações é mantida por tecnologias que empregam o uso de corantes. No presente estudo, estes ingredientes não foram utilizados, visando observar somente a capacidade do eritorbato de sódio e do extrato liofilizado de casca de romã sob os atributos de cor.

No parâmetro de cor b^* , os tratamentos apresentaram comportamentos distintos durante o *shelf-life*, onde ELCR2 e ELCR3 não apresentaram diferença ($p > 0,05$) entre si no 15º e 30º dia.

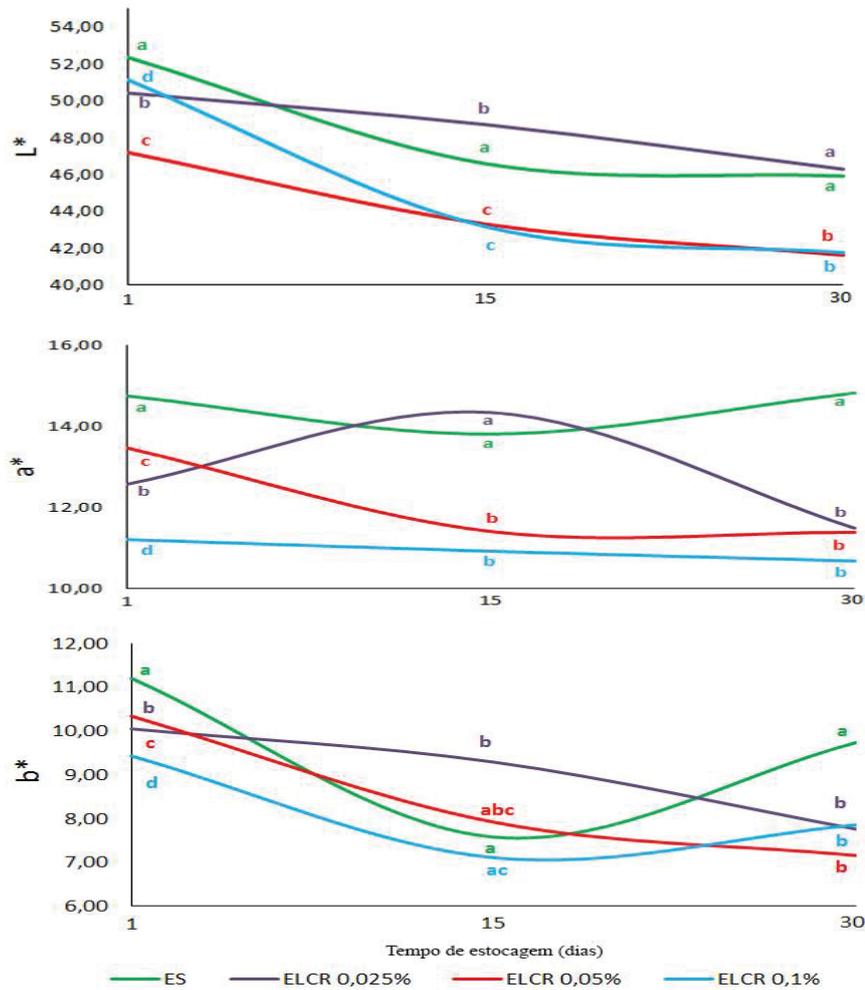
As alterações entre os parâmetros de cor dos produtos cárneos, são consequência da oxidação lipídica e alterações do pigmento nitrosohemocromo acelerados pela ação da luz, resultando em moléculas orgânicas (porfirinas) de coloração verde, amarelas ou incolores, que possuem no centro de sua estrutura,

um espaço para acomodação de um íon metálico.

A luz, acelera o processo de descoloração dos produtos cárneos através da indução da dissociação do óxido nítrico da estrutura dos pigmentos de hemoglobina, sendo agravados ainda mais pela exposição dos produtos em balcões iluminados nos pontos de venda (PAULA, 2013). Apesar das diferenças estatísticas, na avaliação pelo teste de aceitabilidade, não foram identificadas diferenças significativas em relação ao controle ($p > 0,05$) para o atributo cor.

Para a cor objetiva, os extratos tiveram melhor efeito, nos tratamentos foram ELC2 e ELCR3, apesar de não diferenciarem-se ao final do armazenamento. A variação de cor dos embutidos frescos e cozidos durante o *shelf-life*, tem a interferência de diversas variáveis, sendo que na maioria das formulações destes produtos cárneos, além de antioxidantes, também são adicionados corantes sintéticos e ou naturais, com a finalidade de intensificar sua coloração.

Figura 1 – Evolução dos parâmetros de cor durante o período de estocagem das linguiças tipo Toscana.

