



UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA
DE PROCESSOS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS



MAIRA CASAGRANDE

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE COPRODUTOS DE
INDÚSTRIAS DE SUCO DE UVA E DE VINHO VISANDO SUA
APLICAÇÃO EM LINGUIÇA DE FRANGO**

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO
2014

MAIRA CASAGRANDE

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE COPRODUTOS DE
INDÚSTRIAS DE SUCO DE UVA E DE VINHO VISANDO SUA
APLICAÇÃO EM LINGUIÇA DE FRANGO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná como requisito parcial para obtenção do título de “Mestre em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos” - Área do conhecimento: Química de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dra. Solange Teresinha Carpes
Co-orientadora: Prof^a. Dra. Tatiane Luiza Cadorn
Oldoni

PATO BRANCO
2014

C334a Casagrande, Maira.
Avaliação do potencial antioxidante de coprodutos de indústrias de suco de uva e de vinho visando sua aplicação em linguiça de frango / Maira Casagrande. -- 2014.
121 f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Profa. Dra. Solange Teresinha Carpes
Coorientadora: Profa. Dra. Tatiane Luiza Cadorin Oldoni
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. Pato Branco, PR, 2014.
Bibliografia: f. 107 – 117.

1. Atividade antioxidante. 2. Bagaço de uvas. 3. Oxidação lipídica. I. Carpes, Solange Teresinha, orient. II. Oldoni, Tatiane Luiza Cadorin, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. IV. Título.

CDD (22. ed.) 660.281



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Pato Branco
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de



TERMO DE APROVAÇÃO Nº 11

Título da Dissertação

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE CO-PRODUTOS DE INDÚSTRIAS
DE SUCO DE UVA E DE VINHO EM LINGUIÇAS DE CARNE DE FRANGO**

Autora

MAIRA CASAGRANDE

Esta dissertação foi apresentada às 14 horas do dia 05 de junho de 2014, como requisito parcial para a obtenção do título de MESTRE EM TECNOLOGIA DE PROCESSOS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS – Linha de pesquisa em Química de Alimentos – no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. A autora foi arguida pela Banca Examinadora abaixo assinada, a qual, após deliberação, considerou o trabalho aprovado.

Prof^a. Dra. Solange Teresinha Carpes - UTFPR
Presidente

Prof. Dra. Marina Mitterer Daltoé - UTFPR
Examinadora

Prof. Dr. Vanderlei Aparecido de Lima – UTFPR
Examinador

Prof. Dr. Alexandre da Trindade Alfaro –
UTFPR Examinador

Visto da Coordenação

Prof.^a Dra. Raquel Dalla Costa da Rocha
Coordenadora do PPGTP

O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do PPGTP

Dedico,
Ao meu esposo Juliano Zanela, pelo apoio pessoal e profissional.
In-memorian aos meus avós Rosa Maria e Valdomiro Casagrande.
E à minha mãe Terezinha Casagrande.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela oportunidade da vida, pela oportunidade de estudar, aprender e vencer meus limites pessoais e pelos amparos durante toda a minha vida.

Ao meu esposo, Juliano Zanela, pelo apoio, companheirismo e orientação.

A minha família, em especial minha mãe Terezinha Casagrande e meu padrasto Olívio Ariatti, por sempre acreditarem em mim e pelas orações. Aos demais, irmãos, primos e tios, pelo incentivo.

As meninas “do apê 1” Mayara Vendrusculo, Lisiane Sganderla, Rosanete Grassiani e Fabiola Toigo, pelo apoio e companheirismo.

As meninas “do apê 2” Raquel Ludwichk, Flávia Bedin, no qual incluo Genice Iurckevicz, pelo amor, carinho e toda ajuda profissional.

Ao meu amigo Marcos Paladini pelas caronas e pelo companheirismo.

As minhas amigas Keli Priscila de Lima, Regiane Lanzarin e Talita Dalbosco pela força e carinho.

Ao meu amigo Paulo Henrique Merlin e sua avó e sua avó Leny Colla Merlin pela amizade e acolhida.

Ao meu amigo Américo Wagner Júnior por todo o apoio profissional e pessoal, por ceder o seu espaço e os seus equipamentos, pelos conselhos e amizade. Aqui também incluo meus amigos Kátia Atoji e Douglas Henrique pela torcida e pelo carinho. Ao Jhone Gleison de Oliveira, pela grande ajuda.

A UTFPR Câmpus Dois Vizinhos pela acolhida ao ceder seu espaço.

A UTFPR Câmpus Pato Branco por ser a responsável pela minha formação desde a graduação.

A CAPES pelo incentivo financeiro da bolsa de pesquisa.

A minha orientadora Professora Dra. Solange Teresinha Carpes, por todos os ensinamentos, pelo apoio nas horas críticas, pela compreensão nas minhas falhas, pela oportunidade de aprender e por seu esforço dedicado ao meu aprendizado.

A minha co-orientadora Dra. Tatiane Luiza Cadorin Oldoni, pela paciência em sanar as minhas dúvidas, pelo apoio e pela excelente orientação.

Ao meu Professor Vanderlei Aparecido Lima, pelos ensinamentos, pela paciência, pelo empenho de me fazer aprender, pelo profissionalismo e pela amizade.

A todos os Professores do PPGTP: Cristiane Budziak, Edimir Andrade Pereira, Henrique Emílio Zorel, Márcio Barreto Rodrigues, Marina Leite Mitterer Daltoé, Patrícia Teixeira Marques, Raquel Dalla Costa da Rocha, Mário Antonio Alves da Cunha, Sirlei Dias Teixeira e Simone Beux, pelos ensinamentos, por me oportunizar a ser uma profissional melhor, por sanar aquelas dúvidas que me deixavam inquieta, principalmente pela paciência na minha insistência de questionamentos.

Aos estagiários e bolsistas do laboratório: Larissa Maximo Cesário, Cristiane de Moura, Amália Soares dos Reis e Miréli Bianchin, pela troca de experiências, pela amizade e pelo apoio.

Aos meus colegas de mestrado: Antonio Marcos Tubiana de Costa, Carla Todescatto, Diego da Silva Hoffmann, Débora Giaretta, Flavia Caroline Bedin, Francine Yumi Kogimura, Genice Iurckevicz, Mayara Gobetti Fernandes da Silva, Sinara Keli Welter e Raquel Ludwichk, pela amizade nessa etapa da minha vida.

À empresa FRIMESA, pela doação de ingredientes.

Ao IFSC Câmpus Canoinhas, em especial a Maria Bertilia Oss Giacomelli, Angélica Bonadimam Marin, Cleoci Beninca, Ineuza Marçal e Josieli Veiga pelo apoio e compreensão.

A Carline Marquetti e Jorge Eraldo Parzianello, por todo aprendizado que construímos juntos, o qual muito desse me preparou para muitos desafios vividos, principalmente pela amizade e carinho.

A família de meu marido pelo apoio. Ao meu sogro pela ajuda. Ao meu cunhado e ouvinte das apresentações. Sou grata de coração.

A minha irmã, por sua bicicleta. Sou grata eternamente.

Aos que talvez eu tivera esquecido.

Agradeço e compartilho a minha alegria de transpor esse limite pessoal e realizar esse sonho.

“Se cheguei até aqui foi porque
me apoiei no ombro de gigantes”

Isaac Newton

RESUMO

CASAGRANDE, Maira. **Avaliação do potencial antioxidante de coprodutos de indústrias de sucos de uva e de vinho visando sua aplicação em linguiça de frango**. 2013. 121 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 2014.

A busca por produtos naturais e os riscos para a saúde decorrentes do consumo de antioxidantes sintéticos incentivam a investigação para a descoberta de novas fontes potenciais de compostos bioativos. A produção de vinho e suco de uva geram grandes quantidades de coprodutos ricos em compostos fenólicos que podem ser utilizados como antioxidantes naturais. Este estudo teve como objetivo avaliar as melhores condições de extração de compostos bioativos, através de um planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} , de um coproduto oriundo do processamento da indústria de sucos de uvas (BUS – Bagaço de Uvas Suco) e de um coproduto oriundo do processamento da indústria de vinhos (BUV – Bagaço de Uvas Vinho). E, após a determinação da melhor condição para ambos os coprodutos, avaliar a atividade antioxidante utilizando diferentes metodologias de quantificação, sendo que dentre as duas amostras (BUS e BUV), a que obtivesse maior potencial antioxidante, seria testada no processamento de linguiça frescal de frango com intuito de verificar a inibição da formação de malonaldeído em comparação ao antioxidante sintético ES (eritorbato de sódio). Para a extração dos compostos bioativos as variáveis independentes estudadas foram: tipo de coproduto (BUS ou BUV), temperatura do banho-maria (40 ou 60 °C), tempo de extração dos compostos bioativos (15 ou 45 minutos) e o tipo de solvente utilizado (acetona 80% ou etanol 80%). Os extratos dos coprodutos foram analisados em termos do conteúdo total de compostos fenólicos por Folin-Ciocalteu e atividade sequestradora do radical DPPH• (variáveis dependentes). A atividade sequestradora de radicais livres nos 16 testes gerados variaram 65-149 $\mu\text{mol Trolox.g}^{-1}$ e compostos fenólicos totais entre 18-35 mg GAE.g⁻¹ (equivalente ácido gálico). A análise de regressão linear mostrou que mais de 97% da variabilidade dos dados foi explicada pelo modelo gerado para a variável dependente atividade antioxidante e 93% para compostos fenólicos totais. Levando-se em conta os pontos ótimos de extração para BUS e BUV, fixaram-se extrações com acetona 80%, 60°C, durante 15 minutos para BUS e 45 minutos para BUV. Sob essas condições de extração, BUS apresentou: atividade antioxidante pelo método DPPH (IC₅₀), ABTS^{•+}, FRAP, e percentual de inibição do sistema de β -caroteno/ácido linoleico em valores de 349 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 334 mmol TEAC.g⁻¹, 151 mmol Fe²⁺.g⁻¹ e 73%, respectivamente. Enquanto BUV resultaram em 489 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 249 $\mu\text{mol TEAC.g}^{-1}$, 111 $\mu\text{mol Fe}^{2+}.\text{g}^{-1}$ e 68%, respectivamente. As respostas do planejamento fatorial mostraram que BUS teve o maior teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante quando comparados ao BUV, em suas melhores condições. Foram elaboradas quatro formulações de linguiça frescal de carne de frango: amostra controle (sem antioxidantes – T1), amostra contendo antioxidante sintético a 0,01% (T2), amostra contendo 2 mg.g⁻¹ de extrato de BUS (T3) e uma amostra contendo 4 mg.g⁻¹ de BUS (T4). Para a elaboração das linguiças com extrato de BUS, utilizou-se o extrato da melhor condição, determinada pelo planejamento fatorial (acetona 80%, 60°C, 15 minutos), sendo que os extratos foram evaporados e liofilizados. Os parâmetros físico-químicos e microbiológicos das formulações T1, T2, T3 e T4, resultaram em valores que estão em concordância com as legislações vigentes. A cor sofreu variações durante o tempo de armazenamento das linguiças

frescais de frango, sendo que T3 e T4 foram os tratamentos que tiveram maior ΔE e menores valores de L^* . Os tratamentos T1 e T2 obtiveram maiores valores de a^* , b^* e C^* . O pH decaiu, para as quatro formulações de linguiças, variando de 6,71 a 5,99, entre os tratamentos. Para medir a oxidação lipídica foi utilizada a metodologia TBARS. As amostras contendo BUS foram capazes de inibir a oxidação lipídica. No tempo de 8 dias de armazenamento a 4°C, em relação ao controle, T2 conseguiu inibir a formação de malonaldeído em 0,31%, enquanto que os tratamentos contendo 2 e 4 mg.g⁻¹ de extrato liofilizado de BUS (T3 e T4) inibiram 55% e 73% respectivamente.

Palavras-chave: Atividade antioxidante; bagaço de uvas; oxidação lipídica.

ABSTRACT

CASAGRANDE, Maira. **Antioxidant potencial evaluation os by-products of grape juice and grape wine industries for their application in chicken sausage**. 2013. 121 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 2014.

The search for natural products and the risk to human health due to consumption of synthetic antioxidants encourage research for the discovery of new potential sources of bioactive compounds. The production of wine and grape juice generates large amounts of pomace rich in phenolic compounds that can be used as natural antioxidants. The objective of this work was to evaluate the extraction of bioactive compounds from pomace of grape juice (BUS) and wine (BUV) industry using a 2^{4-1} fractional factorial design. After the determination of the better extraction condition for both co-products, was determinate with the total antioxidant activity using different determination methodology, and among the two samples (BUS and BUV), which obtained the largest quantifications by these methodologies, would be tested in the processing of chicken sausage in order to verify the inhibition of formation of malondialdehyde compared to synthetic antioxidant ES (sodium erythorbate). The independent variables studied were grape fruit pomace (GJP) and grape wine pomace (GWP), both temperature (40 and 60°C), extraction time of compounds (15-45 min), and solvent type (acetone and ethanol, 80%). Co-products extracts were analyzed in terms of the contents of TPC by Folin Ciocalteu and scavenging activity of the DPPH• radical. After determining the best extraction method of bioactive compounds in each pomace (GJP and GWP), we determined the amount of antioxidants required to decrease the initial concentration of DPPH at 50% (IC₅₀), ABTS• radical scavenging activity, Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP), and inhibition percentage by autoxidation of the system of β -carotene/linoleic acid. The DPPH radical scavenging activity in the 16 tests ranged from 65-149 $\mu\text{mol Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$, and the TPC from 18-35 $\text{mg GAE}\cdot\text{g}^{-1}$ (gallic acid equivalent). The statistical analysis explains the significance of the effects and coefficients of the model generated in terms of their antioxidant activities. The linear regression analysis showed that the model generated explain more than 93% of the data variability. Thus, for both pomaces, acetone 80% was the best solvent for the extraction of antioxidant compounds and the ideal extraction temperature was 60°C. However, the best extraction time for GJP was 15 min and for GWP, 45 min. Under these extraction conditions, GJP showed activity in the DPPH method (EC₅₀), ABTS^{•+}, FRAP, and inhibition percentage at 339 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 334 $\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$, 151 $\mu\text{mol Fe}^{2+}\cdot\text{g}^{-1}$ and 73%, respectively. The values for GWP were 489 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 249 $\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$, 111 $\mu\text{mol Fe}^{2+}\cdot\text{g}^{-1}$ and 68%, respectively. The responses of the factorial design showed that GJP had higher contents of phenolic compounds and antioxidant activity than GWP in its better extractions conditions. Was formulated four different chicken meat sausages: control sample (without antioxidant – T1), sample containing synthetic antioxidant 0.01% (T2), sample containing 2 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ of GJP extract (T3) and a sample containing 4 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ of GJP extract (T4), the GJP extract was utilized lyophilized and in your optimized condition according to the factorial design (acetone 80%, 60°C, 15 minutos), and the extracts were route-evaporated and lyophilized. The physicochemical and microbiological parameters of all formulations resulted in values that are consistent with current laws. Was observed color variations during the

storage period of fresh chicken sausages, treatments T3 and T4 had the highest ΔE and the smaller L^* values. T1 and T2 treatments had higher values of a^* , b^* and C^* . The pH showed a reduction for the four formulations of sausages, ranging from 6.71 to 5.99, between treatments. To measure lipid oxidation TBARS methodology was used. Samples containing BUS were able to inhibit lipid oxidation. At time 8 days of storage at 4 ° C, compared to the control, T2 could inhibit the formation of malonaldehyde 0.31%, while the treatments with 2 ad 04 mg.g⁻¹ of lyophilized BUS extract (T3 and T4) inhibited 55% and 73% respectively.

Keywords: Antioxidant activity; grape pomace; lipid oxidation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismo de ação dos antioxidantes.	26
Figura 2. Estrutura dos Flavonoides.....	28
Figura 3. Estrutura da cianidina 3-glucosídeo.	29
Figura 4. Estruturas fenólicas do BHA, BHT, PG e TBHQ.	29
Figura 5. Obtenção de bagaço de uvas. Onde: A (Suco ou Vinho), B (BUS) – Proveniente de Extração do Suco, C (BUV) – Proveniente de Processo Fermentativo.	34
Figura 6. Mecanismo geral da oxidação lipídica.....	40
Figura 7. Reação entre o ácido 2-tiobarbitúrico e o malonaldeído.	43
Figura 8. Fluxograma de trabalho.	44
Figura 9. (A) Amostras de bagaço de uvas oriundo do processamento de sucos – BUS. (B) Amostra de bagaço de uvas oriundo do processamento de vinhos – BUV.	45
Figura 10. Fluxograma do processamento do produto cárneo.	61
Figura 11. Amostras de linguiça de carne de frango oriundas da extração com TCA para a análise de TBARS. Aonde: Controle (T1), Sintético (T2), BUS 2 mg/g (T3) e BUS 4mg/g (T4)	64
Figura 12. Extratos do planejamento fatorial fracionário de extração 2^{4-1} , em duplicata, preparados a partir das amostras secas de BUV e BUS.	68
Figura 13. Gráfico de Pareto para resposta atividade antioxidante em compostos bioativos extraídos de bagaço de uvas provenientes de indústria de vinho e suco de uvas.....	71
Figura 14. Gráficos de superfície de resposta para a variável dependente atividade antioxidante em função de: Onde: Solvente X Bagaço.	71
Figura 15. Gráficos de superfície de resposta para a variável dependente atividade antioxidante em função de: Solvente X Tempo.	72
Figura 16. Gráficos de superfície de resposta para a variável dependente atividade antioxidante em função de: Solvente X Temperatura.....	72
Figura 17. Gráficos de superfície de resposta para a variável dependente atividade antioxidante em função de: Temperatura X Bagaço.	73

Figura 18. Gráficos de superfície de resposta para a variável dependente atividade antioxidante em função de: Tempo X Bagaço.....	73
Figura 19. Gráficos de superfície de resposta para a variável dependente atividade antioxidante em função de: Tempo X Temperatura.	74
Figura 20. Gráfico de Pareto para resposta compostos fenólicos totais em compostos bioativos extraídos de bagaço de uvas provenientes de indústria de vinho e suco de uvas.	78
Figura 21. Gráficos de superfície de resposta para a variável dependente compostos fenólicos totais em função de: Onde: Bagaço X Solvente.	78
Figura 22. Gráficos de superfície de resposta para a variável dependente compostos fenólicos totais em função de: Bagaço X Temperatura.	79
Figura 23. Gráficos de superfície de resposta para a variável dependente compostos fenólicos totais em função de: Solvente X Temperatura.	79
Figura 24. Correlação entre as variáveis dependentes do planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} , Compostos Fenólicos Totais e Atividade Antioxidante DPPH•.....	83
Figura 25. Curva cinética EC_{50} BUS por probitos. R^2 0,9939, $p(<0,000000687 \times 10^{-22})$, 1% Intervalo de Confiança.	85
Figura 26. Curva cinética EC_{50} BUV por probitos. R^2 0,9996, $p(<0,000000381 \times 10^{-31})$, 1% Intervalo de Confiança.	85
Figura 27. Imagem das linguiças frescal de carne de frango. T1: Linguiça frescal de frango sem antioxidantes - Amostra controle, T2: Linguiça frescal de frango contendo antioxidante sintético ES, T3: Linguiça frescal de frango contendo extrato de BUS na concentração de 2 mg.g^{-1} de BUS e T4: Linguiça frescal de frango contendo extrato de BUS na concentração de 4 mg.g^{-1} : T4. Fonte: Da autora (2014).	93
Figura 28. Análise dos componentes principais (ACP) das análises de cor das quatro formulações de linguiça frescal de carne de frango. Aonde: T1a ao T1f – Amostra Controle; T2a ao T2f – Amostras Contendo ES; T3a ao T3f – Amostras Contendo 2 mg.g^{-1} de BUS; T4a ao T4f – Amostras Contendo 4 mg.g^{-1} de BUS (Determinações dos parâmetros a^* , b^* , L^* , C^* , H e ΔE).	97
Figura 29. Análise dos componentes principais (ACP) das análises de cor dos quatro tratamentos de linguiça frescal de carne de frango. Descritores que separaram as amostras nos tempos de estocagem 0, 2, 4, 6 e 8 dias de armazenamento a 4°C . Aonde: a^* (luminosidade), b^* (vermelho-verde), L^* (amarelo-azul), C^* (Chroma), H (Hue) e ΔE (Diferença do padrão branco).	98