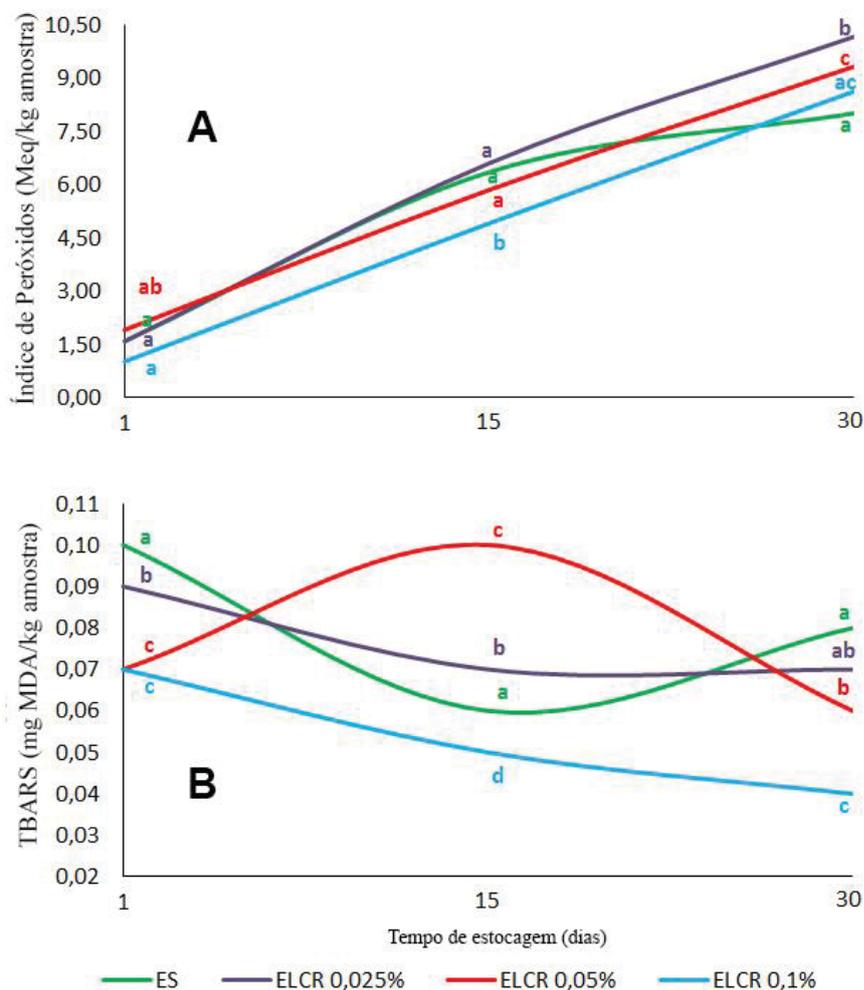


Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

O índice de peróxidos mostrou não haver diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos no 1º dia. No 15º dia o ELCR3 apresentou diferença ($p < 0,05$) quando comparado com os demais tratamentos. No 30º dia, ELCR1 e ELCR2, apresentaram os maiores valores para o índice de peróxidos.

No final do *shelf-life*, ELCR3 não apresentou diferença ($p > 0,05$) com o ELCR2 e com o controle (Figura 2).

Figura 2 – Evolução do índice de peróxidos (A) e TBARS (B) nos tratamentos de linguiça tipo Toscana durante o armazenamento.



Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Constatou-se um aumento significativo ($p < 0,05$) para todos os tratamentos a partir do 15º dia, com valor máximo para ELCR1 de 10,16 meq/kg da amostra. Este aumento, pode ser a taxa mais rápida de formação de peróxidos durante o armazenamento, do que a degradação de peróxidos em produtos de oxidação secundária (BAZARGANI-GILANI; ALIAKBARLU; TAJIK, 2015).

Os resultados, ficaram dentro da faixa aceitável de 0 e 20 meq/kg de amostra (MENTEN et al., 2003).

Soares (2012) avaliou a linguiça tipo Toscana armazenada em diferentes embalagens e verificou não haver tendência à estabilização nos seus ensaios, através da análise do índice de peróxidos (11,04 a 13,61 mEq/kg) no 28º dia de armazenamento. Qin (2013), constatou flutuações de valores entre 3,32 e 8,46

mEq / kg de amostra até os 12 dias de armazenagem dos produtos cárneos.

Souza (2014) verificou a variação (30,71 a 154,94 mEq/kg da amostra) ao submeter linguças a diferentes temperaturas de congelamento, até o 150º dia de armazenagem.

Como foi detectado, até o 30º dia a peroxidação nos tratamentos, ainda encontrava-se em fase de propagação.

Deduz-se, que as reservas de ácidos graxos insaturados, ainda não se esgotaram durante este período. Presume-se que o declínio no índice de peróxidos, poderá ser observado quando o tempo de armazenagem for prolongado acima dos 30 dias, devido à tendência da ação dos antioxidantes irem diminuindo ao longo do período.

Níveis muito baixos para o índice de peróxidos, podem não ser os mais indicados para a avaliação da estabilidade oxidativa, podendo inclusive, ser sinônimo de degradação pronunciada. São poucos os trabalhos que trazem a avaliação do índice de peróxidos em embutidos cárneos (PAULA, 2013).

O declínio acontece no momento em que inicia a fase de degradação, principalmente dos hidroperóxidos, formando produtos de baixo peso molecular (hidrocarbonetos, cetonas, aldeídos, álcoois e ácidos) responsáveis pelas alterações sensoriais. Os

hidroperóxidos são responsáveis pela formação de substâncias (carbonilas), que reagem ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) sendo o malonaldeído, o principal deles.

Por essa razão, a análise de TBARS também é indicada para a avaliação da oxidação lipídica. Este teste quantifica o malonaldeído (MDA), um dos principais produtos resultantes da decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poli-insaturados, formados durante o processo da oxidação.

Os resultados de TBARS das médias dos tratamentos ELCR2 e ELCR3, mostraram não haver diferença significativa entre si ($p > 0,05$) no 1º dia (Figura 2). Do mesmo modo, no dia 30 entre os tratamentos ES e ELCR1 assim como ELCR2 e ELCR1 os resultados não foram significantes.

O acréscimo nas concentrações de ELCR, aumentou ($p < 0,05$) a capacidade de eliminação de radicais causadores de oxidação lipídica, quando comparados ao ES, constatado também por outros autores (NEGI; JAYAPRAKASHA; JENA, 2003; NAVEENA et al. 2008).

Notou-se diferença significativa ($p < 0,05$) em TBARS entre os tratamentos com ELCR e o ES em quase todo o período. Além do comportamento distinto do controle, os extratos mantiveram as menores oscilações ao longo do armazenamento das linguças.

Os valores mais baixos para o TBARS, foram constatados em ELCR3 nos dias 15 e 30 (0,05 e 0,04 mg MDA/ kg, respectivamente). No 1º dia, os valores de TBARS estavam iguais ou próximos de 0,1 mg de MDA/kg, o que também foi constatado em outras pesquisas com produtos a base de carne (ALMEIDA et al, 2015; Kim et al., 2014). Estes valores, geralmente aumentam durante o prolongamento da estocagem de produtos cárneos, alcançando um valor máximo e depois declinando, devido a reações adicionais do malonaldeído com grupos amino (CHANNON; TROUT, 2002).

Nos tratamentos com extrato, fica evidente que no decorrer do *shelf-life*, os valores permaneceram ou diminuíram, indicando considerável efeito antioxidante.

Os efeitos inibitórios do extrato liofilizado de casca de romã, devem-se aos seus compostos fenólicos, que atuam no processo de oxidação, bloqueando as reações de cadeia de radicais livres (NEGI; JAYAPRAKASHA; JENA, 2003).

Nesta pesquisa, observou-se apenas o declínio de TBARS, supostamente porque a ação dos antioxidantes, prolonga-se acima dos 30 dias de *shelf-life* nas linguiças frescas produzidas e armazenadas nestas mesmas condições.

A quantidade e qualidade da gordura, também contribuíram favoravelmente para os baixos valores de

índice de peróxidos e TBARS, sendo inferior a 50% do limite estabelecido pela legislação.

Dessa forma, a oxidação lipídica pode ocorrer tão lentamente, que não chega a ser considerada um problema (SOARES, 2012).

Outras possíveis causas para os baixos valores de TBARS, devem-se ao malonaldeído (MDA) reagir com uma larga escala de compostos, ou então, pela formação de trienos ou dienos de MDA, diminuindo a quantidade de MDA livre para reagir com o TBA. Como consequência, os valores avaliados de TBARS poderão ser reduzidos ao longo do período (GATELLIER et al., 2007).

As diferenças podem aumentar quando são adicionadas grandes quantidades de gordura e submetidas a um armazenamento mais prolongado, sem controle das condições de resfriamento ou congelamento, pois além de alterações oxidativas, outras reações de degradação protéica e de ordem microbiológica, podem ser identificadas com maior facilidade.

A faixa de percepção de odores de ranço, possíveis de serem identificadas por provadores treinados e não treinados, com TBARS, está entre 0,5 e 2,0 mg MDA/kg de amostra (GATELLIER et al., 2007; TRINDADE et al., 2009; ALMEIDA et al., 2015) sendo um valor estimado como

aceitável para produtos a base de carne (MORAES; PINTO, 2013).

Já Monteiro (2013) relata que índices de TBARS de até 1,59 mg MDA/kg de amostra, são considerados baixos para serem percebidos em análise sensorial e também como agentes causadores grandes malefícios a saúde, nestes níveis.

Os valores encontrados nas linguiças tipo Toscana, com extrato liofilizado de casca de romã e com o eritorbato de sódio, foram menores que 0,5mg MDA/kg. Como resultado, não seriam perceptíveis durante o período de 30 dias de sob armazenamento resfriado ($5\pm 1^{\circ}\text{C}$).

Contudo, não há uma referência de limites de número de TBARS na legislação e nem consenso, pois a literatura trata de vários estudos, onde foram relatados valores superiores de TBARS (MAGGIONI et al., 2008; PAULA, 2013).

Vieira (2012), durante seu experimento com linguiça tipo Toscana armazenado a 4°C , encontrou valores entre 0,02 e 0,093 mg MDA/kg até o 21º dia de armazenagem, nos diferentes tratamentos em que aplicou extrato de própolis. Qin (2013), constatou TBARS entre 0,41 e 1,07 mg MDA/kg até o 12º dia de armazenagem utilizando suco e pó de casca de romã em carne suína moída.

Paula (2013) avaliou a reação TBARS nas linguiças tipo Toscana e teve resultados entre 0,064-0,721 mg MDA/kg, durante os 35 dias de armazenamento em diferentes tipos de embalagens. Naveena et al. (2008), consideraram o extrato de casca de romã, como eficaz antioxidante, quando analisado em carne de frango, retardando a ação de rancidez oxidativa.

Outros extratos, também tiveram resultados semelhantes, quando aplicados em produtos cárneos (DEVATKAL, NARSAIAH e BORAH, 2010; VIEIRA, 2012; PIOVESAN, 2012; MONTEIRO, 2013; MAHAJAN, BHAT, KUMAR, 2015).

Em alguns casos, na ausência de ácido 2- tiobarbitúrico, os extratos ácidos podem exibir um pico elevado de absorção a 532nm, resultando numa superestimação da extensão lipídica pelo TBARS (GANHÃO; ESTÉVEZ; MORCUENDE, 2011). Isso ficou evidente quando se verificou o valor para ELCR2 no 15º dia.

Os valores de TBARS devem ser usados com cautela, pois a reação ao ácido 2-tiobarbitúrico, não é específica para o malonaldeído, sendo que outros compostos também podem reagir com o ácido (FIGUEIRÊDO et al, 2014).