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Antioxidantes sintéticos e percentuais de inserção permitidos em produtos cárneos frescos embutidos ou não-embutidos.	32
Tabela 2. Níveis decodificados das variáveis independentes do planejamento fatorial (2^{4-1}) de extração de compostos bioativos de BUS e de BUV: temperatura de extração, tempo de extração, solvente para extração e bagaço de uvas para a extração na avaliação de atividade antioxidante e compostos fenólicos totais.	50
Tabela 3. Níveis codificados das variáveis independentes do planejamento fatorial (2^{4-1}) de extração de compostos bioativos de BUS e de BUV: temperatura de extração, tempo de extração, solvente para extração e bagaço de uvas para a extração na avaliação de atividade antioxidante e compostos fenólicos totais.	50
Tabela 4. Proporção dos ingredientes nas formulações T1, T2, T3 e T4 de Linguíça Fresca de Carne de Frango.....	60
Tabela 5. Umidade das amostras de BUS e BUV após os respectivos processamentos da indústria e coleta.	66
Tabela 6. Composição centesimal das amostras de BUS e BUV após processamento de secagem e moagem dos bagaços de uvas coletados.....	67
Tabela 7. Resultados da variável dependente atividade antioxidante, do planejamento fatorial fracionário de extração 2^{4-1} , em compostos bioativos extraídos de bagaço de uvas provenientes de indústria de vinho e suco de uvas.....	69
Tabela 8. Análise de variância (ANOVA) para a resposta atividade antioxidante em compostos bioativos extraídos de bagaço de uva provenientes de indústria de vinho e suco de uva.	69
Tabela 9. Análise de estimativas de efeitos e coeficientes do modelo linear para a resposta da atividade antioxidante de compostos bioativos extraídos em coprodutos industriais.	70
Tabela 10. Resultados da variável dependente compostos fenólicos totais, do planejamento fatorial de extração, em compostos bioativos extraídos de bagaço de uvas provenientes de indústria de vinho e suco de uvas.	76
Tabela 11. Análise de variância (ANOVA) para a resposta compostos fenólicos totais em compostos bioativos extraídos de bagaço de uva provenientes de indústria de vinho e suco de uva.	77

Tabela 12. Análise de estimativas de efeitos e coeficientes do modelo linear para a resposta de compostos fenólicos totais de compostos biativos extraídos em coprodutos industriais.....	77
Tabela 13. Limites inferior e superior para EC50 por probitos para as amostras de BUS e BUV em suas melhores condições e para o antioxidante sintético ES.	86
Tabela 14. Atividade antioxidante equivalente ao Trolox pelo método ABTS** dos extratos da melhor condição de extração de BUS e de BUV determinadas pelo planejamento fatorial fracionário 2^{4-1}	87
Tabela 15. Atividade antioxidante pelo método da redução do Fe dos extratos da melhor condição de extração de BUS e de BUV determinados pelo planejamento fatorial fracionário 2^{4-1}	89
Tabela 16. Atividade antioxidante pelo sistema β -Caroteno/Ácido Linoleico dos extratos da melhor condição de extração de BUS e de BUV determinados pelo planejamento fatorial fracionário 2^{4-1}	91
Tabela 17. Flavonoides e Antocianinas dos extratos da melhor condição de extração de BUS e de BUV determinados pelo planejamento fatorial fracionário 2^{4-1}	92
Tabela 18. Resultados das análises de composição centesimal das quatro formulações de linguiça fresca de carne de frango.	94
Tabela 19. Resultados das análises microbiológicas das 4 formulações de linguiça fresca de carne de frango.....	94
Tabela 20. Resultados das análises de cor das quatro formulações de linguiça fresca de carne de frango fresca, analisadas cruas, armazenadas por diferentes períodos de tempo a 4°C.....	95
Tabela 21. Resultados das análises de pH das amostras das quatro formulações de linguiça fresca de carne de frango, cruas, durante 8 dias de estocagem a 4°C.....	100
Tabela 22. Resultados das análises de TBARS das quatro formulações de linguiça fresca de frango em relação ao tempo de armazenamento das amostras cruas, estocadas a 4°C.	102

LISTA DE ABREVIATURAS SIGLAS E ACRÔNIMOS

A•: Radical Inerte

%AA: Percentual de Atividade Antioxidante

ABTS^{•+}: 2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico)

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AS: Antioxidante Sintético

BHA: Butilhidroxianisol

BHT: Butilhidroxitolueno

BUS: Bagaço de Uvas Oriundo do Processamento de Sucos

BUV: Bagaço de Uvas Oriundo do Processamento de Vinhos

CMS: Carne Mecanicamente Separada

DPPH•: 1,1-difenil-2-picrilidrazina

EC₅₀: Concentração eficiente (efficient concentration)

EDTA: Ácido Etilenodiamino Tetraacético

ES: Eritorbato de Sódio

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power

GP: Galato de Propila

IC₅₀: Concentração inibitória (inhibitory concentration)

INMETRO: Instituto Nacional de Metrologia

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento

MDA: Malonaldeído

NO•: Óxido nítrico

NOO•: Dióxido de nitrogênio

(O₂)⁻: Íon superóxido

OH: Hidroxila

OH•: Radical hidroxila

RH: Ácido Graxo Insaturado

RO•: Radicais alcoxila

ROO•: Radicais peroxila

ROOH: Hidroperóxidos

TBARS: Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

TBHQ: Terc-butilhidroquinona

TCA: Ácido Tricloroacético

TEAC: *Trolox equivalent antioxidant capacity*

TPTZ: Tripiridiltriazina

UFC/g: Unidade Formadora de Colônias por Grama de Amostra

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	22
2 OBJETIVOS	24
2.1 Objetivo geral	24
2.2 Objetivos específicos	24
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
3.1 ANTIOXIDANTES	25
3.1.1 Compostos Fenólicos	26
3.1.2 Flavonoides	27
3.1.3 Antocianinas	28
3.2 ANTIOXIDANTES NATURAIS E SINTÉTICOS	29
3.2.1 Antioxidantes Sintéticos	29
3.2.2 Antioxidantes Naturais.....	30
3.2.3 Antioxidantes nos Alimentos	31
3.3 COPRODUTOS DA INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA	32
3.3.1 Uvas e Bagaço de Uvas	33
3.3.2 Extração de compostos bioativos.....	35
3.4 MERCADO DA CARNE DE FRANGO	37
3.5 LINGUIÇA	37
3.6 OXIDAÇÃO LIPÍDICA	38
3.6.1 Oxidação da carne	41
3.7 SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO 2-TIOBARBITÚRICO – TBARS	43
4 MATERIAL E MÉTODOS	44
4.1 MATERIAL	45
4.2 MÉTODOS	46
4.2.1 Metodologias de composição centesimal das amostras de farinhas de bagaço de uvas.....	46
4.2.1.1. Umidade	46
4.2.1.2 Teor de cinza.....	46
4.2.1.3 Proteína Bruta Total	46
4.2.1.4 Extrato etéreo.....	48
4.2.1.5 Fibra Bruta Total.....	48
4.2.1.6 Carboidratos	49

4.2.2	Metodologias de obtenção e caracterização dos extratos dos bagaços de uvas	49
4.2.2.1	Delineamento experimental para extração dos compostos bioativos	49
4.2.2.2	Preparo dos Extratos de BUS e BUV	51
4.2.2.3	Determinação de compostos fenólicos totais dos extratos de BUS e de BUV obtidos pelas combinações do planejamento fatorial fracionário 2^{4-1}	52
4.2.2.4	Análise de flavonoides totais da melhor condição de extração de BUS e de BUV	53
4.2.2.5	Análise de Antocianinas da melhor condição de extração de BUS e de BUV	53
4.2.2.6	Avaliação da atividade antioxidante <i>in vitro</i> dos extratos de BUS e de BUV	54
4.2.2.6.1	Análise da atividade antioxidante pelo método do DPPH•	54
4.2.2.6.2	Análise de Atividade Antioxidante pelo método ABTS ^{•+} da melhor condição de extração de BUS e de BUV	57
4.2.2.6.3	Análise da Autoxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico da melhor condição de extração de BUS e de BUV	57
4.2.2.6.4	Atividade antioxidante total pelo método de redução do ferro (FRAP) da melhor condição de extração de BUS e de BUV	59
4.2.3	Metodologias de Elaboração, composição centesimal e análises microbiológicas do produto cárneo	60
4.2.3.1	Elaboração da Linguiça Frescal de Frango	60
4.2.3.2	Composição centesimal da linguíça frescal de frango	62
4.2.3.3	Análises microbiológicas da linguíça frescal de frango	62
4.2.4.1	Cor	63
4.2.4.2	Potencial hidrogeniônico – pH	63
4.2.4.3	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico – TBARS	63
4.2.5	Análise estatística	65
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
5.1	CARACTERIZAÇÃO DOS BUS E BUV E PREPARO DOS EXTRATOS	66
5.1.1	Coleta das amostras de BUS e BUV	66
5.1.2	Caracterização das amostras de BUS e BUV após secagem e moagem	66
5.2	PLANEJAMENTO FATORIAL DE EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DAS AMOSTRAS APÓS SECAGEM DE BUS E DE BUV	68

5.2.1 Análises estatísticas das variáveis dependentes Atividade antioxidante e Compostos fenólicos totais.....	69
5.2.1.1 Variável Dependente: Atividade antioxidante	69
5.2.1.2 Variável Dependente: Compostos fenólicos totais	76
5.3 ESTUDO DA BIOATIVIDADE DOS EXTRATOS DE BUS E BUV NAS SUAS MELHORES CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO	84
5.3.1 Curva Cinética EC ₅₀ por Probitos dos extratos da melhor condição de extração de BUS e de BUV.....	84
5.3.2 Resultados da análise de atividade antioxidante pelo método do ABTS ^{•+} dos extratos da melhor condição de extração de BUS e de BUV	87
5.3.3 Resultados da análise de atividade antioxidante pelo método de FRAP dos extratos da melhor condição de extração de BUS e de BUV	89
5.3.4 Resultados da análise de Auto-oxidação do sistema β-caroteno/ácido linoleico dos extratos da melhor condição de extração de BUS e de BUV	91
5.3.5 Resultados das análises de quantificação de flavonoides e antocianinas dos extratos da melhor condição de extração de BUS e de BUV	92
5.4 CARACTERIZAÇÃO DO PRODUTO CÁRNEO.....	93
5.4.1 Composição Centesimal das linguiças frescal de frango	93
5.4.2 Análise Microbiológica das Linguiças frescal de frango	94
5.5 AVALIAÇÃO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO DO PRODUTO CÁRNEO	95
5.5.1 Resultados das análises de cor.....	95
5.5.3 pH.....	100
5.5.3 TBARS	102
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	105
7 REFERÊNCIAS.....	107

1 INTRODUÇÃO

Os produtos naturais têm sido fontes valiosas para o desenvolvimento de novos princípios ativos (MELO *et al.*, 2011), permitindo o avanço na descoberta de biomoléculas com potencial aplicação em várias áreas da ciência. O valor dos produtos naturais está claramente reconhecido e os desafios são extrair, identificar e aplicar esses compostos bioativos em substituição às substâncias sintéticas, principalmente na indústria alimentícia e farmacêutica.

Com o crescente conhecimento a respeito do impacto de antioxidantes sintéticos presentes em alimentos, na saúde humana, combinado com a suposição de que antioxidantes como o butilhidroxitolueno (BHT) e o butilhidroxianisol (BHA) podem ter efeitos negativos (BANNAWART; TOLEDO, 1999) tem-se multiplicado os estudos a respeito de antioxidantes naturais encontrados em produtos naturais, ervas, frutas e vegetais e em coprodutos agroindustriais.

Os resíduos do processamento de suco de uva e de vinho são compostos por semente, casca, engaço e restos da polpa da uva e tem seu conteúdo rico em compostos fenólicos, antocianinas, corantes e outros compostos com atividades fitoterápicas e com excelente capacidade antioxidante. Em grandes quantidades, esses coprodutos podem trazer impactos negativos ao meio ambiente quando descartados de forma inadequada. Sendo assim, se bem aproveitada pode trazer ganhos econômicos e ambientais (FERRARI, 2010). Estes coprodutos de suco de uvas e de vinho podem ser reaproveitados para atuarem como antioxidantes em linguiça frescal de frango.

O Brasil é um grande produtor mundial de carne de frango, e com potencial de ampliar ainda mais a sua capacidade de produção. A carne pelo seu conteúdo natural de ácidos graxos poliinsaturados é passível de sofrer a rancidez oxidativa e levar a formação de peróxidos e hidroperóxidos. A rancidez oxidativa reduz a qualidade dos alimentos pela produção de aromas e sabores indesejáveis, os quais normalmente não são característicos de um produto sadio e seguro e desta forma, causam a aversão do consumidor, bem como a redução da vida útil do produto final. As reações de oxidação podem sintetizar também compostos que além de deteriorarem o alimento, sejam tóxicos à saúde (SHIMOKOMAKI *et al.*, 2006).

A linguiça pelo seu processo de fabricação tem grande propensão de sofrer oxidação lipídica, sendo necessário para a inibição do ranço, fazer o uso de

antioxidantes. Os antioxidantes tem a tarefa de inativar os radicais livres, para que as reações de oxidação lipídica que foram desencadeadas por alguns agentes, reduzam a sua velocidade consideravelmente. Os agentes que desencadeiam a oxidação lipídica podem ser: traços de hidroperóxidos presentes nos alimentos, metais, luz, entre outros.

Os antioxidantes naturais podem ser extraídos de plantas, partes de plantas, excedentes de produções como bagaços, cascas, caules, folhas de vegetais de plantas. A extração é realizada através de solventes, que tem o intuito de realizar a dissolução e concentração dos antioxidantes naturais presentes nas plantas estudadas. A forma de extração dos antioxidantes e a ação deles como inibidores do ranço oxidativo vem sendo estudada para a substituição do antioxidante sintético pelo natural na tecnologia de produção de alimentos (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Este estudo teve como objetivo avaliar as melhores condições de extração de compostos bioativos, através de um planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} , de BUS e de BUV. E, após a determinação da melhor condição para ambos os coprodutos, avaliá-los quanto a determinação de diferentes metodologias de quantificação de atividade antioxidante. É objetivo também deste estudo, escolher dentre os extratos das melhores condições de BUS e BUV, o qual obteve maiores quantificações de atividade antioxidante por estas metodologias e menor EC_{50} e inserí-lo em sua forma liofilizada no processamento de linguiça frescal de frango, com intuito de verificar a inibição da formação de malonaldeído em comparação ao antioxidante sintético ES.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Determinar a melhor condição de extração de compostos bioativos de bagaços de uvas oriundos do processamento de sucos de uvas e de vinhos, bem como, verificar a capacidade de inibição da rancidez oxidativa do extrato da melhor condição em linguiça frescal de carne de frango.

2.2 Objetivos específicos

- Obter os extratos a partir dos bagaços de uvas conforme a matriz do planejamento fatorial;
- Determinar atividade antioxidante *in-vitro* dos extratos de coprodutos da indústria de sucos de uvas e de vinho pelo método de sequestro do radical DPPH[•] e compostos fenólicos totais pelo método do Folin-Ciocalteu;
- Analisar o planejamento fatorial e verificar quais fatores (variáveis independentes) tem influência significativa nas respostas (variáveis dependentes);
- Analisar nos extratos de melhores condições de BUV e BUS: atividade antioxidante por EC₅₀, atividade antioxidante pelo método da auto-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico, atividade antioxidante pela redução do Ferro (FRAP), atividade antioxidante pelo método ABTS^{•+}, flavonoides totais e antocianinas;
- Elaborar a linguiça frescal de carne de frango acrescida de ES a 0,01% (T2); elaborar linguiça frescal de carne de frango com antioxidantes naturais oriundos da melhor condição de extração a 2mg.g⁻¹ de extrato liofilizado (T3) e a 4mg.g⁻¹ (T4) e elaborar linguiça frescal de carne de frango sem adição de antioxidantes (T1);
- Analisar os produtos elaborados (T1, T2, T3 e T4), crus, quanto aos padrões físico-químicos e microbiológicos conforme a legislação vigente. Analisar T1, T2, T3 e T4 quanto os parâmetros de Cor e pH e quanto à inibição da formação de rancidez oxidativa nos tempos: 0, 2, 4, 6 e 8 dias de armazenamento a 4 °C.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ANTIOXIDANTES

De acordo com Halliwell (1997) o oxigênio é essencial à vida humana, no entanto também pode ser nocivo, apresentando algumas espécies altamente reativas. Podendo citar o íon superóxido (O_2^-), radical hidroxila (OH^\bullet), radicais peroxila (ROO^\bullet), radicais alcóxila (RO^\bullet), óxido nítrico (NO^\bullet) e dióxido de nitrogênio (NOO^\bullet), sendo que, a presença dos antioxidantes podem resultar na redução da formação dessas espécies através da captura das mesmas ou de seus precursores.

Conforme Kaur e Kapoor (2001), os radicais livres reagem rapidamente com compostos instáveis de forma a capturar seus elétrons. Os antioxidantes são neutralizadores de radicais livres. Fazem isso doando um de seus elétrons, retardando as reações de oxidação e desencadeamento de radicais livres. Os antioxidantes são estáveis, por isso não se tornam radicais livres doando os seus elétrons. Sendo assim, são substâncias capazes de estabilizar os radicais livres.

Conforme Ramalho e Jorge (2006) do ponto vista estrutural os antioxidantes são compostos aromáticos que possuem ao menos uma hidroxila (-O-H). Eles podem ser sintéticos, os quais são largamente utilizados pela indústria de alimentos, e também naturais, sendo os organosulfurados, fenólicos e terpenos.

A atuação dos antioxidantes, exposto por Ramalho e Jorge (2006), ocorre quando o átomo de hidrogênio ativo do antioxidante é abstraído pelos radicais livres e radicais peróxidos, sendo que este ato ocorre mais facilmente do que com os hidrogênios alílicos das moléculas insaturadas, e deste ato são formadas espécies inativas para reagir em cadeia e também um radical inerte (A^\bullet) procedente do antioxidante, levando a estabilidade da reação. O radical inerte é estabilizado por ressonância, logo não tem a capacidade de iniciar ou propagar as reações oxidativas (RAMALHO; JORGE, 2006). Desta forma, o mecanismo de ressonância que possuem os antioxidantes (por possuírem anel de benzeno) os impedem de não virem a se tornar um radical livre e assim potencializar a oxidação lipídica.

A figura 1 apresenta o mecanismo de ação dos antioxidantes (AH) conforme elucidado por Frankel (1980). Aonde ROOH são hidroperóxidos.

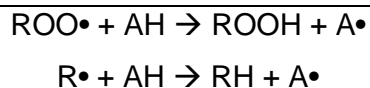


Figura 1. Mecanismo de ação dos antioxidantes.
Fonte: FRANKEL (1980).

Conforme Melo *et al.* (2009), a concentração de fitoquímicos e os compostos bioativos existentes nos alimentos interferem na eficácia da ação antioxidante dos mesmos. Sendo que os teores desses componentes no alimento são influenciados por fatores genéticos, condições ambientais, grau de maturação, variedade da planta, entre outros fatores.

Os flavonoides e ácidos fenólicos podem ser compostos responsáveis pela atividade antioxidante das plantas. Brighente *et al.* (2007) afirmaram isto ao verificar compostos fenólicos, flavonoides e a atividade antioxidante em duas espécies de carqueja (*Baccharis illinita* DC) e (*Baccharis platypoda* DC), pinheiro-da-praia (*Polygala cyparissias* A), timutu-pinheirinho (*Polygala sabulosa*), Xaxim (*Cyathea phalerata* Mart) e Catuaba (*Trichilia catigua* A).

3.1.1 Compostos Fenólicos

Melo *et al.* (2009) define os compostos fenólicos como pertencentes a um amplo e complexo grupo de fitoquímicos, sendo produzidos pelo metabolismo secundário de vegetais e tem como estrutura básica um anel aromático podendo ter uma ou mais hidroxilas. Os compostos fenólicos conforme a sua estrutura pertencem a classes, e de acordo com o número e posição dos seus grupos hidroxilas e de outros grupos substituintes que existem na molécula, são separados em subclasses.

Segundo Kahkonen *et al.* (1999), os compostos fenólicos podem ser encontrados em plantas comestíveis ou não, os mesmos podem ter múltiplos efeitos biológicos, incluindo a atividade antioxidante. Os extratos de frutas, ervas, legumes, cereais e outros materiais vegetais ricos em compostos fenólicos são objetos de interesse das indústrias alimentícias, já que os mesmos possuem potencial de retardar a degradação oxidativa dos lipídeos, melhorando a qualidade e valor nutricional dos alimentos produzidos.

Os compostos fenólicos vegetais constituem um grupo quimicamente heterogêneo, com aproximadamente 10.000 compostos. Alguns compostos fenólicos são solúveis em solventes orgânicos, outros são ácidos carboxílicos e glicosídeos

solúveis em água e existem compostos fenólicos que são grandes polímeros insolúveis (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Podem ser classificados em flavonoides e não flavonoides. Sendo que os não flavonoides compreendem o grupo dos ácidos benzoicos (C6 – C1), tendo como derivados os ácidos salicílicos, vanílico, hidroxibenzóico, gentísico, siríngico, gálico e protocatéquico. Compreende também o grupo dos não flavonoides, os ácidos cinâmicos, que são portadores de cadeia lateral insaturada (C6 – C3) e outros derivados fenólicos como os estilbenos (resveratrol) (FLANZY, 2000).

3.1.2 Flavonoides

Os flavonoides constituem a maior classe de compostos fenólicos vegetais. O esqueleto básico dos flavonoides contém 15 carbonos organizados em dois anéis aromáticos, conectados por uma ponte de três carbonos e incluem um grande número de substâncias coloridas (TAIZ; ZEIGER, 2009). São fitoquímicos que beneficiam a saúde. Quase todos os tecidos de plantas são capazes de sintetizar flavonoides, havendo pelo menos 2.000 de ocorrência natural, estando presentes em: frutas comestíveis, vegetais folhosos, raízes, tubérculos, bulbos, ervas, temperos, legumes, chá, café e vinho tinto. Podendo ser os flavonoides classificados em sete grupos: flavonas, flavononas, flavonolóis, isoflavonas, flavanóis (catequinas) e antocianinas (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Segue abaixo na figura 2, a estrutura dos flavonoides.