A atividade dos compostos antioxidantes, não é influenciada apenas pelo seu percentual de inibição, mas também pela localização física do

composto antioxidante em relação ao substrato oxidável, além de fatores externos. Um mesmo composto, pode apresentar capacidade antioxidante de forma distinta em outras matrizes alimentares (MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2017).

Sendo a oxidação lipídica, um dos principais fatores envolvidos na deterioração dos ácidos graxos insaturados em produtos cárneos (VIEIRA, 2012; MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2017), o tempo de conservação vai ficando mais curto, à medida que a presença de duplas ligações vai aumentando (MAGGIONI, et al., 2008).

Na análise sensorial pelo teste triangular, 56,6% dos provadores, não perceberam diferença entre o controle (ES) e o extrato (ELCR3), confirmando que não há diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos.

Os índices de aceitabilidade não diferiram ($p > 0,05$) pelo teste de Mann-Whitney, sob os atributos sensoriais avaliados. Não foi possível identificar nenhum sabor desagradável, possíveis de indicar sinais de rancidez ou adstringência, que pudessem levar a rejeição das amostras pelos provadores.

Dessa forma, as linguiças com extrato liofilizado de casca de romã (0,01%) e eritorbato de sódio (0,025%), foram igualmente aceitas.

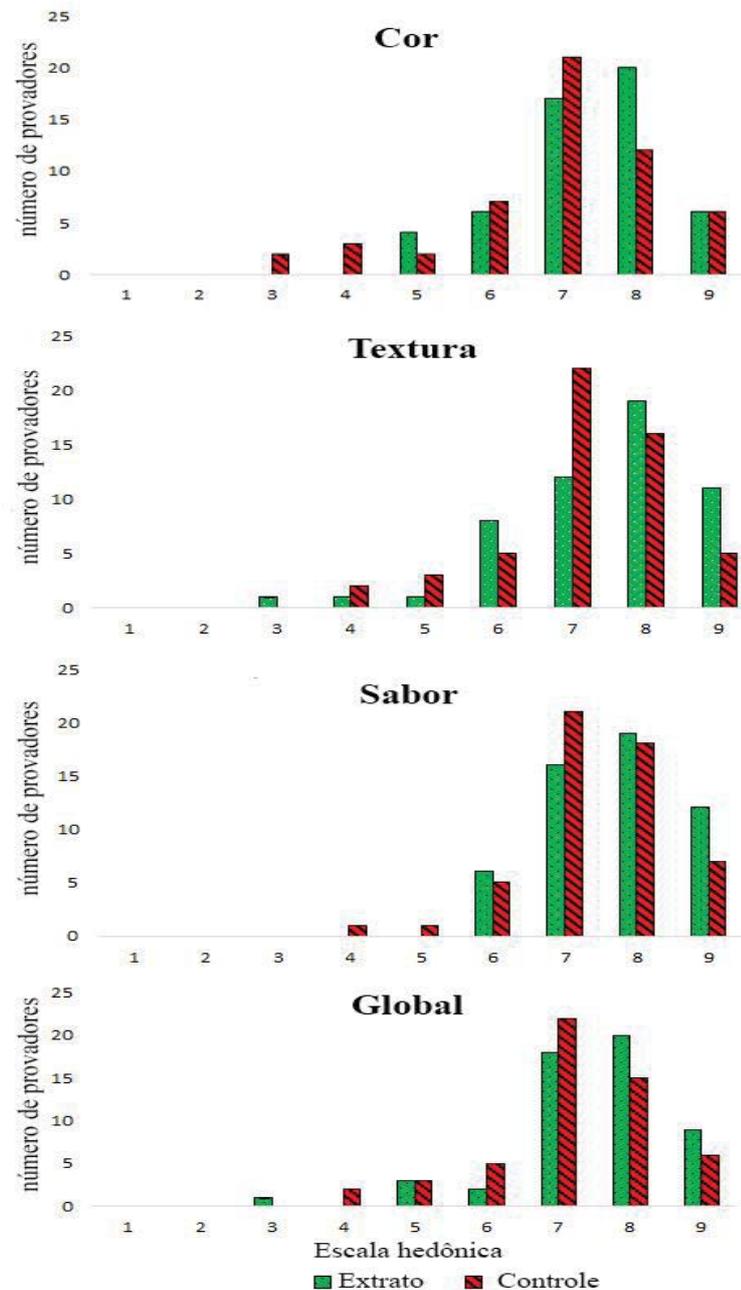
Outros autores tiveram seus resultados semelhantes em seus trabalhos (DEVATKAL, NARSAIAH E BORAH 2010; ALMEIDA et al., 2015).

Para o atributo cor, a aceitabilidade foi satisfatória, com pontuação média atribuída para ELCR3 e ES de 7,56 e 7,26. Estes valores estão representados dentro de um intervalo de 7 (gostei moderadamente) e 8 (gostei muito) na Figura 3.

Com relação à aceitação global, observou-se que a maior média observada foi para o tratamento ELCR3 (7,56) enquanto o controle ES (7,47), situando-se entre “gostei moderadamente” e “gostei muito”.

No teste de aceitabilidade realizado por Paula (2013) a partir do 28º dia, seus provadores treinados, puderam identificar diferenças ($p < 0,05$) na rancificação nas linguiças armazenadas em diferentes tipos de embalagens.

Figura 3 – Resultados de escala hedônica do teste de aceitabilidade.



Escala hedônica: 1-Desgostei muitíssimo; 2-Desgostei muito; 3-Desgostei moderadamente; 4-Desgostei ligeiramente; 5-Não gostei/nem desgostei; 6-Gostei ligeiramente; 7-Gostei moderadamente; 8-Gostei muito; 9-Gostei muitíssimo.