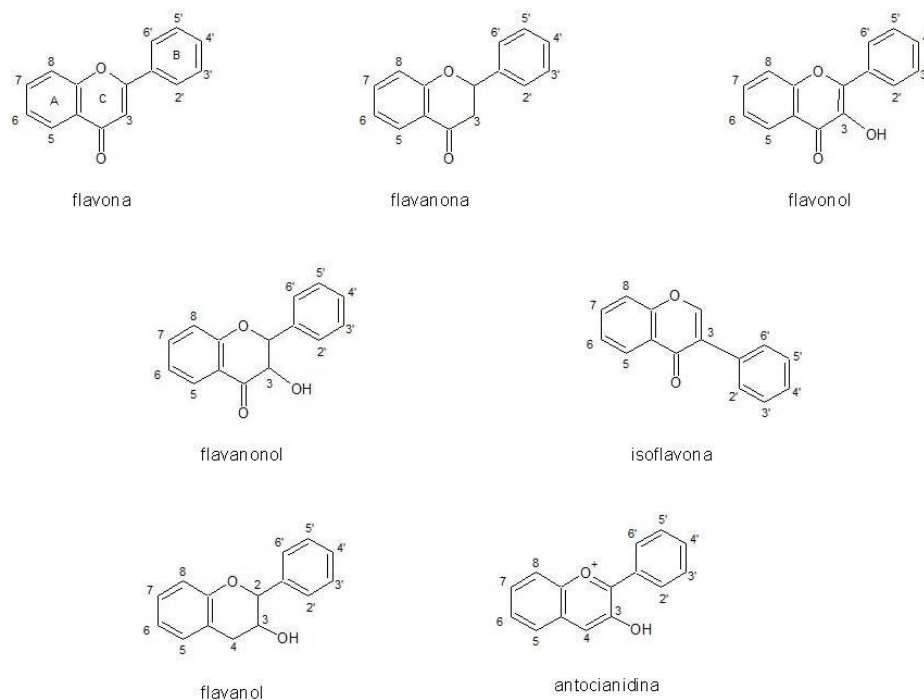


Figura 2. Estrutura dos Flavonoides.
 Fonte: DAMODARAN; PARKIN E FENNEMA (2010).

A quercetina também é um flavonoide muito comum encontrado em alimentos como: uva, vinho, chá, cebola, maçã e vegetais verdes folhosos (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

3.1.3 Antocianinas

O grupo mais comum dos flavonoides pigmentados são as antocianinas, sendo responsáveis pelas cores vermelha, roxa, rosa e azul observadas nos vegetais. As antocianinas são glicosídeos que apresentam açúcares na posição 3 e em algumas vezes em outras posições. Quando sem a molécula de açúcar, as antocianinas são chamadas antocianidinas (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

As antocianinas são consideradas como excelentes antioxidantes por doarem hidrogênio aos radicais livres altamente reativos, prevenindo formação de novos radicais (CHITARRA; CHITARRA, 2005). A cianidina 3-glicosídeo é uma estrutura de antocianina presente na maioria dos vegetais (MARÇO; POPPI; SCARMINIO, 2008) (figura 3).

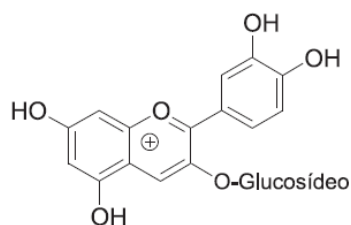


Figura 3. Estrutura da cianidina 3-glucosídeo.
Fonte: MARÇO; POPPI E SCARMINIO (2008).

3.2 ANTIOXIDANTES NATURAIS E SINTÉTICOS

3.2.1 Antioxidantes Sintéticos

Conforme Ordóñez *et al.* (2005) e Ramalho e Jorge (2006), os compostos fenólicos BHA, BHT, tercbutilhidroquinona (TBHQ) e galato de propila (GP) são os antioxidantes sintéticos utilizados com maior frequência pela indústria de alimentos.

Seguem abaixo, na figura 4, as estruturas fenólicas dos antioxidantes citados acima, conforme Ramalho e Jorge (2006).

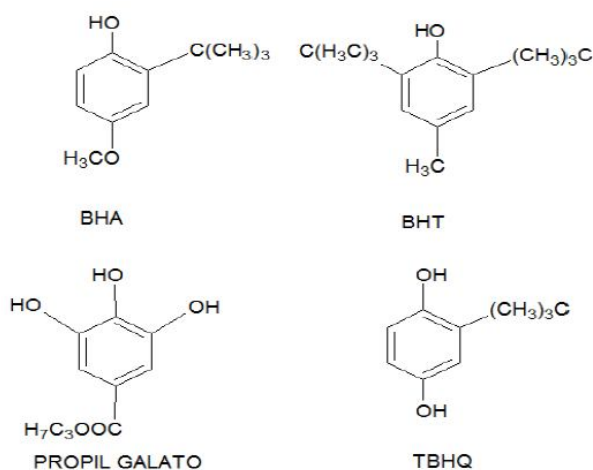


Figura 4. Estruturas fenólicas do BHA, BHT, PG e TBHQ.
Fonte: RAMALHO E JORGE (2006).

Segundo Couvelier, Berset & Richard (1994), a oxidação lipídica é a maior causa de deterioração química nos alimentos, e uma forma de se evitar ou reduzir a oxidação lipídica é o uso de antioxidantes, que vem sendo usualmente utilizado para esse fim em alimentos há mais de meio século.

Tanto o BHA como o BHT são largamente utilizados como antioxidantes em alimentos, e boa parte dessa larga utilização se deve ao fato de terem sido

considerados como “GRAS” (*Generally reconized as safe*) pelo governo norte americano, isto é, tem baixa ou nenhuma ação carcinogênica nos testes.

Porém esse conceito vem mudando com pesquisas mais recentes, que apontam esses compostos como tendo potencial ação carcinogênica e mutagênica em seres vivos, outra desvantagem do consumo dessas substâncias por seres humanos advêm do fato de que o mecanismo dessa ação deletéria não estar ainda elucidado (VERHAGEN, *et al.* 1990) e tal fato vem promovendo uma busca pela substituição desses compostos. A exemplo Cabral et al. (2011) elucidam que os antioxidantes sintéticos vêm sendo apontados como causadores de câncer, alterações enzimáticas e alterações lipídicas em animais (CABRAL *et. al.*, 2011).

Muitos estudos estão ligando o uso de antioxidantes sintéticos com diferentes tipos de doenças em seres humanos e em cobaias, o que vem provocando por parte das autoridades o enrijecimento das normas que versam a respeito de seu uso em alimentos, e isso vem despertando a forte necessidade do isolamento de antioxidantes extraídos de fontes naturais.

3.2.2 Antioxidantes Naturais

De acordo com Devatkal, Narsaiah e Borah (2010), os relatos dos efeitos adversos à saúde da utilização de antioxidantes sintéticos em alimentos como BHA e BHT, fomentam a pesquisa de antioxidantes naturais para a sua aplicação em produtos cárneos. Os antioxidantes naturais são extraídos de produtos naturais como plantas ou partes de plantas e por este motivo são mais aceitos pelos consumidores do que os antioxidantes sintéticos. E são aplicáveis para estender a vida útil dos alimentos.

Segundo Mariutti e Bragagnollo (2007) atualmente a preocupação do consumidor com a saúde tornou maior a procura por produtos naturais. Essa demanda vem paralela à necessidade de realização de estudos do potencial antioxidante de extratos de plantas. Isto com intuito de conforme o potencial da planta, usar os seus antioxidantes em alimentos em substituição aos antioxidantes sintéticos.

Substituir os antioxidantes sintéticos por naturais é uma forma vantajosa nos quesitos saúde humana e funcionalidade alimentar. Além disso, a utilização de antioxidantes naturais além de dar um bom destino aos coprodutos das indústrias

alimentícias, não os descartando no meio ambiente, favoreceria o homem também sendo um coadjuvante para a sua saúde. As cascas e as sementes dos resíduos de frutos que normalmente são descartados podem ser fontes naturais de antioxidantes (OLIVEIRA *et al.*, 2009). Conforme Hagerman *et al.* (1998) os materiais vegetais possuem compostos com alta atividade antioxidante e diversas plantas tem sido estudadas com intuito de verificar o potencial antioxidante que possuem.

Por exemplo, fontes naturais de antioxidante foram detectadas por diversos autores. Santos *et al.* (2008) detectou em açaí (*Euterpe oleracea* Mart); Abros *et al.* (2010) em hortaliças orgânicas, rúcula, almeirão, alface; Citados por Oliveira *et al.* (2009), frutas e derivados, verduras e hortaliças, bebidas, plantas e temperos, diversas sementes, vários coprodutos como por exemplo bagaços de maçã e bagaços de uvas, alimentos produzidos a partir de coprodutos da indústria alimentícia e entre outras fontes naturais de antioxidantes.

3.2.3 Antioxidantes nos Alimentos

Conforme Oliveira *et al.* (2009), a deterioração de óleos e gorduras é responsável pelos odores e sabores rançosos e esses fatores contribuem para a redução da qualidade do alimento e compromete a segurança alimentar, isto pelo fato de a reação de rancidez oxidativa gerar componentes secundários tóxicos.

Segundo a Portaria nº 540 - SVS/MS, de 27 de outubro de 1997, da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), a qual dispõe sobre definição, classificação e emprego dos aditivos alimentares, define que os antioxidantes são substâncias que tem a função de retardar o aparecimento de alterações oxidativas nos alimentos. Desta forma, podem agir na inibição das reações de oxidação dos lipídeos, combatendo os radicais livres, atuando na redução dos mesmos (BRASIL, 1997).

Conforme o Decreto nº 55.871, de 26 março de 1965, sempre que é utilizado um aditivo na produção de algum alimento pela primeira vez, faz-se necessário a justificativa do uso, relacionado às percepções de vantagens tecnológicas que tornam necessária a sua adição e a não possibilidade da conquista da vantagem por processo tecnológico de fabricação, não sendo permitido encobrir falhas de processo, adulteração ou induzir o consumidor ao erro (BRASIL, 1965).

De acordo com a Portaria nº 1004, de 11 de dezembro de 1998, da ANVISA, que dispõe sobre o regulamento técnico de inserção de aditivos químicos em produtos cárneos, seguem na tabela 1 os antioxidantes sintéticos permitidos para inserção em produtos cárneos frescos embutidos ou não-embutidos e as respectivas quantidades que podem ser incorporadas ao produto (BRASIL, 1998).

Tabela 1. Antioxidantes sintéticos e percentuais de inserção permitidos em produtos cárneos frescos embutidos ou não-embutidos.

INS	Aditivo	Limite Máximo g/100g
ANTIOXIDANTE		
300	Ácido ascórbico	q.s.*
301	Ascorbato de Sódio	q.s.*
302	Ascorbato de Cálcio	q.s.*
303	Ascorbato de Potássio	q.s.*
315	Ácido eritórbico, ácido isoascórbico	q.s.*
316	Eritorbato de sódio, isoascorbato de sódio	q.s.*
320	BHA **	0,01 ***
321	BHT **	0,01 ***
310	GP **	0,01 ***

Fonte: Brasil (1998). *Quantidade suficiente, **Sós ou combinados sob base gordurosa; *** Exclusivamente para a elaboração de embutidos frescos ou congelados. INS: International Number System.

Alimentos que possuem constituintes lipídicos são facilmente deteriorados por reações de oxidação limitando a vida de prateleira, especialmente dos alimentos cárneos. Mudanças de cor, sabor, textura, valor nutricional e produção de compostos potencialmente tóxicos são alguns fatores que podem reduzir a qualidade dos alimentos. Lembrando que processos tecnológicos como moagem, tratamento térmico, aplicação de alta pressão, temperatura de armazenamento, tipo de embalagem utilizada e exposição à luz também são fatores que afetam a qualidade dos produtos alimentícios (MARIUTTI e BRAGAGNOLO, 2009).

3.3 COPRODUTOS DA INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA

Oliveira *et al.* (2009), explicitam que os resíduos industriais provenientes da extração de sucos naturais, sucos concentrados, doces em conserva, polpas e extratos, possuem sementes e cascas, que são fontes naturais de antioxidantes, e

estes são muitas vezes descartados, ao invés de serem utilizados para evitar o desperdício de alimentos (OLIVEIRA et al., 2009). São produtos com alta concentração de compostos fenólicos, os quais podem ser alternativas para substituir seus equivalentes sintéticos (ZHOU et al., 2009).

3.3.1 Uvas e Bagaço de Uvas

Em 1535, na Capitania de São Vicente, teve início o cultivo de uvas, trazido pelos portugueses ao Brasil. Atualmente, a produção de vinho no Brasil movimentou a economia da Serra Gaúcha (OLIVEIRA, 2007).

A evolução da expansão da cultura da uva no país está abrindo portas para o desenvolvimento de novas tecnologias que contribuem para o estabelecimento da vitivinicultura como uma atividade economicamente rentável no país (CAMARGO; MAIA; RITSCHER, 2010).

Conforme a União Brasileira de Viticultura (Uvibra) (2013), em 2009 o Brasil produziu aproximadamente 534 milhões de quilos de uvas, em 2011 houve um aumento de 24% na produção. Do total de 2011, aproximadamente 709 milhões de quilos de uvas produzidas, 44% foram destinadas para a produção de vinhos, 22% destinadas a produção de derivados.

Oliveira *et al.* (2009) em seu trabalho de revisão de fontes vegetais naturais de antioxidantes, enfatizou a possibilidade de muitas plantas *in-natura*, processadas ou de seus coprodutos agroindustriais ser fontes de antioxidantes. Dentre as fontes de antioxidantes citadas estavam: frutas, tubérculos, cascas, sementes, óleos. Sendo os mais promissores os produtos de processamento de uvas, acerola e alguns temperos como gengibre e alecrim.

As uvas da variedade *Vitis labrusca* são cultivadas no Brasil principalmente para a produção de sucos, sendo que as mesmas representam 80% das uvas cultivadas no país (TOALDO *et al.*, 2013). A uva bordô é originária dos Estados Unidos da América (EUA) (ROMBALDI *et al.*, 2004). No Brasil também é conhecida como 'Folha de figo' e seu nome correto é Ives. A sua colheita é realizada na sua maioria, no estado do Rio Grande do Sul, em Bento Gonçalves, normalmente de 15 a 30 de janeiro. Por ser resistente a doenças fúngicas adapta-se facilmente e tem boa produtividade, sendo assim é muito procurada para ser cultivada e além disso, a sua coloração permite aumentar a intensidade da cor de sucos e vinhos que são

oriundos de uvas com coloração menos intensa (RIZZON; MANFROI; MENEGUZZO, 1998).

Do processamento de uvas para a produção de vinho e suco é gerado o bagaço de uvas. A uva é processada para a obtenção do produto final de interesse. Sendo fermentada ela origina o vinho, pela obtenção do etanol, continuando a fermentação chega-se a vinagre, pela obtenção do ácido acético. Quando houver apenas a extração de seu suco, sem fermentação, é obtido o suco de uvas. Conforme é exemplificado na figura 5, que segue abaixo.

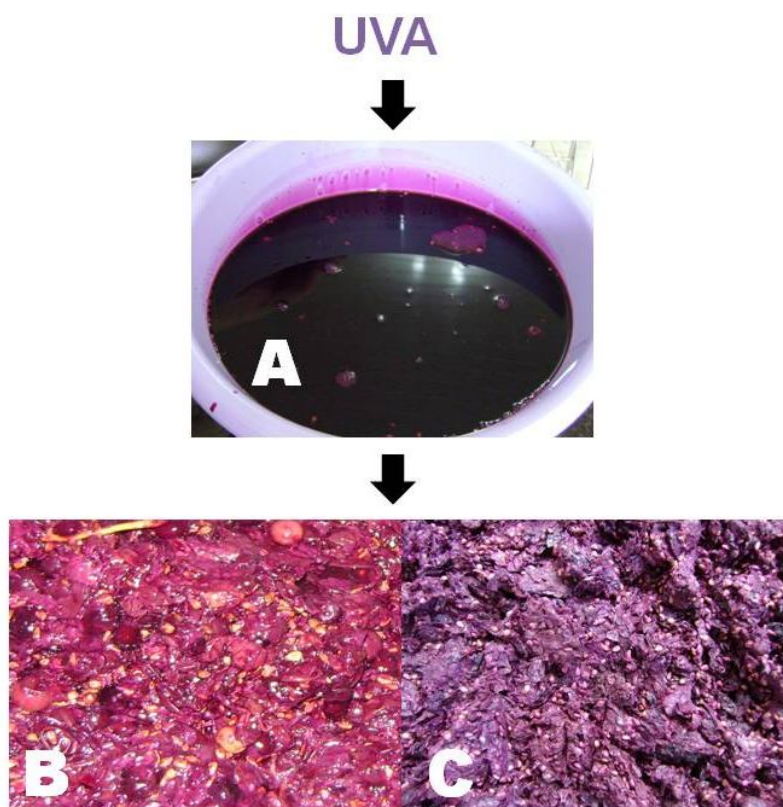


Figura 5. Obtenção de bagaço de uvas. Onde: A (Suco ou Vinho), B (BUS) – Proveniente de Extração do Suco, C (BUV) – Proveniente de Processo Fermentativo.

Fonte: Da autora, (2013).

Conforme Campos (2005) o bagaço de uvas é um resíduo industrial e grande parte dele é desperdiçado. Ele é proveniente do processo de fabricação de vinhos. É composto por sementes, casca e engaço de uva. Podem estar presentes em maior ou menor quantidade, dependendo do processo que a uva passou também o resveratrol, ácidos linoleico, palmítico e entre outros ácidos.

Assim como a uva, o bagaço de uvas contém compostos bioativos, com atividade antioxidante. Isso pode ser verificado em estudos de quantificação de compostos bioativos, como por exemplo, Melo *et al.* (2011), que quantificou compostos fenólicos totais, atividade antioxidante e a composição fenólica de dois coprodutos gerados por agroindústrias brasileiras: bagaço de uvas Isabel (*Vitis labrusca*), bagaço de uvas Verdejo (*Vitis vinifera*), sendo que os resultados mostram que os bagaços são ricos em compostos bioativos, sendo potenciais fontes naturais de substâncias bioativas para aplicação na indústria de alimentos. Rockenbach *et al.* (2008), testaram a influência de solventes com diferentes concentrações de acetona, realizando as quantificações de compostos fenólicos totais, antocianinas e a capacidade antioxidante do extrato de bagaço de uvas (*Vitis vinifera*) de duas variedades, *Tannat* e *Ancelota*, havendo uma melhor extração em 50 e 70% de solvente e demonstrando potenciais atividades antioxidantes.

De acordo com Abe *et al.* (2007) quanto mais intensa a coloração da uva, mais interessante se torna do ponto de vista funcional, sendo que as uvas de coloração escura possuem maior conteúdo de compostos fenólicos e capacidade antioxidante. Também o conteúdo de antocianinas é maior nas uvas mais escuras, seguidas pelas uvas rosadas e é ausente em uvas brancas.

Os estudos acima citados demonstram que o bagaço de uvas, mesmo que de diferentes cultivares possui compostos bioativos com atividade antioxidante potenciais para serem exploradas e estudados. Sendo assim possível a sua aplicação na tecnologia de alimentos como potenciais compostos antioxidantes para a redução da formação de radicais livres. Visto que, o bagaço de uvas é na maioria das vezes desperdiçado e pode agregar valor a cadeia produtiva de uvas por ter estas propriedades, além de ser uma alternativa mais saudável frente ao uso dos antioxidantes sintéticos.

3.3.2 Extração de compostos bioativos

Em razão de bioatividade e capacidade antioxidante dos compostos fenólicos, aos mesmos são remetidas propriedades anti-inflamatórias, anti-carcinogênicas e antibacterianas (BAGCHI *et al.*, 2000; GRIS *et al.*, 2011). A dificuldade está em extrair, identificar e aplicar esses compostos bioativos. Sendo assim, muitos são os estudos que visam otimizar a extração desses compostos com o objetivo de

potencializar seus efeitos benéficos a saúde e agregá-los às tecnologias de processamento de alimentos e fármacos.

Burin *et al.* (2014) avaliaram a eficiência de diferentes métodos de extração de compostos fenólicos de uvas produzidas no Brasil (*Vitis vinifera* e *Vitis labrusca*) e diferentes preparos de amostras, sendo a extração líquido-líquido a mais eficiente, e demonstrou que dentre as variedades analisadas produzidas nos Brasil, as que possuíam maiores quantidades de compostos bioativos eram a Bordô e a Concord (*Vitis labrusca*). Anastadiadi *et al.* (2012) testaram extratos diferentes e quantificaram por diferentes métodos os compostos bioativos de amostras de pedúnculos de uvas, obtendo valores significativos dos compostos analisados.