Isso indica que os extratos liofilizados de casca de romã, não afetam os parâmetros sensoriais se adicionados até a fração de 0,01% quando comparados ao

controle, viabilizando sua aplicação como antioxidante.

CONCLUSÃO

A adição do extrato de casca de romã nas concentrações 0,05% e 0,1% em linguças tipo Toscana reduziu a oxidação dos lipídios e mantiveram os escores sensoriais, indicando que o extrato liofilizado de casca de romã foi eficaz para retardar a oxidação lipídica. O extrato liofilizado de casca de romã é superior ou equivalente ao eritorbato de sódio.

Não foi possível identificar diferença significativa ($p > 0,05$) nos atributos sensoriais, indicando que não há interferência com a adição do extrato liofilizado de casca de romã.

Os extratos de casca de romã, mostraram ação antioxidante com equivalência ao eritorbato de sódio, sendo indicados como atuantes na inibição da oxidação lipídica para a linguça tipo Toscana. As alterações lipídicas não foram significantes no período de 30 dias.

COMITE DE ÉTICA

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade de Passo Fundo/ Pró- Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação – VRPPG/UPF, sob número de registro 63579517.6.0000.5342

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao aporte do Instituto Federal do Rio Grande do Sul, IFRS campus de Sertão, pela liberação de uso dos laboratórios e agroindústria para o desenvolvimento do projeto. A Universidade de Passo Fundo – UPF, pela autorização de uso da Central de Equipamentos Multiusuários (CEMULTI) do Parque Científico e Tecnológico e do laboratório de análise sensorial.

REFERENCIAS

AMYRGIALAKI, E. et al. Optimization of the extraction of pomegranate (*Punica granatum*) husk phenolics using water/ethanol s. **Industrial Crops and Products**, [s.l.], v. 59, p.216-222, ago. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.05.011>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669014002763>>. Acesso em: 01 ago. 2016.

ALMEIDA, P. L. de et al. Effect of jabuticaba peel extract on lipid oxidation, microbial stability and sensory properties of Bologna-type sausages during refrigerated storage. **Meat Science**, [s.l.], v. 110, p.9-14, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.06.012>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174015300401>>. Acesso em: 27 jan. 2018.

BARROS, Z. M. P.. **Cascas de frutas tropicais como fonte de antioxidantes para enriquecimento de suco pronto**. 2011. 85 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Scola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2011. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-22112011-143150/pt-br.php>>. Acesso em: 06 jul. 2017.

BAZARGANI-GILANI, B.; ALIAKBARLU, J.; TAJIK, H.. Effect of pomegranate juice dipping and chitosan coating enriched with Zataria multiflora Boiss essential oil on the shelf-life of chicken meat during refrigerated storage. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [s.l.], v. 29, p.280-287, mai. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2015.04.007>. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1466856415000752>>. Acesso em: 22 jan. 2018.

BRASIL. Instituto Adolfo Lutz. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 1ª edição digital; São Paulo, 2008, 1000p. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf>. Acesso em: 03 set. 2016.

BRASIL. Ministério Da Agricultura e do Abastecimento Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa N° 04**. Publicação em 31 de março de 2000. Disponível em: <http://www.agais.com/normas/carne/carnes_linguic_a.htm> Acesso em 15 mai. 2016.

CHANNON, H. A.; TROUT, G. R. Effect of tocopherol concentration on rancidity development during frozen storage of a cured and an uncured processed pork product. **Meat Science**, [s.l.], v. 62, n. 1, p.9-17, set. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0309-1740\(01\)00221-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0309-1740(01)00221-2). Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174001002212>>. Acesso em: 28 abr. 2017.

CHIAVARO, E. et al. Efficacy of different storage practices in maintaining the physicochemical and microbiological properties of fresh pork sausage. **Journal of Muscle Foods**, [s.l.], v. 19, n. 2, p.157-174, abr. 2008. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-4573.2008.00109.x>. Disponível em <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1745-4573.2008.00109.x/abstract>>. Acesso em 22 nov. 2017.

DEVATKAL, S. K.; NARSAIAH, K.; BORAH, A. Anti-oxidant effect of extracts of kinnow rind, pomegranate rind and seed powders in cooked goat meat patties. **Meat Science**, [s.l.], v. 85, n. 1, p.155-159, mai. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.12.019>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174009003994>>. Acesso em: 21 mai. 2017.

DIAMANTI, A. C. et al. Green extraction of polyphenols from whole pomegranate fruit using cyclodextrins. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 214, p.61-66, jan. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.072>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814616310949>>. Acesso em: 22 mai. 2017.

DUARTE-ALMEIDA, J. M. et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema

betacaroteno/ácido linoléico e método de sequestro de radicais DPPH•. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [s.l.], v. 26, n. 2, p.446-452, jun. 2006. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0101-20612006000200031>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010120612006000200031&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em: 12 nov. 2016.

ELFALLEH, W. et al. Physico-chemical properties and DPPH-ABTS scavenging activity of some local pomegranate (*Punica granatum*) ecotypes. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, [s.l.], v. 60, n. 2, p.197-210, jan. 2009. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/09637480903067037>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19629823>>. Acesso em: 26 out. 2017.

EL-NASHI, HAFSSA B. et al. Quality characteristics of beef sausage containing pomegranate peels during refrigerated storage. **Annals Of Agricultural Sciences**, [s.l.], v. 60, n. 2, p.403-412, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aoas.2015.10.002>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0570178315000378>>. Acesso em: 02 ago. 2016.