Ayed, Yu e Lacroix (2000) avaliaram a dose de radiação em embalagens contendo bagaço de uvas e seus efeitos sobre o desenvolvimento microbiano e o conteúdo de antocianinas nas amostras e demonstraram aumentar a quantidade de antocianinas e reduzir a quantidade de microorganismos, quando a radiação foi utilizada.

Garrido *et al.* (2011) avaliaram o efeito de extratos de bagaço de uvas extraídos de diferentes maneiras sobre as características físico-químicas de hambúrgueres de carne suína e a viabilidade do uso de tais extratos como conservantes naturais nesse produto.

A metodologia de superfície de resposta para otimização da extração de compostos bioativos em bagaço de bayberry (*Myrica rubra*) tendo como variáveis dependentes métodos de quantificações de atividades bioativas foi estudada por ZHANG *et al.* (2013). As variáveis independentes estudadas por estes autores foram: o pH dos extratos, tempo de extração, temperatura de extração e concentração sólido-líquido amostra-solvente. Spigno e De Faveri (2007) em seus estudos mostraram que é maior a quantificação de compostos bioativos de pedúnculos e bagaços de uvas quando a extração deles é realizada com etanol, se comparado às extrações com o solvente acetato de etila:água (9:1). E, a temperatura onde houve a melhor extração foi a de 60°C para o seu estudo.

3.4 MERCADO DA CARNE DE FRANGO

De acordo com o Ministério da Agricultura (2012), estima-se que em 2010 o Brasil já produzia 24,5 milhões de toneladas de carnes bovina, suína e de aves. Sendo que no ano de 2012, o consumo de carnes por pessoa, em média, aumentou em relação ao ano anterior chegando a relação de 43,9 kg de carne de aves, 37,4 kg para carne bovina e 14,1 kg de carne suína.

Conforme Mariutti e Bragagnollo (2009) há uma maior exportação de produtos embalados prontos para o consumo e com alto valor agregado pelo Brasil para o exterior. O Brasil vende esses produtos os conceituando como alimentos saudáveis e que são também de rápido preparo e isso faz com que países do exterior procurem esses produtos com maior frequência. Os produtos que estão em alta para a exportação, são oriundos da avicultura e vem se destacando atualmente.

O Brasil ocupa o terceiro lugar no *ranking* dos países que mais produzem carne de frango anualmente (9.297 milhões de toneladas), ficando atrás apenas dos Estados Unidos (16.026 milhões de toneladas) e da China (10.149 milhões de toneladas), sendo que juntos estes três países produzem 50% do estoque mundial de carne de frango. Na região Sul do Brasil são encontrados os maiores produtores de carne de frango do País. O estado do Paraná produz 22,83%, Santa Catarina 16,76% e Rio Grande do Sul 14,76%, sendo que os três estados juntos abatem 54,35% dos frangos criados no Brasil (RAMOS; GOMIDE, 2009).

Conforme a União Brasileira de Avicultura (UBABEF) (2013), em 2011 a produção brasileira de carne de frango atingiu sua marca histórica, aproximadamente 13 milhões de toneladas. E deste total, 69% permanecem no mercado interno. E, desde o ano de 2004 o Brasil mantém-se na posição de maior exportador mundial de carnes de frango, sendo que em 2011 obteve a marca de 3,9 milhões de toneladas embarcadas para mais de 150 países.

3.5 LINGUIÇA

Produtos cárneos são produtos alimentícios preparados com total ou parcial quantidade de carnes, miúdos ou gorduras e subprodutos comestíveis oriundos de animais de abate, também ingredientes de origem animal e/ou vegetal, condimentos, especiarias e aditivos químicos autorizados e regulamentados (ORDÓÑES, 2005).

De acordo com a IN nº 04, de 31 de março de 2000 do MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento), a qual dispõe sobre a identidade e qualidade da linguiça, define linguiça como sendo um 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 (BRASIL, 2000).

Ainda disposto pela IN nº 04, as linguiças são designadas linguiças, seguidas do nome da matéria-prima que as constitui e são subclassificadas quanto a sua tecnologia de produção em: produto fresco, produto seco, curado e/ou maturado, produto cozido, entre outros. Podendo ser substituída a sua constituição cárnea por carne mecanicamente separada (CMS) de diferentes animais de açougue em até 20%, exceto em linguiças frescas (cruas e dessecadas), nas quais fica proibido qualquer adição. Devendo ser característicos de linguiça: textura, cor, sabor, odor.

Por possuir alto teor de ácidos graxos insaturados na sua composição, a carne de frango é altamente suscetível à oxidação lipídica. A oxidação lipídica desencadeia a formação de óxidos de colesterol e formação de compostos voláteis e causa desta forma uma redução na qualidade e nas características nutricionais da carne de frango durante o processamento e armazenamento (MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2009).

Desta forma, nas formulações de produtos cárneos, durante o processamento tecnológico, faz-se necessário a inserção de um aditivo químico, que terá a função de retardar a oxidação lipídica. A estes aditivos dá-se o nome genérico de antioxidantes. Os quais auxiliam na manutenção da qualidade do produto cárneo por um tempo prolongado durante o seu armazenamento.

3.6 OXIDAÇÃO LIPÍDICA

Fazem parte do grupo dos lipídeos os óleos e as gorduras, sendo os triacilgliceróis (três moléculas de ácidos graxos ligados a uma molécula de glicerol) os lipídeos mais comuns em alimentos. Esses compostos sofrem durante o processamento, armazenamento e consumo, alterações químicas, que podem gerar substâncias desejáveis e/ou indesejáveis ao sabor (ARAÚJO, 2008).

Conforme Araújo (2008), as reações de oxidação ocorrem quando há a remoção de elétrons de um átomo ou de um grupo de átomos, havendo para cada

reação de oxidação uma reação de redução correspondente, que envolve a adição de elétrons a um átomo ou a um grupo de átomos.

Conforme elucida Bobbio e Bobbio (2001), a oxidação lipídica pode ocorrer por meio enzimático, por foto-oxidação e por auto-oxidação.

Conforme Halliwell *et al.* (1995) a oxidação enzimática ocorre pela ação de enzimas lipoxigenases que atuam sobre os ácidos graxos poli-insaturados, catalisando a adição de oxigênio à cadeia hidrocarbonada poli-insaturada formando peróxidos e hidroperóxidos com duplas ligações conjugadas que podem ser substrato para reações degradativas.

Conforme Silva, Borges e Ferreira (1999) a foto-oxidação é promovida essencialmente pela radiação ultravioleta (UV) na presença de sensibilizadores (clorofila, mioglobina), os quais envolvem a participação do oxigênio singlete (1O_2), sendo o intermediário da reação.

O processo de auto-oxidação dos alimentos ocorre em três etapas, que são: iniciação, propagação e terminação. Na etapa de iniciação o ácido graxo insaturado (RH) forma um radical livre ($R\bullet$), através da abstração de um átomo de hidrogênio de sua molécula, que reage rapidamente com o oxigênio triplete (3O_2) formando um radical peróxido ($ROO\bullet$). Na etapa de propagação continuarão ocorrendo as reações de oxidação do ácido graxo insaturado (RH) e formação de peróxidos ($ROO\bullet$). Na etapa da terminação, os radicais livres ($R\bullet$) como forma de chegar finalmente a uma estabilidade reagem entre si e formam espécies não radicalares. Quando a oxidação do ácido graxo insaturado (RH) ocorrer na presença de oxigênio singlete (1O_2) ocorrerá a formação de hidroperóxidos (ROOH), isto porque ocorre a introdução direta de (1O_2) em um dos carbonos da ligação dupla do ácido graxo (MARIUTTI; BRAGAGNOLLO, 2007). O mecanismo geral da oxidação lipídica envolve os processos de auto-oxidação, como pode ser visto abaixo na figura 6, proposto por Farmer *et al.* (1942).

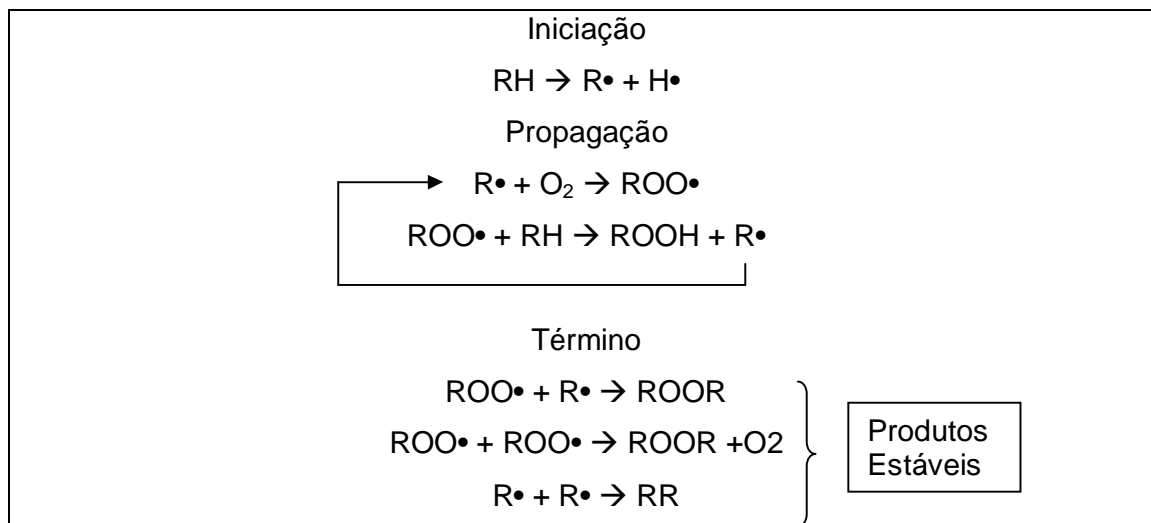


Figura 6. Mecanismo geral da oxidação lipídica.
 Fonte: FARMER (1942).

De acordo com Araújo (2008), as reações de oxidação lipídica são as mais frequentes nos alimentos e normalmente são causadas pelo oxigênio atmosférico, menos frequente pelo ozônio, peróxido, metais e outros agentes oxidantes. O centro ativo por onde se inicia a reação de oxidação dos óleos e gorduras são as suas insaturações. Quanto mais insaturada a cadeia lipídica, mais centros de reação haverá e maior a probabilidade de sofrer reações de oxidação.

Os lipídeos presentes nos alimentos podem sofrer alterações durante o tempo que os alimentos são armazenados, inferindo em grandes perdas nutricionais. Sendo as reações de oxidação lipídica desencadeadas por condições de armazenamento em calor, exposição à luz, metais, sensibilizantes naturais e ao oxigênio. Estas reações causadas pelos fatores citados acima, podem levar a compostos potencialmente prejudiciais à saúde humana, tais como os óxidos de colesterol (BAGGIO e BRAGAGNOLO, 2006).

Conforme Kaur e Kapoor (2001), os antioxidantes interrompem as reações de oxidação. Entretanto, de acordo com o seu modo de ação também podem ser classificados como compostos que terminam a reação em cadeia de radicais livres na oxidação lipídica, pela doação de elétrons ou hidrogênio para a gordura que contém um radical livre e para a formação de um complexo entre a cadeia da gordura (ou ácido graxo insaturado) e o radical livre.

3.6.1 Oxidação da carne

A carne é o resultado *post mortem* de um tecido biológico, o músculo (LAWRIE, 2005). A composição da carne pode variar conforme a espécie, raça, sexo, idade, nutrição e nível de atividade do animal. A alta densidade e variedade de nutrientes na carne a torna uma fonte nutricional significativa. Dependendo do processo pós-abate, da área anatômica do corte, do armazenamento e da cocção, a composição da carne também pode variar. As macromoléculas presentes na carne são água, proteína, lipídeos, matéria mineral e carboidratos (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Conforme Bobbio e Bobbio (2001) a carne de frango é constituída em média por aproximadamente 20% de proteínas totais. As proteínas são o elemento estrutural do organismo animal, sendo componentes essenciais para todas as células vivas, podendo regenerar tecidos, catalisar enzimas ou hormônios, favorecer reações imunológicas, contribuindo para o crescimento e a reprodução.

Conforme Centenaro, Furlan e Souza-Soares (2008) a gordura de frango apresenta grande proporção de ácidos graxos insaturados e poli-insaturados se comparada a outras gorduras animais como banha e sebo. Sendo a gordura da carne de frango altamente insaturada, leva à característica física de semilíquida em temperatura ambiente. As pequenas quantidades de ácidos graxos saturados da gordura da carne de frango ocasionam também em um ponto de fusão baixo.

Conforme Bobbio e Bobbio (2001) a presença de duplas ligações na cadeia carbônica diminui a energia necessária para a ruptura homolítica das ligações carbono-hidrogênio (C-H) nas posições alílicas e bis-alílicas, dando maior viabilidade à oxidação se comparado às degradações oxidativas de ácidos graxos saturados, onde não ocorrem espontaneamente e a formação de radicais livres é desfavorável.

Conforme Morrissey *et. al.* (1998) os lipídeos da carne podem sofrer oxidação em três fases. Na primeira fase devem ser consideradas a produção pelo animal vivo de espécies reativas com o oxigênio, ou radicais livres, manifestada como um mecanismo de defesa corporal do animal. A segunda fase ocorre no período pós-abate imediato. E a terceira fase ocorre durante o processamento, armazenamento e cozimento da carne.

Com a morte do animal, cessa a corrente sanguínea, que é o sistema de apoio antioxidante natural do animal, provocando desta forma o processo de

peroxidação autocatalítica. A rapidez com que ocorre a peroxidação autocatalítica está diretamente ligada tanto com condições de pré-abate, alimentação e estresse, quanto a condições pós-abate, pH, temperatura de carcaça, encolhimento pelo frio, entre outros (SHIMOKOMAKI *et al.*, 2006).

Durante a estocagem da carne pode ocorrer o ranço oxidativo. O ranço oxidativo ocorre quando os lipídeos da carne são oxidados. A propensão da carne e de seus produtos sofrerem oxidação dependerá dentre vários fatores, da composição dos ácidos graxos e da presença de pró-oxidantes no músculo (CASTILLO, 2006).

A oxidação lipídica pode afetar os micronutrientes, cor, sabor, vitaminas e minerais e os macronutrientes, carboidratos, lipídeos e proteínas. Os alimentos podem sofrer durante a oxidação lipídica: branqueamento dos pigmentos, destruição das vitaminas, formação de sabor desagradável e ligações cruzadas. As ligações cruzadas interferem diretamente na textura do alimento, deixando-os com maior enrijecimento (ARAÚJO, 2008). Todos esses fatores levam a uma redução do tempo de vida de prateleira do produto e aversão do alimento pelo consumidor, acarretando em prejuízos a cadeia produtora de carne.

O oxigênio é o principal agente causador da reação de oxidação, descoloração de carnes, frutas e vegetais em alimentos *in-natura* e, ou processados. A oxidação de lipídeos, vitaminas, sabor e aroma dos alimentos é um dos principais problemas que reduz a qualidade dos alimentos (ARAÚJO, 2008).

Devido às etapas de processamento da linguiça, como a trituração da carne onde há um grande cisalhamento, há uma dispersão maior dos componentes celulares do músculo, os lipídeos ficam ainda mais propensos a sofrer os efeitos da oxidação lipídica.

O grau de insaturação dos ácidos graxos é responsável pela susceptibilidade da carne à oxidação, quanto maior o grau de insaturação, maior a propensão a oxidação lipídica. A carne de peixes, frango, suína, bovina e ovina, nesta ordem, possuem maiores quantidades de ácidos graxos poli-insaturados (CASTILLO, 2006).

3.7 SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO 2-TIOBARBITÚRICO – TBARS

Conforme Soares *et al.* (2012) a utilização de métodos de quantificação da oxidação lipídica e posterior análise sensorial são instrumentos para analisar e detectar o aumento da ocorrência de processos de oxidação e esta detecção é uma alternativa para estimar a manutenção da qualidade sensorial e a aceitação do produto no mercado pelo consumidor.

De acordo com Osawa, Felício e Gonçalves (2005) para o controle da qualidade de óleos, gorduras e produtos que contenham gordura para verificação do estado oxidativo de alimentos podem ser utilizados testes de índice de peróxidos, ácidos graxos livres, anisidina, kreis, TBA (ácido 2-tiobarbitúrico), entre outros.

Porém Osawa, Felício e Gonçalves (2005) elucidam que o valor de TBARS é outra forma de expressar o valor obtido no teste de TBA, sendo que a expressão de TBA pelo número de TBARS é mais utilizada atualmente, pelo fato de que leva em consideração outras substâncias capazes de reagir com o ácido 2-tiobarbitúrico e também pelo fato de que alguns estudos de vida útil de produtos expressos em valores de TBA obtiveram correlação baixa com a nota dos provadores da análise sensorial.

As substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico são normalmente formadas pela quebra dos ácidos graxos insaturados formando hidroperóxidos, os quais podem originar compostos contendo grupamentos carbonílicos, sendo o principal composto gerado, o malonaldeído (TARLADGIS; WATTS; YOUNATHAN, 1960), que reage com o ácido 2-tiobarbitúrico, permitindo a quantificação da reação de oxidação lipídica. Segue abaixo na figura 7 a reação entre o ácido 2-tiobarbitúrico e o malonaldeído.

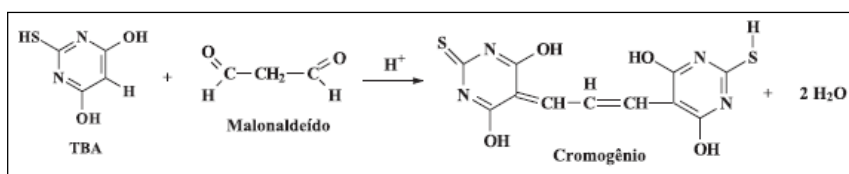


Figura 7. Reação entre o ácido 2-tiobarbitúrico e o malonaldeído.

Fonte: OSAWA; FELÍCIO e GONÇALES (2005).

4 MATERIAL E MÉTODOS

De forma geral, os trabalhos seguiram um fluxo, que está apresentado na figura 8.

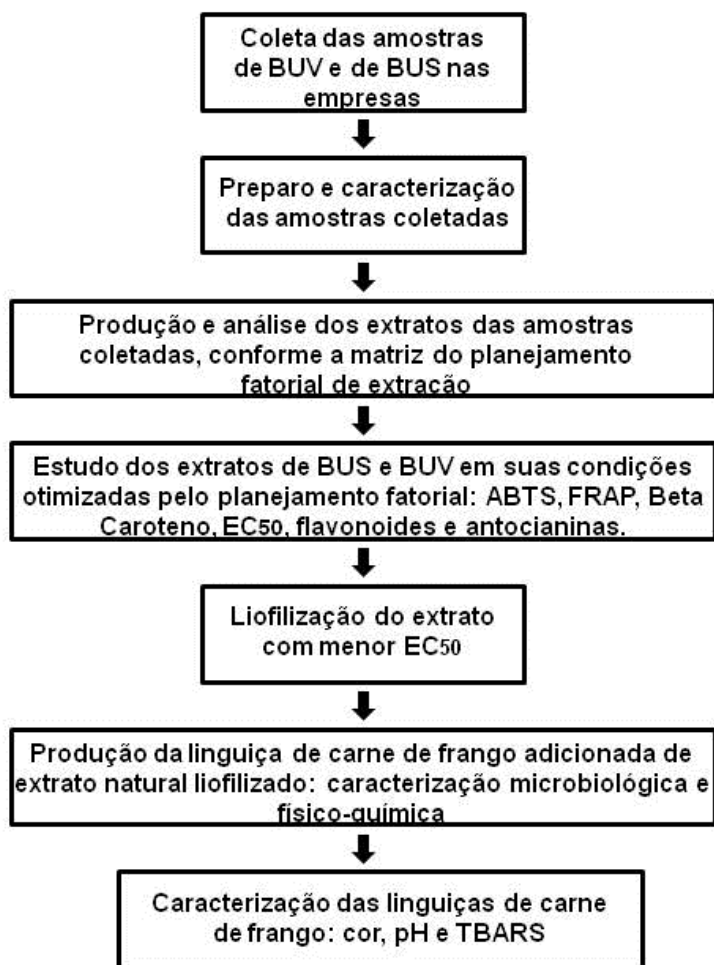


Figura 8. Fluxograma de trabalho.

Fonte: Da autora (2014).

4.1 MATERIAL

As amostras utilizadas no estudo foram: coproduto do processamento do suco de uvas (BUS – Bagaço de Uvas Suco) oriundo de agroindústria da cidade de Verê – PR e o coproduto do processamento de vinho de uvas (BUV – Bagaço de Uvas Vinho) oriundo de vinícola da cidade de Mariópolis – PR (Figura 9). Ambos os coprodutos foram coletados no mês de janeiro de 2013 e são da cultivar Bordô (*Vitis labrusca*). O BUS é oriundo de cultivo orgânico.