ESTÉVEZ, M.; CAVA, Ramón. Lipid and protein oxidation, release of iron from heme molecule and colour deterioration during refrigerated storage of liver pâté. **Meat Science**, [s.l.], v. 68, n. 4, p.551-558, dez. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.05.007>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174004001317>>. Acesso em: 22 nov. 2017.

FERNANDES, R.P.P. et al. Assessment of the stability of sheep sausages with the addition of different concentrations of *Origanum vulgare* extract during storage. **Meat Science**, [s.l.], v. 137, p.244-257, mar. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.11.018>. Disponível em: <<mailto:https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174017301742>> Acesso em: 24 jan. 2018.

FIGUEIRÊDO, B. C. et al. Effect of annatto powder and sodium erythorbate on lipid oxidation in pork loin during frozen storage. **Food Research International**, [s.l.], v. 65, p. 137-143, nov. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.07.016>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996914004931>>. Acesso em: 14 dez. 2016.

- FISCHER, U. A.; CARLE, R.; KAMMERER, D. R. Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD-ESI/MSn. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 127, n. 2, p. 807-821, jul. 2011. Elsevier
BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.156>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814611000707>>. Acesso em: 02 ago. 2016.
- GALAZ, P. et al. Effect of drum drying temperature on drying kinetic and polyphenol contents in pomegranate peel. **Journal Of Food Engineering**, [s.l.], v. 208, p. 19-27, set. 2017. Elsevier
BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.04.002>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877417301425>>. Acesso em: 22 mai. 2017.
- GANHÃO, R.; ESTÉVEZ, M.; MORCUENDE, D. Suitability of the TBA method for assessing lipid oxidation in a meat system with added phenolic-rich materials. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 126, n. 2, p.772-778, mai. 2011. Elsevier
BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.064>. Disponível em <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814610014822>> Acesso em: 11 dez. 2017.
- GATELLIER, P. et al. Use of a fluorescence front face technique for measurement of lipid oxidation during refrigerated storage of chicken meat. **Meat Science**, [s.l.], v. 76, n. 3, p.543-547, jul. 2007. Elsevier
BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.01.006>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174007000241?via=ihub>> Acesso em: 07 nov. 2017.
- HASNAOUI, N.; WATHELET, B.; J.-ARAUJO, A. Valorization of pomegranate peel from 12 cultivars: Dietary fibre composition, antioxidant capacity and functional properties. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 160, p. 196-203, out. 2014. Elsevier
BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.089>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614004804>>. Acesso em: 21 mai. 2017.
- JIANG, J.; XIONG, Y. L. Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: A review. **Meat Science**, [s.l.], v. 120, p. 107-117, out. 2016. Elsevier
- BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.04.005>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174016300973>>. Acesso em: 14 dez. 2016.
- KAZEMI, M. et al. Optimization of pulsed ultrasound-assisted technique for extraction of phenolics from pomegranate peel of Malas variety: Punicalagin and hydroxybenzoic acids. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 206, p. 156-166, set. 2016. Elsevier
BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.017>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814616303594>>. Acesso em: 22 mai. 2017.
- KIM, H-W. et al. Effects of kimchi and smoking on quality characteristics and shelf life of cooked sausages prepared with irradiated pork. **Meat Science**, [s.l.], v. 96, n. 1, p.548-553, jan. 2014. Elsevier
BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.08.023>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174013005081>>. Acesso em: 27 jan. 2018.
- KUFNER, D. E. **Atividade antioxidante do extrato aquoso de manjerona (*Origanum majorana* L.), em linguça frescal de frango**. 2010. 56 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Ciências Agrárias, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2010. Disponível em: <http://www.uricer.edu.br/cursos/arq_trabalhos_usuario/2123.pdf>. Acesso em: 11 ago. 2016.
- KUSKOSKI, E.M. et al.. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n.4, p. 691-693, 2004.
- LANSKY, E. P.; NEWMAN, R. A. *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and can. **Journal Of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 109, n. 2, p. 177-206, jan. 2007. Elsevier
BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2006.09.006>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874106004570>>. Acesso em: 28 ago. 2016.
- LI, J. et al. Chemical fingerprint and quantitative analysis for quality control of polyphenols extracted from pomegranate peel by HPLC. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 176, p.7-11, jun. 2015. Elsevier
BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.040>. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614019517>>. Acesso em: 27 jan. 2018.

MAGGIONI, D., ROTTA, P. P., PRADO, R. M., ZAWADZKI, F., ITO, R. H., PRADO, I. N. Fatores que afetam a estabilidade da carne. **Revista Nacional da carne**. N 374, v.32, abril 2008.

MAHAJAN, D.; BHAT, Z.F.; KUMAR, S.. Pomegranate (*Punica granatum*) rind extract as a novel preservative in cheese. **Food Bioscience**, [s.l.], v. 12, p.47-53, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2015.07.005>.

Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2212429215300109>>. Acesso em: 11 jan. 2018.

MARANGONI, C.; MOURA, N. F. de. Antioxidant activity of essential oil from *Coriandrum Sativum* L. in Italian salami. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [s.l.], v. 31, n. 1, p. 124-128, mar. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0101-20612011000100017>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612011000100017>. Acesso em: 12 mar. 2017.

MARCHI, L. B. et al. Evaluation of antioxidant and antimicrobial capacity of pomegranate peel extract (*Punica granatum*) under different drying temperatures. **Chemical Engineering Transactions**. V.44, p. 121-126, mai. 2015. DOI:10.3303/CET 1544021. Disponível em : <<mailto:https://www.aidic.it/cet/15/44/021.pdf>>. Acesso em 09 nov. 2017.

MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. Influence of salt on lipid oxidation in meat and seafood products: A review. **Food Research International**, [s.l.], v. 94, p. 90-100, abr. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.02.003>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996917300558>>. Acesso em: 01 abr. 2017.

MENTEN, J.F.M., GAIOTTO, J.B. RACANICCI, A.M.C. **Valor nutricional e qualidade de óleos e gorduras para frangos de corte**. IN: Simpósio sobre manejo e nutrição de aves e suínos. Campinas SP. CBNA. p. 93-134, 2003.

MONTEIRO, S. S. **Caracterização química da casca de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.), avaliação de seus extratos e aplicação em linguiça de frango para aumento do shelf-life**. 2013. 91 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de

Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013. Disponível em: <<http://jararaca.ufsm.br/websites/ppgcta/48fa4714be3b1bc18496e95e574e0ef7.htm>>. Acesso em: 19 jul. 2016.

MORAES, K. de; PINTO, L. A. de A.. Condições de secagem de uma pasta de anchoita modificada enzimaticamente na oxidação lipídica, lisina disponível e atividade antioxidante do produto. **Ciência Rural**, [s.l.], v. 43, n. 3, p.530-536, mar. 2013. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-84782013005000008>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782013000300026> Acesso em: 10 nov. 2017.

MORSY, M. K.; MEKAWI, E.; ELSABAGH, R. Impact of pomegranate peel nanoparticles on quality attributes of meatballs during refrigerated storage. **Lwt**, [s.l.], v. 89, p.489-495, mar. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.022>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643817308411>>. Acesso em: 10 jan. 2018.

NAVEENA, B. M . et al. Comparative efficacy of pomegranate juice, pomegranate rind powder extract and BHT as antioxidants in cooked chicken patties. **Meat Science**, [s.l.], v. 80, n. 4, p.1304-1308, dez. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.06.005>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174008002064>>. Acesso em: 14 nov. 2017.

NEGI, P.S.; JAYAPRAKASHA, G.K.; JENA, B.S. Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 80, n. 3, p.393-397, mar. 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0308-8146\(02\)00279-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0308-8146(02)00279-0). Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814602002790>>. Acesso em: 06 dez. 2017.

GONZÁLEZ-MOLINA, E.; MORENO, D. A.; GARCÍA-VIGUERA, C. A new drink rich in healthy bioactives combining lemon and pomegranate juices. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 115, n. 4, p. 1364-1372, ago. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.056>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814609000983>>. Acesso em: 22 set. 2016.

ORGIL, O. et al. The antioxidative and anti-proliferative potential of non-edible organs of the pomegranate fruit and tree. **Lwt - Food Science**

And Technology, [s.l.], v. 58, n. 2, p.571-577, out. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.03.030>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643814001807>>. Acesso em: 10 jan. 2018.

PAULA, R. de. **Avaliação da estabilidade de linguiça tipo Toscana resfriada armazenada em embalagens com diferentes barreiras ao oxigênio**. 2013. 106 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Ciências Agrárias, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2013. Disponível em:

<http://www.uricer.edu.br/cursos/arq_trabalhos_usuario/2448.pdf>. Acesso em: 11 ago. 2016.

PIOVESAN, N. **Extratos naturais de sementes de mamão papaya (*carica papaya L.*) e marcela (*achyrocline satureioides*) e avaliação da capacidade antioxidante e antimicrobiana em linguiça de frango**. 2012. 66 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012. Disponível em: <http://cascavel.ufsm.br/tede//tde_busca/arquivo.php?codArquivo=4531>

QIN, Y.-Y. et al. Antioxidant effect of pomegranate rind powder extract, pomegranate juice, and pomegranate seed powder extract as antioxidants in raw ground pork meat. **Food Science And Biotechnology**, [s.l.], v. 22, n. 4, p.1063-1069, ago. 2013. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s10068-013-0184-8>. Disponível em: <<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10068-013-0184-8.pdf>>. Acesso em: 19 dez. 2017.

ROESLER, R. et al. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [s.l.], v. 27, n. 1, p. 53-60, mar. 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0101-20612007000100010>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612007000100010&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em 03 jun. 2017.

SALEH, E. A. et al. Effect of pomegranate peel powder on the hygienic quality of beef sausage. **Journal Of Microbiology, Biotechnology And Food Sciences**, [s.l.], v. 6, n. 6, p.1300-1304, 1 jun. 2017. Slovak University of Agriculture in Nitra. <http://dx.doi.org/10.15414/jmbfs.2017.6.6.1300-1304>. Disponível em: <[mailto:https://www.researchgate.net/publication/317579028_Effect_of_pomegranate_peel_powder_on](mailto:https://www.researchgate.net/publication/317579028_Effect_of_pomegranate_peel_powder_on_the_hygienic_quality_of_beef_sausage)

[the_hygienic_quality_of_beef_sausage](#)>. Acesso em: 03 dez. 2017.

SESTILI, P et al. Cytoprotective effect of preparations from various parts of *Punica granatum L.* fruits in oxidativel y injured mammalian cells in comparison with their antioxidant capacity in cell free systems. **Pharmacological Research**, [s.l.], v. 56, n. 1, p.18-26, jul. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2007.02.003>.

Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1043661807000485>>. Acesso em: 10 set. 2017.

SOARES, J. M. **Avaliação da oxidação lipídica e proteica em linguiças calabresa e toscana**. **Dissertação**. 2012. 108 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Ciências Agrárias, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2012. Disponível em:

<http://www.uricer.edu.br/cursos/arq_trabalhos_usuario/2164.pdf>. Acesso em: 11 ago. 2016.