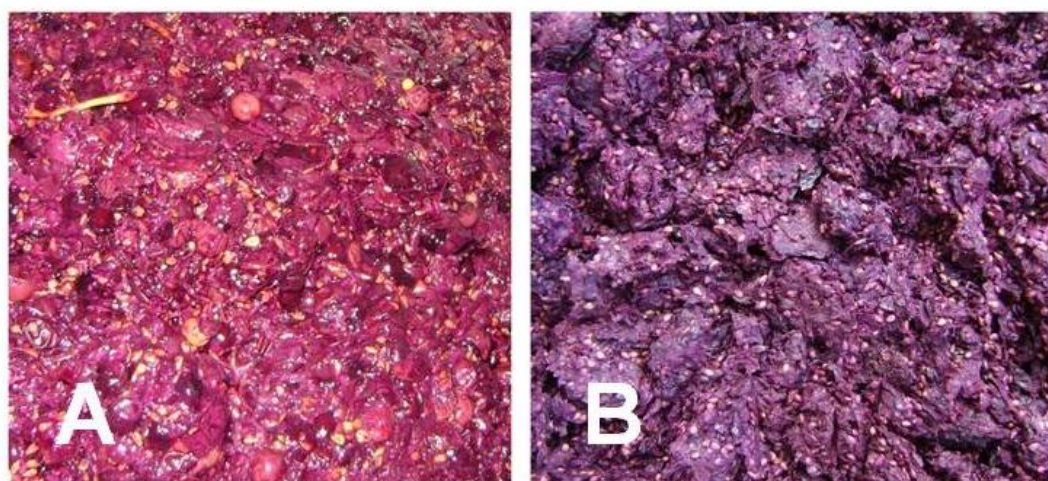


Figura 9. (A) Amostras de bagaço de uvas oriundo do processamento de sucos – BUS. (B) Amostra de bagaço de uvas oriundo do processamento de vinhos – BUV.

Fonte: Da autora (2013).

Após a coleta as amostras foram devidamente identificadas, homogeneizadas, separadas em sacos plásticos contendo aproximadamente 500 g de amostra e congelado a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Cada parcela das amostras de bagaços de uvas foram secas na temperatura de $37\pm 3^{\circ}\text{C}$ por um período aproximado de 5 dias, moídas em moinho analítico com resfriamento, transferidas para sacos plásticos vedados e envoltos em papel alumínio. Este conjunto foi acondicionado em potes plásticos âmbar e armazenados a temperatura de $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o início dos processos analíticos. Após este processo as amostras de BUS e de BUV utilizadas por este estudo encontram-se na forma de farinha de BUS e farinha de BUV.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Metodologias de composição centesimal das amostras de farinhas de bagaço de uvas

4.2.1.1. Umidade

Aproximadamente 5,0 g (P_a – Peso da amostra) de amostra foram pesadas em cadinhos previamente secos em estufa, resfriados e medida a sua massa (P_c – Peso do cadinho) e submetidos novamente à estufa a 105 °C até peso constante (P_d – Peso do cadinho após estufa). O percentual de umidade (%U) foi obtido pela equação 1 (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Equação 1

$$\%U = \left\{ \frac{(P_c + P_a) - P_d}{P_a} \right\} \cdot 100$$

4.2.1.2 Teor de cinza

Aproximadamente 3,0 g (P_a – Peso da amostra) de amostra foram pesados em cadinhos de porcelana previamente calcinados, resfriados e medida a sua massa (P_c – Peso do cadinho). Posteriormente os cadinhos com amostras foram submetidos ao aquecimento em chapa aquecedora até cessar o desprendimento de fumaça e submetidos a mufla 550 °C, até obtenção de cinzas brancas (aproximadamente 4h) (P_d – Peso do cadinho após mufla). O percentual de cinzas (%Ci) foi obtido pela equação 2 (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Equação 2

$$\%Ci = \left\{ \frac{(P_d - P_c)}{P_a} \right\} \cdot 100$$

4.2.1.3 Proteína Bruta Total

Aproximadamente 0,40 g (P_a – Peso da amostra) de amostra foram pesados e transferidos com papel de pesagem para o tubo de digestão, juntamente com 1,0 g de mistura catalítica (sulfato de sódio anidro p.a + sulfato de cobre penta-hidratado

p.a - Na₂SO₄ + CuSO₄.5H₂O + selênio – na proporção 100:10:1), 3 mL de ácido sulfúrico concentrado p.a (H₂SO₄) e 1 mL de peróxido de hidrogênio 35% (H₂O₂), procedendo-se a digestão lenta (350-400°C) até obtenção de coloração levemente esverdeada. Posteriormente, destilaram-se as amostras digeridas em equipamento de destilação de Micro-Kjeldahl com prévia diluição da amostra digerida com 10 mL de água destilada e a adição lenta de hidróxido de sódio (NaOH) 50% até atingir coloração marrom escuro. Para a captação da amônia do destilado, utilizou-se *erlenmeyer* com 20 mL de solução de ácido bórico (H₃BO₃) 4% adicionado de 3 gotas de indicador misto. Titulou-se com H₂SO₄ 0,1N fatorado até coloração rósea. O percentual de nitrogênio total (%N) foi calculado pela equação 3 (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Equação 3

$$\%N = \left(\frac{Vg \cdot N \cdot fc \cdot 0,014}{Pa} \right) \cdot 100$$

Onde =

Vg: (Volume de H₂SO₄ 0,1 N gastos na titulação amostra - Volume de H₂SO₄ 0,1 N gastos na titulação branco);

N: Normalidade da solução de H₂SO₄ (0,1);

fc: Fator de correção da solução de H₂SO₄ 0,1 N.

O percentual de proteína bruta total (%PB) pode ser calculado pela equação 4 (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Equação 4

$$\%PB = \%N \cdot fator$$

Onde:

fator = 6,25

O fator geral de transformação de nitrogênio para proteína é o 6,25. Ele está baseado na ideia de que a maioria dos alimentos possuem 16% de nitrogênio total (BOBBIO e BOBBIO, 2001).

4.2.1.4 Extrato etéreo

Os lipídeos totais foram determinados pelo método gravimétrico. Aproximadamente 2,0 g (P_a – Peso da amostra) de amostras foram extraídos com éter de petróleo em aparelho Soxhlet (por aproximadamente 4 h), em balão previamente seco em estufa, resfriado e pesado (P_b – Peso do balão). O percentual de extrato etéreo (%EE) foi obtido pela equação 5 (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Equação 5

$$\%EE = \left(\frac{Pd - Pb}{Pa} \right) \cdot 100$$

Onde =

P_d : Peso do balão após a extração.

4.2.1.5 Fibra Bruta Total

Aproximadamente 0,5 g (P_a – Peso da amostra) de amostra foram pesadas em balão de fundo chato e previamente desengordurada em éter de petróleo. Procedeu-se a digestão ácida: onde 100 mL de solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0,255 N, previamente aquecida em banho-maria, foi mantida por 30 minutos após atingir a fervura em chapa aquecedora com sistema de condensação de solventes, após isso procedeu-se a filtração e lavagem da amostra com água destilada morna e captação da amostra devolvendo-a para o balão de digestão. Procedeu-se a digestão básica: onde 110 mL de solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,313 N, previamente aquecida em banho-maria, foi mantida por 30 minutos novamente, da mesma forma, após atingir fervura, posteriormente procedeu-se a filtração em cadinho de *gooch* contendo lã de fibra de vidro e lavagem da amostra com água destilada morna, lavagem com 20 mL de álcool etílico p.a. e 10 mL de éter etílico p.a.. As farinhas de BUS e de BUV, após as digestões, juntamente com o cadinho de *gooch* e a lã de vidro foram submetidos a estufa 105 °C até peso constante e sua massa medida (P_e – Peso do cadinho de *gooch* e amostra após estufa) e submetido posteriormente a mufla a 550 °C até peso constante e a sua massa medida (P_m –

Peso do cadinho de *gooch* e amostra após mufla). O percentual de fibra bruta (%FB) foi obtido através da equação 6 (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Equação 6

$$\%FB = \left(\frac{Pe - Pm}{Pa} \right) \cdot 100$$

4.2.1.6 Carboidratos

O percentual de carboidratos totais (%Ct) foi calculado por diferença, de acordo com a RDC Nº 360 de 23 de dezembro de 2003 (BRASIL, 2003). Conforme a equação 7.

Equação 7

$$\%Ct = 100 - (\%U + \%EE + \%PB + \%Ci + \%FB)$$

Onde =

%U: Percentual de umidade;

%EE: Percentual de extrato etéreo;

%PB: Percentual de proteína bruta;

%Ci: Percentual de cinzas;

%FB: Percentual de fibra bruta total.

4.2.2 Metodologias de obtenção e caracterização dos extratos dos bagaços de uvas

A produção dos extratos de BUS e de BUV foram a partir das farinhas de BUS e de BUV.

4.2.2.1 Delineamento experimental para extração dos compostos bioativos

O delineamento experimental consistiu de um planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} , de acordo com Rodrigues e Lemma (2009), totalizando 8 ensaios, os quais foram realizados em duplicata. Sendo as variáveis independentes: temperatura de extração, tempo de extração, solvente para extração e bagaços de uvas para extração. O intuito da realização deste planejamento fatorial foi estudar a melhor condição de extração de compostos bioativos, a condição que melhor extrai

compostos bioativos em função da atividade antioxidante e compostos fenólicos totais, de acordo com as combinações das variáveis expostas pelo planejamento. Na tabela 2 podem ser observados os níveis decodificados das variáveis independentes analisadas no planejamento fatorial.

Tabela 2. Níveis decodificados das variáveis independentes do planejamento fatorial (2^{4-1}) de extração de compostos bioativos de BUS e de BUV: temperatura de extração, tempo de extração, solvente para extração e bagaço de uvas para a extração na avaliação de atividade antioxidante e compostos fenólicos totais.

Níveis decodificados				
Níveis Codificados	Temperatura do banho-maria para extração	Tempo de extração	Solvente utilizado para a extração	Bagaço de uva utilizado na extração
-1	40 °C	15 minutos	Etanol:água (8:2)	BUS
+1	60 °C	45 minutos	Acetona:água (8:2)	BUV

Seguem na tabela 3 os níveis codificados, das variáveis independentes, do planejamento fatorial de extração dos antioxidantes dos bagaços de uvas.

Tabela 3. Níveis codificados das variáveis independentes do planejamento fatorial (2^{4-1}) de extração de compostos bioativos de BUS e de BUV: temperatura de extração, tempo de extração, solvente para extração e bagaço de uvas para a extração na avaliação de atividade antioxidante e compostos fenólicos totais.

Ensaio	Temperatura do banho-maria para extração	Tempo de extração	Solvente utilizado para a extração	Bagaço de uva utilizado na extração
1	-1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1	+1
3	-1	+1	-1	+1
4	+1	+1	-1	-1
5	-1	-1	+1	+1
6	+1	-1	+1	-1
7	-1	+1	+1	-1
8	+1	+1	+1	+1

As respostas, variáveis dependentes, para determinação do melhor nível de extração são: atividade antioxidante sequestrante do radical DPPH[•] realizada de acordo com a metodologia descrita por Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995) com modificações por Mensor *et al.* (2001), utilizando trolox como padrão de referência e compostos fenólicos totais, determinados pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, descrito por Singleton; Orthofer; Lamuela (1999), utilizando ácido gálico como padrão de referência. As demais metodologias expostas abaixo foram realizadas apenas para estudar os extratos das melhores condições de extração para BUS e BUV.

Neste tipo de delineamento experimental (fracionário 2^{4-1}) além da análise dos efeitos de cada fator, podemos também construir e analisar um modelo multivariado de regressão. A equação 8 representa o modelo matemático de regressão linear do planejamento fatorial.

Equação 8

$$Y = \beta_0 + \beta_1T + \beta_2t + \beta_3S + \beta_4B + \varepsilon$$

Onde:

ε = Resíduo;

β_0 = Média das variáveis dependentes de todos os ensaios;

β_1 = Coeficiente de efeito equivalente a variável temperatura;

β_2 = Coeficiente de efeito equivalente a variável tempo;

β_3 = Coeficiente de efeito equivalente a variável solvente;

β_4 = Coeficiente de efeito equivalente a variável bagaço;

T= Variável independente temperatura;

t= Variável independente tempo;

S= Variável independente solvente;

B= Variável independente bagaço.

Sendo que o Y pode assumir os valores das respostas: Variável dependente Atividade antioxidante ($\mu\text{mol TEAC/g}$) e Variável dependente Copostos fenólicos totais (mg GAE/g).

4.2.2.2 Preparo dos Extratos de BUS e BUV

Pesaram-se 2 g das amostras de BUS e de BUV, em base seca. Ou seja, desprezou-se a quantidade de água existente nas amostras através do conhecimento do percentual de umidade delas, até atingir a massa seca de 2 g. Foram acrescentados 25 mL dos solventes, acetona 80% ou etanol 80%. Cada amostra foi acondicionada em seus respectivos tratamentos, conforme a tabela 5. Posteriormente os extratos foram filtrados e analisados quanto as suas variáveis dependentes.

4.2.2.3 Determinação de compostos fenólicos totais dos extratos de BUS e de BUV obtidos pelas combinações do planejamento fatorial fracionário 2^{4-1}

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, descrito por Singleton; Orthofer; Lamuela (1999), utilizando ácido gálico como padrão de referência. O reagente de Folin-Ciocalteu é uma solução de íons poliméricos complexos formados a partir de heteropoliácidos fosfomolibdicos e fosfotungsticos. Esse reagente de coloração amarela oxida os fenolatos, reduzindo os ácidos a um complexo azul Mo-W que se forma na reação em meio alcalino.

Para a realização da análise foi transferida uma alíquota de 0,5 mililitros (mL) de amostra, com diluição de 100 vezes do extrato original para os 16 extratos produzidos, 2,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu diluído em água destilada 1:10 (v/v) para um tubo de ensaio. Aguardaram-se 5 minutos e adicionaram-se 2 mL de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 4% (m/v). Incubaram-se as soluções em local escuro à temperatura ambiente. Realizaram-se as leituras das absorvâncias após 2 h de reação, em espectrofotômetro Bel Photonics Modelo 2000 UV a 740 nanômetros (nm). Foram conduzidas amostras em branco nas mesmas condições de análise, contendo água destilada ao invés de amostra.

A curva analítica foi construída nas concentrações de 2,5; 5; 10; 25; 50; 75; 100 e 125 partes por milhão (ppm) de ácido gálico e os resultados expressos em miligramas de GAE (GAE: equivalentes de ácido gálico) por grama de amostra (mg GAE/g) (Anexo A). Os resultados foram expressos através da equação da reta da curva analítica de ácido gálico.

Na análise de compostos fenólicos totais *in-vitro*, quanto maior a quantidade de compostos fenólicos totais presentes, mais intensa é a coloração azul do meio reacional.

Os dados de absorvância e concentração da curva de ácido gálico foram plotados e linearizados. Os resultados de compostos fenólicos totais foram expressos em mg de GAE/g através da equação de reta $y = 0,0208x + 0,0013/R^2 = 0,9998$ (ANEXO B).

4.2.2.4 Análise de flavonoides totais da melhor condição de extração de BUS e de BUV

A concentração dos flavonoides totais foi determinada conforme método descrito por Park *et al.* (1995), com algumas modificações. Conforme Woisky e Salatino (1998) a análise de flavonoides por colorimetria baseia-se na formação de quelatos entre o metal alumínio e os flavonoides, principalmente os flavonóis (3-hidroxi-flavonas) como a quercetina, em soluções alcoólicas. Essa reação leva a um efeito batocrômico do espectro de absorção dos flavonoides, o qual faz com que ocorra a alteração da coloração.

Para a realização da análise foi transferida uma alíquota de 0,5 mL de amostra, com diluição de 4 vezes do extrato original da melhor condição de BUS e BUV, determinadas pelo planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} , 4,3 mL de etanol 80% (v/v), 0,1 mL de cloreto de alumínio a 10% (m/v) e 0,1 mL de acetato de potássio 10% (m/v) para o tubo de ensaio. Realizaram-se as leituras das absorbâncias após 40 minutos de reação, em espectrofotômetro Bel Photonics Modelo 2000 UV a 415 nm. Foram conduzidas amostras em branco nas mesmas condições de análise, porém sem a adição de cloreto de alumínio e amostra.

A curva analítica foi construída nas concentrações 5, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 micrograma (μg) de quercetina e os resultados expressos em grama de quercetina por 100 gramas de amostra (g quercetina/100g) através da equação da reta da curva analítica de quercetina ($y = 0,0044x - 0,0022/R^2 = 0,9990$).

4.2.2.5 Análise de Antocianinas da melhor condição de extração de BUS e de BUV

As antocianinas foram determinadas pelo método do potencial hidrogeniônico (pH) diferencial proposto pela AOAC (2005). Os pigmentos das antocianinas mudam de cor em pH 1,0 e 4,5, sendo a forma de oxônio colorido (pH 1,0) e o hemiacetal descolorido (pH 4,5). As mudanças de colorações podem ser quantificadas por colorimetria, através de diferenças de absorbâncias em espectrofotômetro.

Preparou-se tampão cloreto de potássio (KCl) a $0,025 \text{ Mol.L}^{-1}$ e corrigiu-se o pH para 1,0 com ácido clorídrico p.a (HCl). E tampão acetato de sódio (CH_3COONa) a $0,4 \text{ Mol.L}^{-1}$ corrigido para pH 4,5 com ácido clorídrico p.a (HCl).

Procedeu-se as análises transferindo 0,5 mL de amostra, com diluição de 4 vezes do extrato original para a melhor condição de BUS e BUV, determinadas pelo planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} , para tubo de ensaio contendo 2,0 mL de solução tampão cloreto de potássio (pH 1,0) e uma alíquota de 0,5 mL de amostra, com diluição de 4 vezes do extrato original para a melhor condição de BUS e BUV, determinadas pelo planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} , para tubo de ensaio contendo 2,0 mL de solução tampão acetato de sódio (pH 4,5). Aguardaram-se 20 minutos e realizou-se a leitura das amostras dos dois tampões nos comprimentos de onda 520 e 700 nm em espectrofotômetro Bel Photonics Modelo 2000 UV.

Os resultados foram expressos em gramas de cianidina-3-glucosídeo por 100 gramas de amostra (g cianidina-3-glucosídeo/100g). Da a equação 9, que segue abaixo, a qual é disposta pela AOAC (2005) foram transformados em (g cianidina-3-glucosídeo/100g):

Equação 9

$$\text{Antocianinas} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{(A. MW. DF. 10^3)}{(\epsilon. 1)}$$

Onde:

MW = peso molecular para a cianidina-3-glucosídeo (449,2 g/mol);

DF = Diluição da amostra;

ϵ = absorvidade molar da cianidina-3-glucosídeo (26900 L/mol.cm);

10^3 = fator de conversão de grama para miligrama;

A = representado na equação 10, que segue abaixo:

Equação 10

$$A = (Abs\ 520 - Abs\ 700)_{pH\ 1,0} - (Abs\ 520 - Abs\ 700)_{pH\ 4,5}$$

4.2.2.6 Avaliação da atividade antioxidante *in vitro* dos extratos de BUS e de BUV

4.2.2.6.1 Análise da atividade antioxidante pelo método do DPPH•

A atividade sequestrante do radical DPPH• foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995) com modificações por Mensor *et al.* (2001).

Mensor *et al.* (2001) explicam que o DPPH• (1,1-difenil-2-picrilidrazina) é um radical estável e em solução etanólica produz uma coloração violeta. Aceita um elétron ou um radical hidrogênio para se tornar uma molécula estável, ou seja, é reduzido na presença de uma molécula antioxidante. Quanto maior a redução dos radicais DPPH, maior a descoloração da solução de DPPH em etanol.

Foram realizadas análises de DPPH• expressos em micro mol de trolox por grama de amostra ($\mu\text{mol TEAC/g}$), também chamado de capacidade antioxidante equivalente ao trolox (*trolox equivalent antioxidant capacity* – TEAC); percentual de atividade antioxidante através do radical DPPH (%AA); e por IC₅₀ concentração inibitória (*inhibitory concentration*), que também pode ser escrito, EC₅₀, concentração eficiente (*efficient concentration*).

Para a expressão do resultado em $\mu\text{mol TEAC/g}$ foi construída uma curva de trolox nas concentrações de 10, 20, 40, 60, 80 e 100 μmol de trolox (ANEXO C). Para esta forma de expressão, foram analisados os extratos obtidos pelo planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} de extração dos compostos bioativos.

Para a realização da análise foram transferidas alíquotas de 0,5 mL de amostras para tubos de ensaios diferentes, conforme o que segue: 0,5 mL na diluição de 100 vezes do extrato original para os 16 extratos produzidos, 0,5 mL de cada concentração da curva e 0,5 mL de uma amostra de eritorbato de sódio (ES) (antioxidante comercial sintético) a 50 ppm, todos adicionados de 3 mL de etanol p.a e 0,3 mL da solução do radical DPPH a 0,5 μmol dissolvidos em etanol. Para cada concentração da curva e para análise das amostras e do ES, foi conduzida uma amostra em branco, em tubos de ensaios diferentes, composta por: 0,5 mL de trolox, 0,5 mL dos extratos e 0,5 mL do ES, com a adição de 3,3 mL de etanol p.a. em todos os tubos de ensaio. Uma amostra controle também foi conduzida, sendo composta por 0,3 mL de DPPH a 0,5 μmol dissolvidos em etanol e adicionados de 3,5 mL de etanol p.a. As leituras das absorvâncias foram realizadas após 30 minutos de reação, em espectrofotômetro Bel Photonics Modelo 2000 UV a 517 nm. Os dados de absorvância X concentração da curva foram plotados e linearizados. Os resultados expressos em μmol de TEAC/g de amostra, de acordo com a curva analítica $y = -6,1249x + 0,5082/R^2 = 0,9990$ (ANEXO D).

Para a expressão do resultado em percentual de atividade antioxidante (%AA) foram pipetados 0,5 mL de extrato das amostras dos BUS e BUV nas suas melhores condições obtidas pelo planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} e 0,5 mL de ES, em

tubos de ensaio diferentes, 3 mL de etanol p.a. e 0,3 mL de DPPH 0,5 μmol dissolvido em etanol em todos os tubos de ensaio. Os extratos das amostras de BUS e BUV, em suas melhores condições de extração obtidas pelo planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} , foram lidos em diluições distintas, analisadas todas em triplicata, foram elas: 1:100; 1:150; 1:200; 1:250; 1:300; 1:350. O ES a 100 ppm foi lido nas diluições de: 4; 7; 10; 15 e 30 g.L^{-1} . Foram conduzidas amostras em branco compostas por 0,5 mL das amostras de cada uma das diluições mais 3,3 mL de etanol 80% (sem adicionar DPPH). Também foram conduzidas amostras controle, que foram compostas por 3,5 mL de etanol 80% mais 0,3 mL de DPPH. O espectrofotômetro foi zerado com etanol p.a.. As leituras das absorbâncias da redução do radical DPPH foram realizadas de formas pontuais em espectrofotômetro Bel Photonics Modelo 2000 UV a 517 nm. Os tempos destas leituras foram: 0, 20, 40, 60, 80, 100 e 120 minutos.

Para cada instante de leitura de absorbância (0, 20, 40, 60, 80, 100 e 120 minutos), em cada concentração (1:100, 1:150, 1:200, 1:250, 1:300, 1:350), foram calculados o %AA (percentual de atividade antioxidante), através da equação 11, que segue abaixo:

Equação 11

$$\%AA = 100 - \left\{ \frac{[(Abs amostra - Abs branco). 100]}{Abs controle} \right\}$$

Onde:

Abs amostra = Absorbância da amostra;

Abs branco = Absorbância do branco;

Abs controle = Absorbância da amostra controle.

Para a obtenção dos valores de EC_{50} utilizaram-se cálculo por regressão linear, aonde o eixo das abscissas (x) representa a concentração em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ das diluições dos extratos (1:100, 1:150, 1:200, 1:250, 1:300, 1:350) do BUS e do BUV em suas melhores condições de extração obtidas pelo planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} , e (4; 7; 10; 15 e 30) do ES, em g.L^{-1} , e o eixo das ordenadas (y) o valor do previsto por probitos, pelo programa estatístico *Statística 8.0*, de percentual de antioxidantes médio das triplicatas (no instante de 120 minutos). Através da

equação da reta linearizada foram obtidos os valores de EC_{50} em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para BUS e BUV, e em g.L^{-1} para ES, fazendo a substituição no programa de (y) por 50.

4.2.2.6.2 Análise de Atividade Antioxidante pelo método ABTS^{•+} da melhor condição de extração de BUS e de BUV

A atividade antioxidante pelo método ABTS^{•+} (2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico)) foi realizada conforme metodologia descrita por Re *et al.* (1999) e Rufino *et al.* (2007). O cátion radical ABTS foi formado pela reação da solução ABTS 7 (micro molares) mM com persulfato de potássio 140 mM, incubados à temperatura de 25 °C ao abrigo da luz, durante 12-16 h. Posteriormente diluído em etanol absoluto até a obtenção do valor de absorvância de 0,700 a 734nm.

Para a realização da análise, uma alíquota de 30 microlitros (μL) de BUS e de BUV em suas melhores condições de extração obtidas pelo planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} , na diluição de 100 vezes do extrato original, e de ES a 100 ppm, foram transferidas para tubos de ensaio diferentes, e a todos os tubos foram adicionados de 3 mL de solução de ABTS^{•+} 7 mM. As leituras das absorvâncias foram realizadas após 6 minutos de reação em espectrofotômetro Bel Photonics Modelo 2000 UV a 734 nm. A amostra controle foi composta por 30 μL de trolox, adicionada a 3 mL de solução de radical ABTS^{•+}. O espectrofotômetro foi zerado com etanol p.a.

A curva analítica foi construída nas concentrações de 1500, 1000, 500, 100 e 50 μMol de trolox e os resultados expressos em μmol de trolox por grama de amostra ($\mu\text{mol TEAC/g}$) calculados a partir da equação da reta da curva analítica de trolox ($y = -8,8347x + 0,6796 / R^2 = 0,9941$).

4.2.2.6.3 Análise da Autoxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico da melhor condição de extração de BUS e de BUV

A medida da atividade antioxidante pela oxidação acoplada do β -caroteno e do ácido linoleico foi realizada de acordo com o método de Emmons, Peterson e Paul (1999) e Ahn *et al.* (2004).

Para a realização da análise, foram dissolvidos 10 miligramas (mg) de β -caroteno em 100 mL de clorofórmio (Solução A). Foram dissolvidos 40 mg de ácido linoleico em 400 mg de Tween 40 (Solução B). À solução B foram adicionados 3 mL da solução A. Da solução A após seu preparo, necessitou-se realizar a remoção do clorofórmio através de uma corrente de gás nitrogênio. Realizada a remoção do clorofórmio a solução foi redissolvida de forma a completar 100 mL de água aerada (aerou-se durante 30 minutos). Posteriormente, alíquotas de 3 mL da solução A foram transferidas para um tubo de ensaio juntamente com 0,3 mL de amostra de BUS e BUV em suas melhores condições de extração obtidas pelo planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} , nas diluições de 100 vezes do extrato original, sendo conduzida também uma amostra de ES a 7 mg.mL^{-1} . Realizaram-se as leituras das absorbâncias em espectrofotômetro Bel Photonics Modelo 2000 UV a 470 nm. As leituras foram conduzidas na temperatura de $50 \text{ }^\circ\text{C}$, para isto as amostras foram mantidas em banho-maria. Os tempos de leitura foram realizados em intervalos de 20 minutos, partindo da leitura no tempo zero até a estabilização dos valores das absorbâncias, que foram em 80 minutos. Conduziu-se uma amostra controle composta por 0,3 mL de etanol 80% ao invés de amostra.

Os resultados foram expressos em percentual de atividade antioxidante de auto-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico (%AAB). Através da expressão em porcentagem de inibição em relação ao controle após 80 minutos de incubação. O cálculo para a expressão dos resultados pode ser evidenciado pela equação 12.

Equação 12

$$\%AAB = \left\{ \frac{(TDC - TDA)}{TDC} \right\} \cdot 100$$

Onde:

TDC = taxa de degradação do controle, visto que TDC pode ser obtido pela relação exposta na equação 13.

TDA = taxa de degradação da amostra contendo a substância teste, visto que TDA pode ser obtido pela relação exposta na equação 14.

Equação 13

$$TDC = \frac{\ln\left(\frac{a}{b}\right)}{100}$$

Equação 14

$$TDA = \frac{\ln\left(\frac{a}{b}\right)}{100}$$

Onde:

a = absorbâncias no tempo inicial (0 min);

b = absorbâncias no tempo final (80 min).

4.2.2.6.4 Atividade antioxidante total pelo método de redução do ferro (FRAP) da melhor condição de extração de BUS e de BUV

Para a determinação da atividade antioxidante, por meio da redução do ferro (FRAP - Ferric Reducing Antioxidant Power), será utilizada a metodologia descrita por Rufino *et al.* (2006) e Kukic *et al.* (2008), com algumas modificações. Este método baseia-se na medida direta da habilidade dos antioxidantes (redutores) da amostra em reduzirem, em meio ácido (pH 3,6), o complexo Fe³⁺/tripiridiltriazina (TPTZ), para formar Fe²⁺, de intensa cor azul e absorção máxima a 593 nm.

O reagente FRAP foi preparado no momento da análise, através da mistura de 25 mL de tampão acetato (300 mM, pH 3,6), 2,5mL de solução TPTZ (10 mM TPTZ em 40 mM HCl) e 2,5 mL de FeCl₃ (20 mM) em solução aquosa.

Para a realização da análise uma alíquota de 100 µL do extrato de BUS e de BUV em suas melhores condições de extração obtidas pelo planejamento fatorial fracionário 2⁴⁻¹, na diluição de 100 vezes para BUS e BUV e de 100 ppm para o ES, foi adicionado ao tubo de ensaio, em seguida acrescentados 270 µL de água destilada e por fim, 3 mL do reagente FRAP adicionado.

A curva de calibração foi realizada através da utilização de uma solução padrão de sulfato ferroso a 2000 µM. Os pontos da curva consistiram em: 200, 500, 1000, 1500 e 2000 µM. Onde, 90 µL de cada ponto da curva foram pipetados em triplicata para tubos de ensaio, acrescentados de 270 µL de água destilada e 2,7 mL do reagente FRAP. Os resultados foram expressos em micro mols de ferro (II) por grama de amostra (µmol Fe²⁺/g) através da equação da reta ($y = 38,845 + 0,0415 / R^2 = 0,9957$).

Os tubos de ensaio foram incubados a 37 °C em banho-maria por 30 minutos. O espectrofotômetro Bel Photonics Modelo 2000 UV a 470 nm foi zerado com a

solução FRAP. As leituras foram realizadas em absorbância a 593 nm de comprimento de onda.

4.2.3 Metodologias de Elaboração, composição centesimal e análises microbiológicas do produto cárneo.

4.2.3.1 Elaboração da Linguiça Frescal de Frango

A linguiça frescal de carne de frango foi elaborada nos laboratórios da UTFPR – *Câmpus Dois Vizinhos* – PR. Foram elaborados 4 tratamentos: Tratamento 1 (T1) sem a adição de antioxidante, chamado também de controle; Tratamento 2 (T2) com a adição de antioxidante sintético, ES; Tratamento 3 (T3) e 4 (T4) com a adição de extratos liofilizados de bagaço de suco de uvas na concentração de 2 e 4 mg.g⁻¹, respectivamente. As concentrações dos ingredientes utilizados no experimento foram de acordo com a legislação vigente, Portaria 1004, de 11 de dezembro de 1998 (BRASIL, 1998). Na tabela 4 está discriminada a formulação do produto cárneo elaborado por este estudo:

Tabela 4. Proporção dos ingredientes nas formulações T1, T2, T3 e T4 de Linguiça Frescal de Carne de Frango.

Ingredientes	T1 (%)	T2 (%)	T3 (%)	T4 (%)
Carne de Frango (coxa e sobrecoxa:peito, 3:1)	87,33	87,32	87,13	86,93
Touçinho	5,00	5,00	5,00	5,00
Nitrito de Sódio	0,02	0,02	0,02	0,02
Glutamato Monossódico	0,20	0,20	0,20	0,20
Proteína Texturizada de Soja	2,00	2,00	2,00	2,00
Alho em Pó	0,10	0,10	0,10	0,10
Cebola em Pó	0,10	0,10	0,10	0,10
Água Gelada	3,00	3,00	3,00	3,00
Sal	1,80	1,80	1,80	1,80
Tripolifosfato de Sódio	0,45	0,45	0,45	0,45
Eritorbato de sódio (ES)	-	0,01	-	-
Extrato BUS liofilizado	-	-	0,20	0,40

T1: Amostra controle; T2: Amostra contendo antioxidante sintético; T3: Amostra contendo 2mg.g⁻¹ de BUS; T4: Amostra contendo 4mg.g⁻¹ de BUS.

As etapas da elaboração do produto cárneo seguiram conforme o fluxograma apresentado pela figura 10.



Figura 10. Fluxograma do processamento do produto cárneo.
Fonte: Da autora (2014).

A matéria-prima foi obtida no comércio local, sendo que a localidade da compra era devidamente inspecionada. A carne de frango (peito sem osso e sem pele e coxa e sobrecoxa) foram moídas em discos de 8 mm. O toucinho foi picado em pedaços pequenos. Todos os ingredientes, exceto água e antioxidantes (sintético e BUS liofilizado – extratos naturais) foram pesados e homogeneizados formando uma massa base.

A proteína texturizada de soja foi moída antes de ser adicionada a mistura. Após a homogeneização dos ingredientes, a massa foi dividida em 4 partes. Após a divisão, nas devidas proporções foram adicionados: o antioxidante sintético (T2), o

extrato liofilizado de BUS a 2 mg.g^{-1} (T3), o extrato liofilizado de BUS a 4 mg.g^{-1} (T4) e manteve-se uma das partes sem adição alguma – amostra controle (T1). Sendo que, os extratos liofilizados foram dissolvidos na água da própria formulação. O antioxidante sintético foi adicionado diretamente a massa após a divisão. O percentual de água foi completado conforme a Tabela 6. As formulações T1, T2, T3 e T4 foram homogeneizadas separadamente e descansaram por 120 minutos sob refrigeração, na sequência foram embutidas em tripa natural e procedido ao amarrar dos gomos.

Por fim, as amostras foram divididas em duas partes. Uma das partes foi submetida a refrigeração (4°C) para análise de Cor, pH e TBARS durante os tempos de: 0, 2, 4, 6 e 8 dias de armazenamento. E a outra parte, submetida ao congelamento para análises microbiológicas e de composição centesimal.

4.2.3.2 Composição centesimal da linguiça frescal de frango

As análises de percentual de umidade (%U), cinzas (%Ci), proteína bruta total (%PB) e extrato etéreo (%EE), foram analisadas conforme o 4.2.1.

4.2.3.3 Análises microbiológicas da linguiça frescal de frango

Foram realizadas as análises microbiológicas, para T1, T2, T3 e T4. Análises estas previstas pela legislação para linguiça frescal de carne de frango (RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001) (BRASIL, 2001). A qual preconiza: Coliformes a 45°C , Estafilococos coagulase positiva, *Clostridium* sulfito redutor a 45°C e *Salmonella* sp. As análises foram realizadas por laboratório externo, com acreditação pelo INMETRO.

4.2.4 Acompanhamento da cor, pH e rancidez oxidativa da linguiça frescal de frango crua durante seu período de armazenamento

As formulações de linguiças frescal de frango: T1, T2, T3 e T4 foram analisados conforme as metodologias abaixo, nos tempos de 0, 2, 4, 6 e 8 dias de armazenamento a 4°C .

4.2.4.1 Cor

As análises de cor dos quatro tratamentos das linguiças de carne de frango foram realizadas com colorímetro (Konica Minolta), modelo CR 400, utilizando luminante D65 e ângulo do observador de 2°. Para cada amostra (T1, T2, T3 e T4) em cada tempo de armazenamento (0, 2, 4, 6 e 8 dias), foram realizadas 6 leituras no total, na parte interna de duas linguiças por amostra. Utilizou-se o padrão branco como referência (L*: 94,74, a*: -0,35, b*: 3,98). Determinaram-se os parâmetros L* (Luminosidade, variando de 0 – preto puro – a 100 – branco puro), a* (Componente vermelho-positivo/verde-negativo), b* (Componente amarelo-positivo/azul-negativo), H (Hue – Tonalidade) e C* (Chroma – Saturação), expressos pelo sistema CIEL*a*b*. A diferença de cor (ΔE) das amostras foi determinada pela Equação 15, como a diferença entre as leituras do padrão branco (L*: 94,74, a*: -0,35, b*: 3,98) e das amostras (MAQSOOD; BENJAKUL; BALANGE, 2012).

Equação 15

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{0,5}$$

Onde:

ΔL = Diferença entre o padrão branco e a amostra no parâmetro L*;

Δa = Diferença entre o padrão branco e a amostra no parâmetro a*;

Δb = Diferença entre o padrão branco e a amostra no parâmetro b*;

4.2.4.2 Potencial hidrogeniônico – pH

As medidas de pH das linguiças foram realizadas de acordo com Terra e Brum (1988). Pesaram-se 10 g de amostra em um béquer e acrescentaram-se 100 mL de água destilada, homogeneizou-se o conteúdo e procedeu-se a leitura com eletrodo previamente calibrado.

4.2.4.3 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico – TBARS

A avaliação da oxidação lipídica das linguiças de frango foi realizada pelo teste das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) segundo Raharjo; Sofos e Schmidt (1992), com algumas adaptações. Foram pesados 5 g de amostra moída e adicionado 25 mL de ácido tricloroacético (TCA) 7,5% (ao reagente de TCA

para cada 1000 mL de solução foram adicionados 1g de propil galato e 1 mL de EDTA dissódico). Foram homogeneizados por um minuto em Ultra-Turrax e filtrados, com auxílio de papel filtro qualitativo. Para tudo de ensaio foram pipetados uma alíquota de 4 mL de amostra filtrada, adicionaram-se 5 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,02 mol/L. Os tubos foram incubados em banho-maria fervente por 40 minutos. O branco foi composto de 4 mL de água adicionados de 6 mL de TCA 7,5%. Como controle utilizou-se de uma alíquota de 4 mL de amostra adicionados de 6 mL de TCA 7,5%. Visto que, a adição de ácido às amostras contendo extrato liofilizado de uvas reagem com o mesmo formando compostos coloridos, róseos, isso por conta da presença natural de antocianinas no extrato liofilizado, que formam compostos coloridos em pH ácido, na sua forma de oxônio colorido, conforme AOAC (2005) (Figura 11). A reação do TBA com a amostra analisada mais o TCA no final do ensaio resulta em um composto colorido róseo também. Descontou-se a cor característica da amostra através da condução de uma amostra controle. A leitura foi realizada a 531 nm em espectrofotômetro Bel Photonics Modelo 2000 UV. Os valores de TBARS foram determinados em triplicata para cada amostra e os resultados foram expressos em miligrama de malonaldeído por quilograma de amostra (mg MDA.Kg^{-1}).

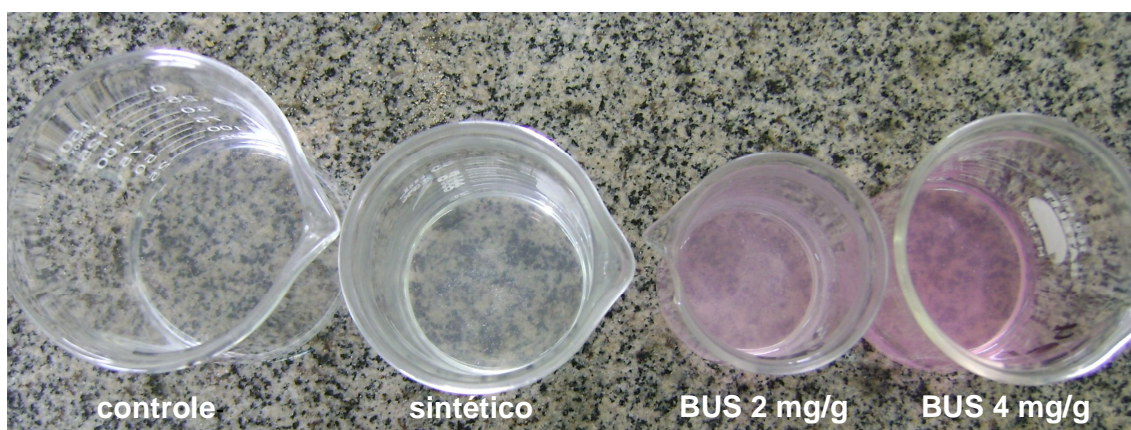


Figura 11. Amostras de linguiça de carne de frango oriundas da extração com TCA para a análise de TBARS. Aonde: Controle (T1), Sintético (T2), BUS 2 mg/g (T3) e BUS 4mg/g (T4)

Fonte: Da autora (2014).

4.2.5 Análise estatística

O conjunto de dados foi analisado através do *software* STATISTICA 8.0. Para análise estatística de planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} , o delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado e o intervalo de confiança de 99%. As médias foram analisadas através do teste de ANOVA pelo teste de Tukey ao intervalo de confiança de 95%. Quando o teste t-Student foi utilizado para comparar médias, o intervalo de confiança foi de 95% também.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS BUS E BUV E PREPARO DOS EXTRATOS

5.1.1 Coleta das amostras de BUS e BUV

Realizaram-se as análises de umidade para as amostras BUS e BUV quando coletadas (tabela 5).

Tabela 5. Umidade das amostras de BUS e BUV após os respectivos processamentos da indústria e coleta.

	BUS	BUV	p-valor
Umidade (%)	78,08±0,77	71,05±0,79	<0,001

Significativo pelo teste t-Student p (<0,05).

Avaliando a tabela 7 é possível verificar que a umidade do BUS é maior que a do BUV e houve diferença significativa pelo teste t-Student p (<0,05). Essa diferença provavelmente se deve as condições de processamento e obtenção desses dois coprodutos. Isto se deve ao fato de que no processamento do suco desta amostra (BUS) quando o bagaço é separado de seu suco, não há uma prensagem do material e, além disso, a extração do suco é realizada através de arraste a vapor, o que contribui para aumentar a umidade do bagaço, e já o BUV passa pelo processo de fermentação alcoólica e prensagem antes de ser dispensado.