SOUZA, S. A. de. **Avaliação dos efeitos de diferentes temperaturas de congelamento e armazenamento sobre as características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais de linguiça suína tipo frescal**. 2014. 61 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Ciências Agrárias, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Erechim, 2014. Disponível em: <http://www.uricer.edu.br/cursos/arq_trabalhos_usuario/2561.pdf> Acesso em: 16 set. 2017.

TEHRANIFAR, A. et al. High potential of agro-industrial by-products of pomegranate (*Punica granatum L.*) as the powerful antifungal and antioxidant substances. **Industrial Crops And Products**, [s.l.], v. 34, n. 3, p. 1523-1527, nov. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.05.007>. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669011001415>>. Acesso em: 06 abr. 2017.

TRINDADE, M.P; FONSECA, L.; JUIZ, P. J. L. Atividade antimicrobiana da tintura da casca de romã (*Punica granatum*) sobre cepas de *Staphilococcus aureus* e *Streptococcus pyogenes*: estudo in vitro. **Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde**, v.11, n.4, p.49-54, 2009.

VIEIRA, V. B. **Obtenção do extrato de própolis assistida por micro-ondas, aplicação em linguiça tipo Toscana e avaliação da sua capacidade antioxidante**. 2012. 79 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa

Maria, Santa Maria, 2012. Disponível em: <
[http://cascavel.ufsm.br/tede/tde_arquivos/22/TDE-2013-02-07T115421Z-3998/Publico/VIERA,](http://cascavel.ufsm.br/tede/tde_arquivos/22/TDE-2013-02-07T115421Z-3998/Publico/VIERA)

[VANESSA BORDIN.pdf](#)>. Acesso em: 07 ago. 2016.

ANEXO I – TCLE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa sobre “Estabilidade oxidativa de linguiça tipo Toscana com extrato liofilizado de casca de romã (*Punica granatum* L.)”, de responsabilidade do acadêmico pesquisador Gilberto Rogerio Zago, sob orientação da Prof. Dr^a Luciana Ruschel dos Santos.

Esta pesquisa justifica-se devido à necessidade de avaliar a capacidade dos antioxidantes naturais em substituição aos artificiais como alternativa para retardar os processos de oxidação de linguiças frescas armazenadas na forma resfriada.

O objetivo desta pesquisa é verificar qual a concentração do extrato liofilizado de casca de romã, apresentará os melhores resultados durante o período de vida útil das linguiças, sem provocar alterações sensoriais significantes.

A sua participação na pesquisa será em 1 encontro com duração aproximada de 15 minutos. Neste encontro, serão oferecidas amostras de linguiças assadas, produzidas dentro das normas higiênico-sanitárias e anteriormente analisadas para o consumo seguro. No intervalo de degustação entre cada amostra, faça a limpeza do paladar com a água que será oferecida juntamente com as linguiças. Você deverá provar as porções oferecidas e procurar identificar o quanto gostou de cada uma, além de atribuir notas de avaliação global, cor e sabor, conforme o número de identificação nas porções. As possibilidades de riscos com o alimento ingerido são mínimas, pois as amostras passarão por processo adequado de obtenção das matérias-primas e fabricação, análises microbiológicas e armazenadas adequadamente até o momento do preparo e cozimento para a análise sensorial. Os ingredientes utilizados serão utilizados respeitando-se as quantidades recomendadas pela legislação vigente. Ao participar da pesquisa, você estará contribuindo para melhorar as pesquisas na utilização de ingredientes funcionais.

Você terá a garantia de receber esclarecimentos sobre qualquer dúvida relacionada à pesquisa e poderá ter acesso aos seus dados em qualquer etapa do estudo.

Sua participação nessa pesquisa não é obrigatória e você pode desistir a qualquer momento, retirando seu consentimento;

Você não terá qualquer despesa para participar da presente pesquisa e não receberá pagamento pela sua participação no estudo;

As suas informações serão arquivadas e posteriormente destruídas. Os dados relacionados à sua identificação não serão divulgados;

Os resultados da pesquisa serão divulgados em artigo científico e na dissertação final do mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos turma 2016, mas você terá a garantia do sigilo e da confidencialidade dos dados.

Caso você tenha dúvidas sobre o comportamento dos pesquisadores ou sobre as mudanças ocorridas na pesquisa que não constam no TCLE, ou caso considerar prejudicado (a) na sua dignidade e autonomia, você pode entrar em contato com o pesquisador Gilberto Rogerio Zago, fone (054)99679-6616 ou com a Prof. Luciana Ruschel dos Santos pelo fone (54)3316-8485 ou no curso de mestrado de Ciência e Tecnologia de Alimentos-UPF pelo fone (54)3316-8171, ou também pode consultar o Comitê de Ética em Pesquisa da UPF, pelo telefone (54) 3316-8157, no horário das 08h às 12h e das 13h30min às 17h30min, de segunda a sexta-feira.

Dessa forma, se você concorda em participar da pesquisa como consta nas explicações e orientações acima, coloque se nome no local indicado abaixo.

Desde já, agradecemos a sua colaboração e solicitamos a sua assinatura de autorização neste termo, que será também assinado pelo pesquisador responsável em duas vias, sendo que uma ficará com você e outra com o pesquisador.

Passo Fundo, ____ de _____ de 2017.

Nome do (a) participante: _____

Assinatura: _____

Acadêmico pesquisador: Gilberto Rogério Zago

Assinatura: _____

Professora orientadora da pesquisa: Luciana Ruschel dos Santos

Assinatura: _____