Os coprodutos foram submetidos a secagem em estufa com circulação de ar na temperatura de 37±3°C por um período aproximado de 5 dias. Nesta etapa foi determinado o rendimento da secagem do BUS e BUV, resultando em aproximadamente 23,10% e 29,54%, demonstrando que de fato, pelo rendimento menor expresso, a umidade foi maior na amostra resultante do processamento de SUCOS.

5.1.2 Caracterização das amostras de BUS e BUV após secagem e moagem

As amostras de BUS e BUV, após processo de secagem, foram analisadas quanto a sua composição centesimal. A tabela 6 apresenta os resultados das análises de composição centesimal do BUS e do BUV, em base úmida.

Tabela 6. Composição centesimal das amostras de BUS e BUV após processamento de secagem e moagem dos bagaços de uvas coletados.

Análise	BUS (%)	BUV (%)	p-valor
Cinzas	3,03±0,11	4,47±0,15	<0,001
Extrato Etéreo	5,81±0,06	8,49±0,06	<0,001
Fibra Bruta	17,00±1,02	34,32±0,21	<0,001
Proteína Bruta	6,04±0,11	10,9±0,22	<0,001
Umidade	12,62±0,35	9,38±0,09	<0,001
Carboidratos	54,07±1,48	33,88±0,69	<0,001

Significativo pelo teste t-Student p (<0,05).

De acordo com o teste t-Student p (<0,05) houve diferenças significativas entre as determinações de cada análise de composição centesimal entre as amostras de BUS e BUV secas e moídas (tabela 8).

Deng, Penner e Zhao (2011) analisaram cinzas (2,53 a 7,59%), extrato etéreo (1,14 a 6,33%) e proteína bruta (5,38 a 12,34%) em casca de bagaço de uvas oriundas do processamento de vinhos de diferentes cultivares, expressos em base seca. Os resultados de cinzas e proteína bruta deste trabalho (tabela 8) possuem valores próximos aos encontrados pelos autores citados acima. No entanto, os valores de extrato etéreo obtidos nesse estudo (tabela 8) foram maiores provavelmente pela característica do coproduto, os quais continham semente, bagaço e engaço, enquanto que no trabalho dos autores Deng, Penner e Zhao (2011), a sua amostra analisada continha apenas cascas dos bagaços de uvas.

As sementes são responsáveis pelo alto teor de óleo na composição do bagaço de uvas, elevando assim o teor de extrato etéreo quando são analisados em conjunto com a casca de bagaços de uvas. Sánchez-Alonso *et al.* (2007) obtiveram 9,44% de extrato etéreo em bagaços de uvas oriundo do processamento de vinhos, similar ao encontrado por este trabalho, demonstrando que quando as sementes são analisadas como parte da amostragem o percentual lipídico total é maior. Os mesmos autores obtiveram valores de 8,08% de proteína bruta e 2,43% de cinzas, corroborando com este estudo.

Ferreira (2010) analisou farinha de bagaço de uvas quanto a sua composição centesimal. O bagaço de uvas foi seco em estufa de circulação forçada até a obtenção da umidade de 6%. Obtendo valores de cinzas 7,36%, extrato etéreo 7,25%, fibra bruta 21,89%, proteína bruta 14,65%, umidade 6,80% e carboidratos calculados por diferença de 48,86%. Em comparação a este trabalho, as cinzas para BUS e BUV e a proteína bruta para BUS obtiveram quantificações menores. O extrato etéreo (BUS e BUV) e a fibra bruta (BUS) obtiveram quantificações próximas.

Já as fibras (BUV) foram maiores para este trabalho (tabela 8). A umidade é um fator que interfere na composição centesimal dos alimentos. Se forem tomados dois materiais de uma mesma matriz, na matriz de menor umidade, os componentes serão concentrados, na matriz de maior umidade, os componentes estarão compondo os alimentos com maior dispersão. É lógico, que a metodologia de quantificação utilizada deve ser considerada quando se deseja fazer uma comparação de quantificações. A farinha de bagaço de uvas de Ferreira (2010) possui umidade inferior a farinha analisada por este trabalho, isto explica os valores de cinzas menores obtidos pelo presente estudo. O bagaço de uvas pode ter várias proporções de cascas, sementes e pedúnculos e isso é influenciado diretamente pelo processamento que passou a uva até vir a ser um descarte de produção e também a variedade da uva em questão.

5.2 PLANEJAMENTO FATORIAL DE EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DAS AMOSTRAS APÓS SECAGEM DE BUS E DE BUV

Conforme apresentado na tabela 3 (item 4.2.2.1), o delineamento experimental consistiu de um planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} totalizando 8 corridas, as quais foram realizadas em duplicata totalizando 16 tratamentos, o qual teve como objetivo determinar as melhores condições de extração de compostos bioativos dos BUV e BUS.

A figura 12 apresenta a imagem dos 16 extratos preparados a partir das amostras secas de BUS e de BUV.

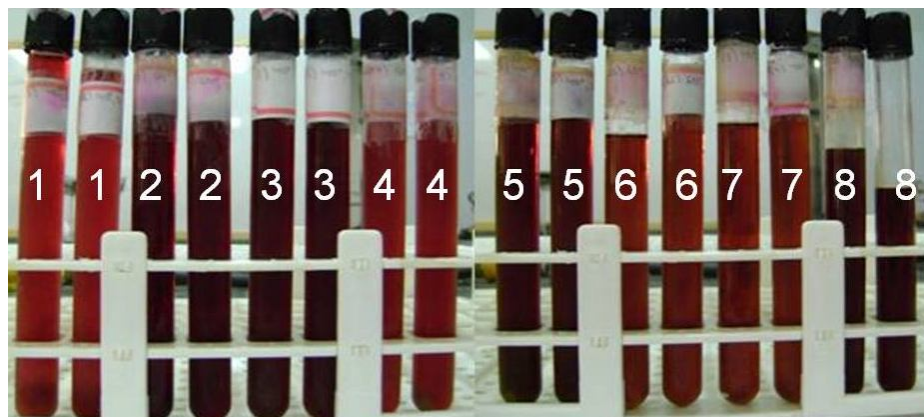


Figura 12. Extratos do planejamento fatorial fracionário de extração 2^{4-1} , em duplicata, preparados a partir das amostras secas de BUV e BUS.

Fonte: Da autora 2013.

5.2.1 Análises estatísticas das variáveis dependentes Atividade antioxidante e Compostos fenólicos totais

5.2.1.1 Variável Dependente: Atividade antioxidante

A tabela 7 apresenta os resultados da resposta atividade antioxidante do planejamento fatorial de extração. Os 16 extratos da figura 12 foram analisados cada um em triplicata.

Tabela 7. Resultados da variável dependente atividade antioxidante, do planejamento fatorial fracionário de extração 2^{4-1} , em compostos bioativos extraídos de bagaço de uvas provenientes de indústria de vinho e suco de uvas.

Ensaio	Temperatura do banho-maria	Tempo de extração	Solvente utilizado para a extração (8:2)	Bagaço de uva utilizado na extração	Atividade antioxidante TEAC ($\mu\text{mol TEAC/g}$)
1	40 °C	15 min	Etanol:Água	BUS	94,71±2,84
2	60 °C	15 min	Etanol:Água	BUV	72,87±2,54
3	40 °C	45 min	Etanol:Água	BUV	67,22±2,67
4	60 °C	45 min	Etanol:Água	BUS	110,63±1,37
5	40 °C	15 min	Acetona:Água	BUV	92,74±3,93
6	60 °C	15 min	Acetona:Água	BUS	146,82±3,76
7	40 °C	45 min	Acetona:Água	BUS	141,78±7,77
8	60 °C	45 min	Acetona:Água	BUV	125,73±2,96

Encontra-se na tabela 8 a análise de variância da resposta atividade antioxidante, a um valor de p ($<0,01$), onde todos os parâmetros foram significativos a nível de 99% de intervalo de confiança. E na tabela 9 a análise dos dados de estimativa de efeito e dos coeficientes do modelo.

Tabela 8. Análise de variância (ANOVA) para a resposta atividade antioxidante em compostos bioativos extraídos de bagaço de uva provenientes de indústria de vinho e suco de uva.

Fatores	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-Calculado	p-valor
Temperatura	2663,48	1	2663,48	107,28	<0,001
Tempo	1096,26	1	1096,26	44,15	<0,001
Solvente	19594,48	1	19594,48	789,21	<0,001
Bagaço	13745,07	1	13745,07	553,61	<0,001
Erro	1067,60	43	24,83		
total SS	38166,89	47			

Tabela 9. Análise de estimativas de efeitos e coeficientes do modelo linear para a resposta da atividade antioxidante de compostos bioativos extraídos em coprodutos industriais.

Fatores	Efeitos	Erro Padrão	t (43)	p-valor	-99%	99%	Coeficiente	Erro		
								Padrão	-99%	99%
Média	106,56	0,72	148,17	<0,001	104,62	108,50	106,56 B_0	0,72	104,62	108,50
Temperatura	14,90	1,44	10,36	<0,001	11,02	18,77	7,45 β_1	0,72	5,51	9,39
Tempo	9,56	1,44	6,64	<0,001	5,68	13,43	4,78 β_2	0,72	2,84	6,72
Solvente	40,41	1,44	28,09	<0,001	36,53	44,28	20,20 β_3	0,72	18,26	22,14
Bagaço	-33,84	1,44	-23,53	<0,001	-37,72	-29,97	-16,92 β_4	0,72	-18,86	-14,98

$\beta_0, \beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_4$, são os coeficientes do modelo.

A equação 16 representa o modelo matemático de regressão linear do planejamento fatorial, para a resposta atividade antioxidante:

Equação 16

$$Y = 106,56 + (7,45)T + (4,78)t + (20,20)S + (-16,92)B$$

A qualidade do modelo matemático pode ser observada pelo coeficiente de determinação ou explicação do mesmo. Para a variável dependente atividade antioxidante todos os fatores analisados foram significativos, logo todos os coeficientes foram levados em consideração pelo modelo matemático linear. O R quadrado (R^2) obtido para o modelo de regressão linear foi de 0,9720, isso significa que mais de 97% das variações das respostas podem ser explicadas por este modelo.

Através do gráfico de Pareto também pode-se explicar a significância dos efeitos obtidos pelo planejamento fatorial (figura 13). A modelagem matemática nestes tipos de experimentos pode ser utilizada para gerar superfícies de respostas para cada variável dependente explanadas no estudo, e através dos gráficos de superfície de resposta podem ser observadas as interações entre as variáveis e as suas melhores condições encontradas para o estudo em questão (figuras 14 a 19).

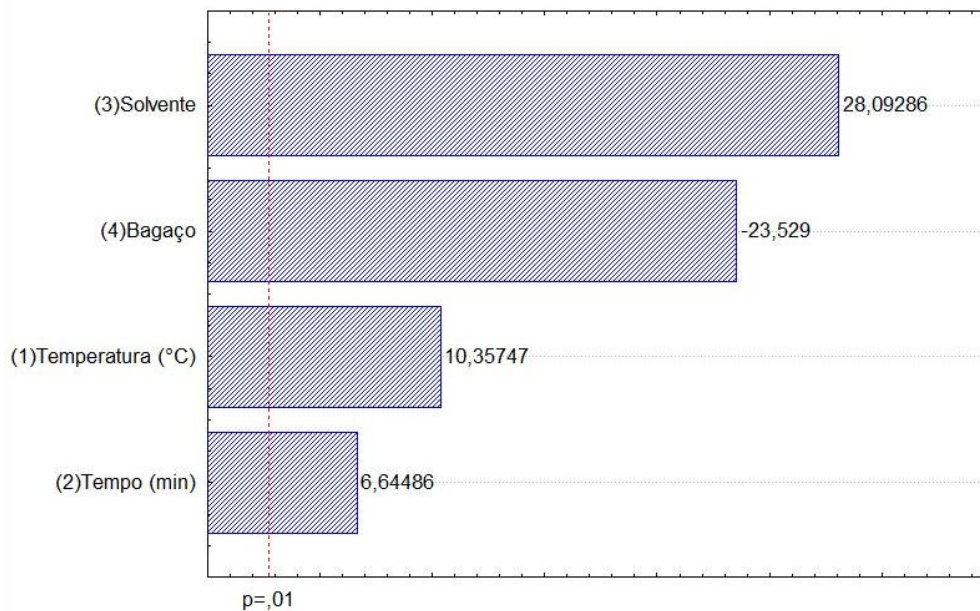


Figura 13. Gráfico de Pareto para resposta atividade antioxidante em compostos bioativos extraídos de bagaço de uvas provenientes de indústria de vinho e suco de uvas.

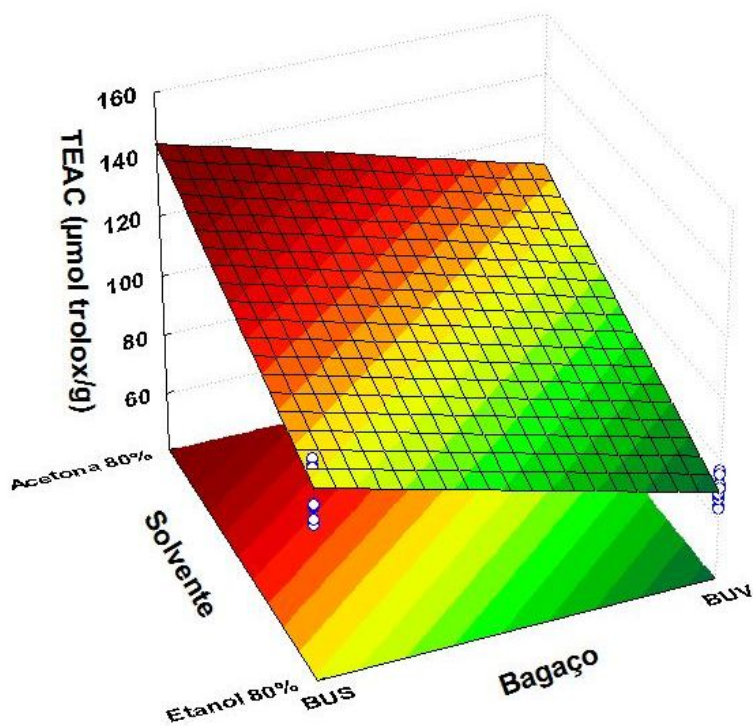


Figura 14. Gráficos de superfície de resposta para a variável dependente atividade antioxidante em função de: Onde: Solvente X Bagaço.

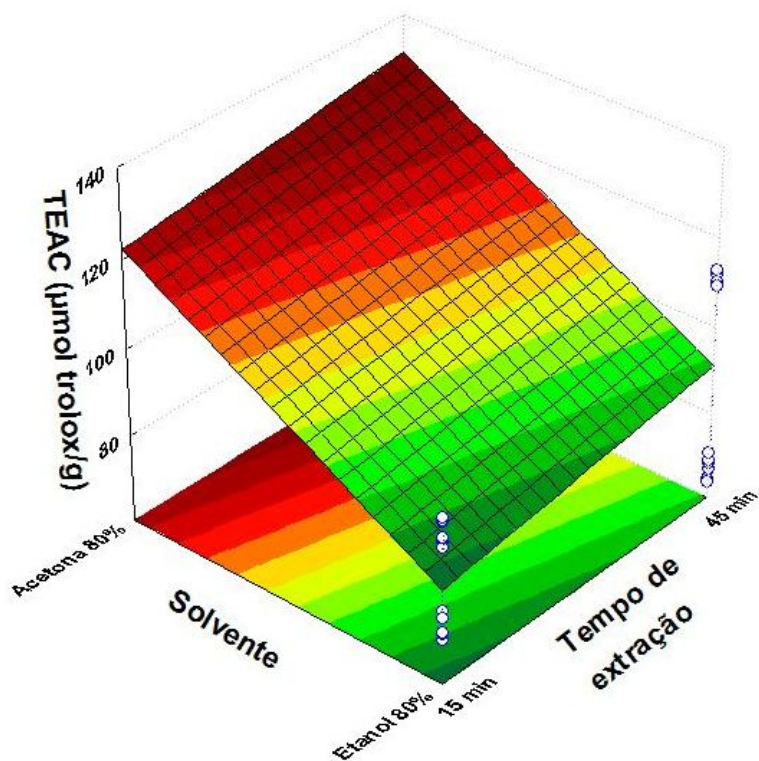


Figura 15. Gráficos de superfície de resposta para a variável dependente atividade antioxidante em função de: Solvente X Tempo.

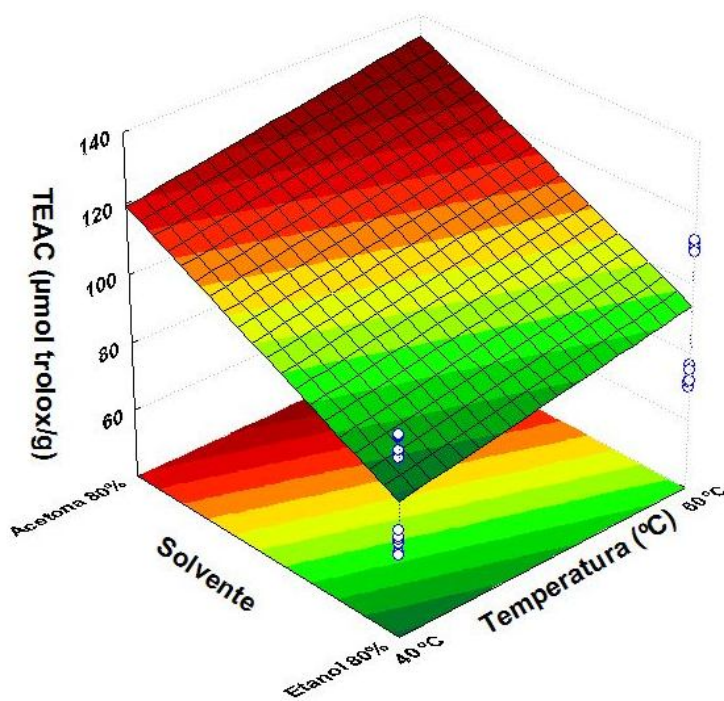


Figura 16. Gráficos de superfície de resposta para a variável dependente atividade antioxidante em função de: Solvente X Temperatura.

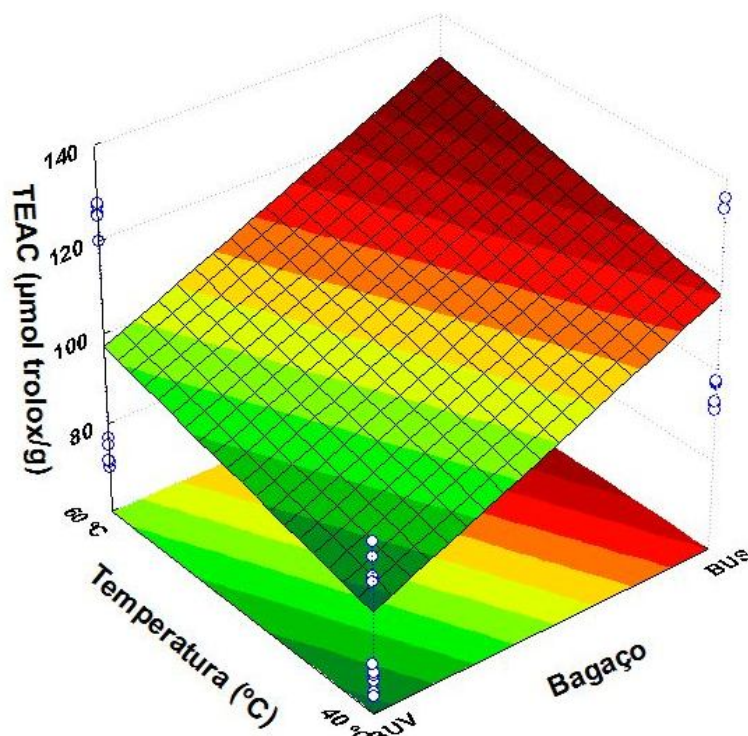


Figura 17. Gráficos de superfície de resposta para a variável dependente atividade antioxidante em função de: Temperatura X Bagaço.

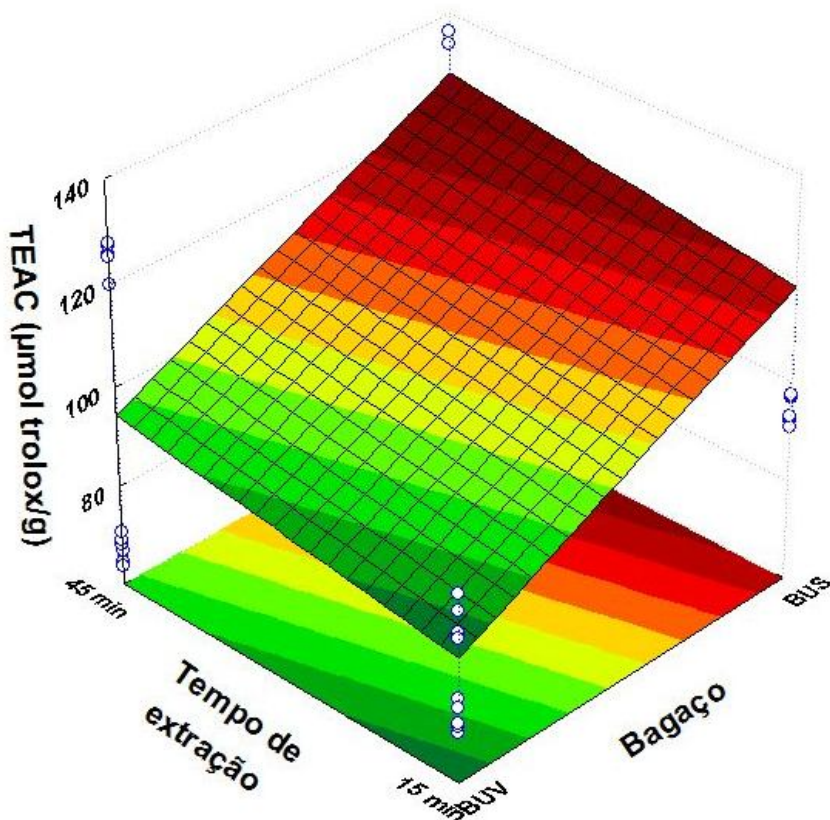


Figura 18. Gráficos de superfície de resposta para a variável dependente atividade antioxidante em função de: Tempo X Bagaço.

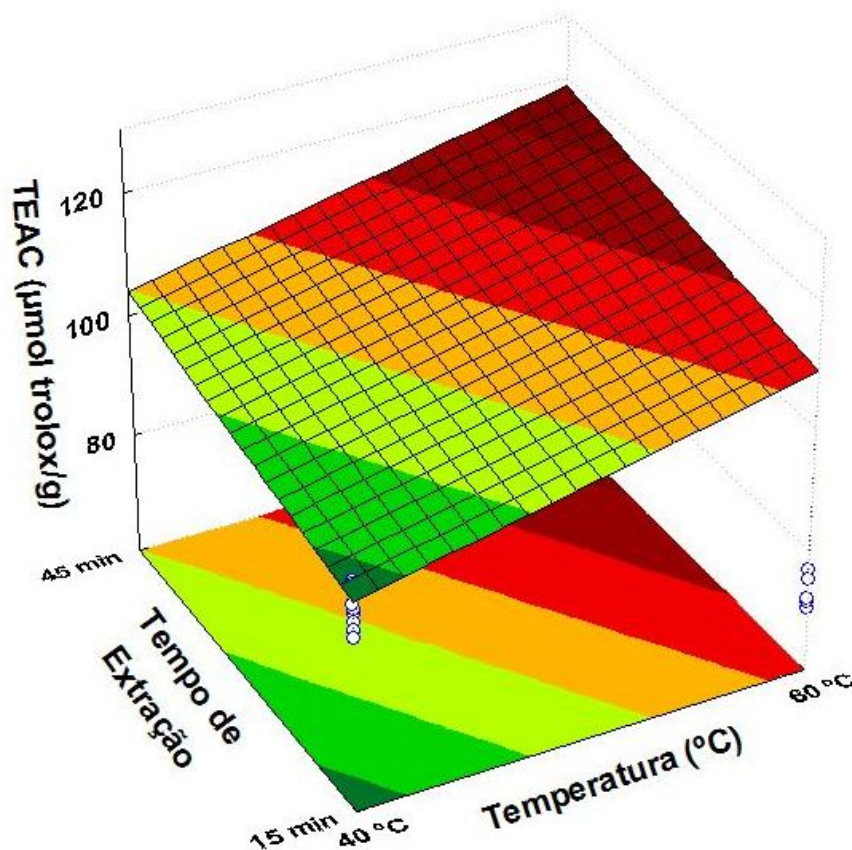


Figura 19. Gráficos de superfície de resposta para a variável dependente atividade antioxidante em função de: Tempo X Temperatura.

O gráfico de Pareto para cada efeito é obtido através da razão entre os efeitos principais (ou de interação quando houver) e o erro padrão, individualmente. A linha de significância representa a 99% de intervalo de confiança, na tabela *t-student*, linha bicaudal, com 47 graus de liberdade, o valor de 2,4083 (figura 13). Ao exceder esse valor, o efeito é significativo (efeito dos fatores em relação a variável dependente).

Conforme pode ser observado nas figuras 14 a 19, o solvente foi a variável independente (fator) que obteve maior significância dentre os quatro fatores analisados, sendo que a sua significância é atribuída a condição +1, que se refere a utilização do solvente acetona 80%. O bagaço utilizado foi a segunda variável independente (fator) que obteve maior efeito e a sua significância é atribuída a condição -1, demonstrando que é mais significativo utilizar BUS do que BUV para extrair compostos bioativos, que no caso deste estudo, foi a matriz em que foram quantificados em maior percentual os compostos bioativos. A temperatura de extração também influenciou na variável dependente e temperaturas maiores

sugerem maiores atividades antioxidantes. O tempo de extração apesar de ser significativo influenciou quando comparado às outras três demais variáveis em menor grau e demonstrou que tempos maiores implicam em maiores resultados de atividade antioxidante.

Cataneo *et al.* (2008) analisaram o potencial antioxidante de coprodutos do processamento de uvas das variedades Coudec 13 e Pinot Gris, testando diferentes temperaturas para secar os coprodutos. As amostras foram secas nas temperaturas de 45, 60 e 80 °C por 4 h e seu extrato preparado em acetona 80% em agitação durante 2 h na ausência de luz. Obtiveram para a variedade Pinot Gris resultados de atividade antioxidante entre 369,23 e 483,31 $\mu\text{mol TEAC/g}$ e para Coudec 13, de 116,02 a 220,44 $\mu\text{mol TEAC/g}$, sendo que o melhor resultado para ambas as variedades foi na temperatura de secagem das amostras secas a 45°C, estando seus resultados próximos aos encontrados por este trabalho. Ao verificar o trabalho de Cataneo *et al.* (2008) também é possível observar que, a temperatura de secagem dos bagaços interfere significativamente na atividade antioxidante dos extratos.

Abe *et al.* (2007) estudaram a atividade antioxidante de uvas das variedades *Vitis labrusca* e *Vitis vinífera*. O extrato foi preparado a partir de 1 g de amostra dissolvidos em metanol:água:ácido acético (70:30:5) e extraídos por 1 minuto em ultra-turrax em velocidade 5, em banho de gelo. O processo foi repetido por mais duas vezes e concentrou-se o extrato. Obtiveram-se valores de 2,7 a 13,8 $\mu\text{mol TEAC/g}$ entre as quantificações. As uvas por possuírem maior quantidade de umidade se comparadas aos bagaços de uvas, diluem o analito.

Rockenbach *et al.* (2011b) analisaram a atividade antioxidante de peles e sementes de bagaços de uvas oriundos do processamento de vinhos de cultivares *Vitis labrusca* e *Vitis vinífera*. Prepararam-se os extratos em metanol:água:ácido acético (80:20:5) através de agitação mecânica em ausência de luz por 1 h a 4°C. Os autores encontraram resultados entre 1113,00 a 3640,00 $\mu\text{mol TEAC/100g}$ (equivalente: 11,13 a 36,40 $\mu\text{mol TEAC/g}$) para a pele e entre 2694,00 a 16.925,00 $\mu\text{mol TEAC/100g}$ para sementes (equivalente: 26,94 a 169,25 $\mu\text{mol TEAC/g}$), em peso seco. Rockenbach *et al.* (2011b) demonstraram que a semente de bagaços de uvas possuem maior quantidade de compostos antioxidantes se comparado a pele de bagaços de uvas. Os resultados desse autor aproximam-se aos obtidos por este estudo.

Rockenbach *et al.* (2011a) analisaram a atividade antioxidante de bagaços de uvas oriundos do processamento de vinhos, no entanto oriundos de três vinícolas diferentes e das variedades *Vitis labrusca* e *Vitis vinifera*. Os extratos destas amostras foram preparados em dissolução de 1 g de amostra liofilizada em 50 mL de metanol acidificado a 0,1% e agitados em equipamento ultra-turrax durante 1 h a 4 °C no escuro. Os extratos foram filtrados. Obtiveram-se então valores entre 188,02 e 505,52 µmol TEAC/g. Se comparados a este trabalho, é possível afirmar que a acidificação do meio e a utilização de metanol como solvente são melhores extratores para as condições analisadas por Rockenbach *et al.* (2011a).

5.2.1.2 Variável Dependente: Compostos fenólicos totais

A tabela 10 apresenta os resultados da análise de compostos fenólicos totais para as 16 corridas do planejamento fatorial de extração:

Tabela 10. Resultados da variável dependente compostos fenólicos totais, do planejamento fatorial de extração, em compostos bioativos extraídos de bagaço de uvas provenientes de indústria de vinho e suco de uvas.

Ensaio	Temperatura do banho-maria	Tempo de extração	Solvente utilizado para a extração (8:2)	Bagaço de uva utilizado na extração	Compostos Fenólicos Totais (mg GAE/g)
1	40 °C	15 min	Etanol:Água	BUS	25,90±2,43
2	60 °C	15 min	Etanol:Água	BUV	22,56±2,16
3	40 °C	45 min	Etanol:Água	BUV	18,00±0,13
4	60 °C	45 min	Etanol:Água	BUS	27,88±0,33
5	40 °C	15 min	Acetona:Água	BUV	26,99±0,55
6	60 °C	15 min	Acetona:Água	BUS	34,82±0,83
7	40 °C	45 min	Acetona:Água	BUS	34,20±0,73
8	60 °C	45 min	Acetona:Água	BUV	31,03±0,83

Encontra-se na tabela 11 a análise de variância da variável dependente compostos fenólicos totais, a um valor de p (<0,01), onde todos as variáveis independentes, exceto o tempo, foram significativos a nível de 99% de intervalo de confiança. E na tabela 12 a análise dos dados de estimativa de efeito e dos coeficientes do modelo.

Tabela 11. Análise de variância (ANOVA) para a resposta compostos fenólicos totais em compostos bioativos extraídos de bagaço de uva provenientes de indústria de vinho e suco de uva.

Fatores	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média dos Quadrados	F-Calculado	p-valor
Temperatura	94,04	1	94,04	41,19	<0,001
Tempo	0,51	1	0,51	0,22	0,640
Solvente	802,57	1	802,57	351,56	<0,001
Bagaço	439,91	1	439,91	192,70	<0,001
Erro	98,16	43	2,28		
total SS	1435,20	47			

Tabela 12. Análise de estimativas de efeitos e coeficientes do modelo linear para a resposta de compostos fenólicos totais de compostos biativos extraídos em coprodutos industriais.

Fatores	Efeitos	Erro Padrão	t (43)	p-valor	-99%	99%	Coeficientes	Erro Padrão Coeficientes	-99%	99%
Média	27,67	0,22	126,88	<0,001	27,08	28,25	27,67 β_0	0,21	27,08	28,25
Temperatura	2,80	0,43	6,41	<0,001	1,62	3,97	1,39 β_1	0,21	0,81	1,98
Tempo	0,20	0,43	0,47	0,640	-0,97	1,38	0,10 β_2	0,21	-0,48	0,69
Solvente	8,18	0,43	18,74	<0,001	7,00	9,35	4,09 β_3	0,21	3,50	4,67
Bagaço	-6,05	0,43	-13,88	<0,001	-7,23	-4,88	-3,02 β_4	0,21	-3,61	-2,43

$\beta_0, \beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_4$, são os coeficientes do modelo.

A equação 17 representa o modelo matemático de regressão linear do planejamento fatorial, para a variável dependente compostos fenólicos totais:

Equação 17

$$Y = 27,67 + (1,39)T + (4,09)S + (-3,02)B$$

Exceto o fator tempo, ($p=0,640$), as demais variáveis independentes (temperatura, solvente e bagaço) foram considerados pelo modelo matemático, visto que são significativos a 99% de intervalo de confiança. O R^2 obtido para o modelo de regressão linear foi de 0,9316, isso significa que mais de 93% das variações das respostas são explicadas pelo modelo.

Abaixo encontram-se o gráfico de Pareto (figura 20) e os gráficos de superfície de resposta para a variável dependente compostos fenólicos (figuras 21 a 23).

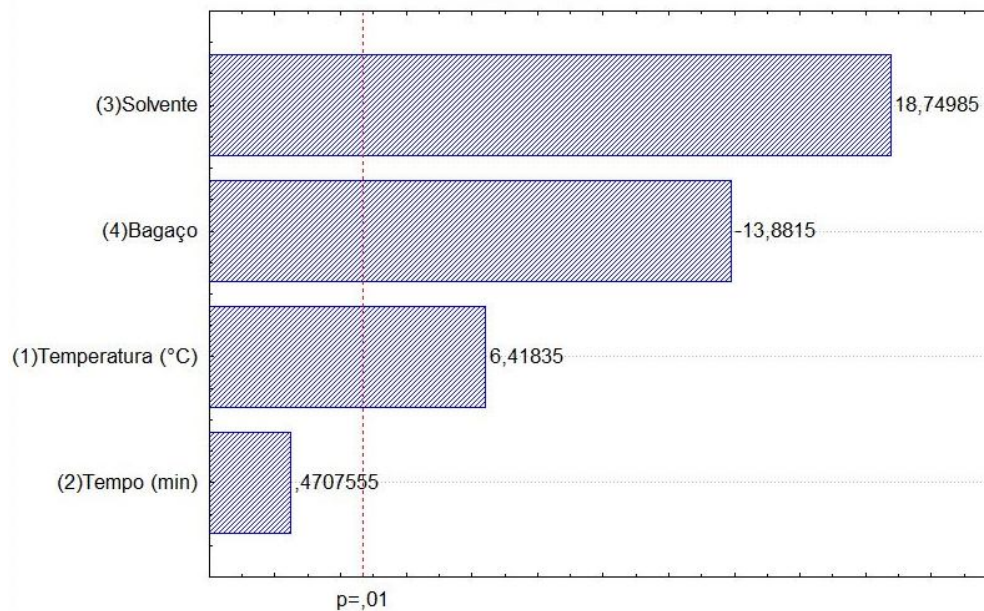


Figura 20. Gráfico de Pareto para resposta compostos fenólicos totais em compostos bioativos extraídos de bagaço de uvas provenientes de indústria de vinho e suco de uvas.

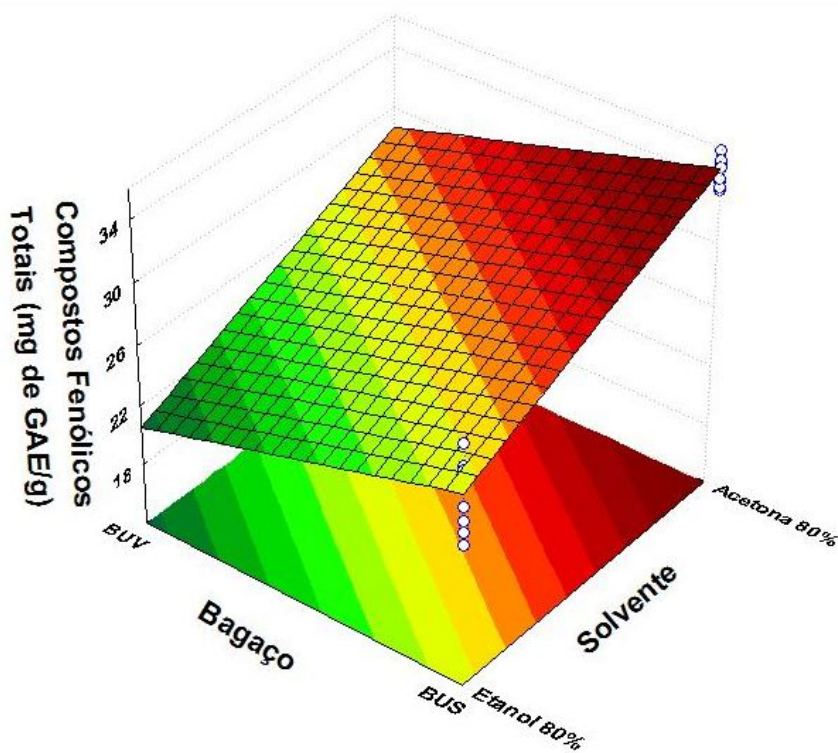


Figura 21. Gráficos de superfície de resposta para a variável dependente compostos fenólicos totais em função de: Onde: Bagaço X Solvente.

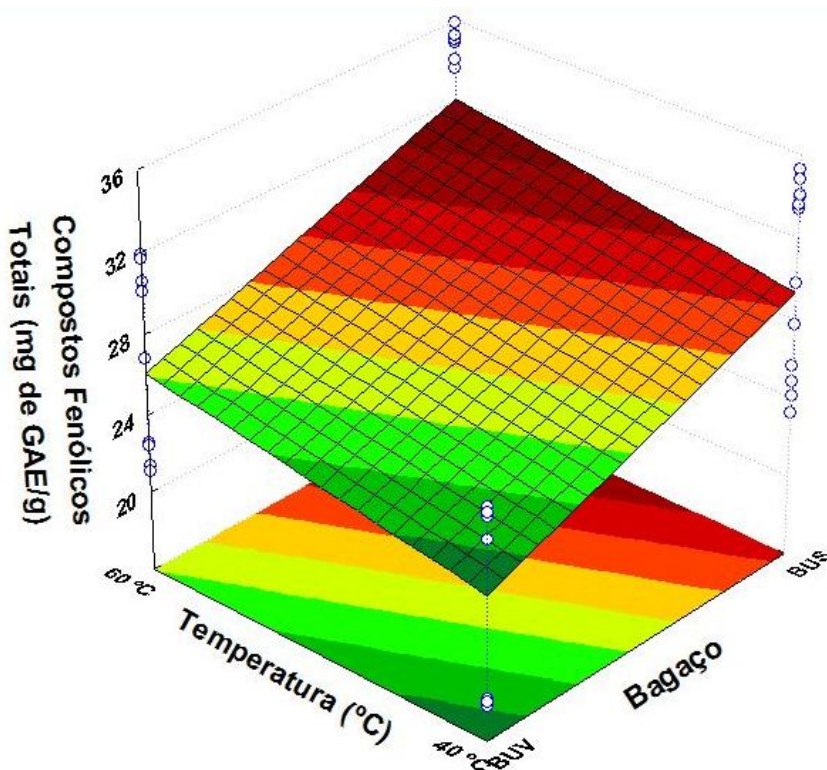


Figura 22. Gráficos de superfície de resposta para a variável dependente compostos fenólicos totais em função de: Bagaço X Temperatura.

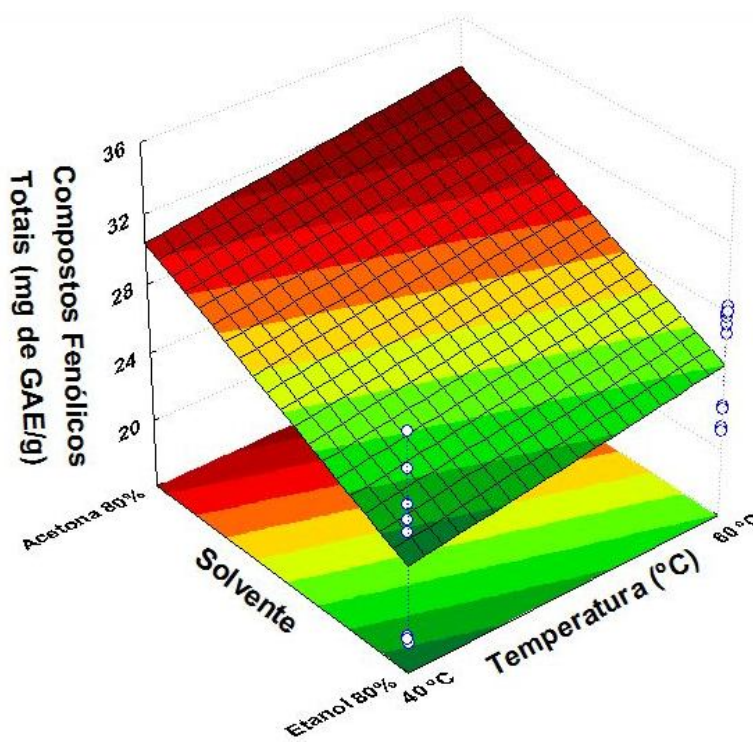


Figura 23. Gráficos de superfície de resposta para a variável dependente compostos fenólicos totais em função de: Solvente X Temperatura.

A linha de significância do gráfico da figura 20 representa a 99% de intervalo de confiança, na tabela *t-student*, linha bicaudal a 99% de intervalo de confiança, com 47 graus de liberdade, o valor de 2,4083. Ao exceder esse valor, o efeito é significativo.

Conforme pode ser observado no gráfico de Pareto (figura 20), o fator solvente foi a variável independente mais importante na dosagem de compostos fenólicos totais, dentre os quatro fatores analisados, sendo que a sua significância é atribuída a condição +1, que se refere a utilização do solvente acetona 80%. O bagaço utilizado foi a segunda variável mais importante para a resposta e a sua significância é atribuída a condição -1, demonstrando que o BUS, nas condições estudadas contém a maior concentração de compostos fenólicos totais. A temperatura também influenciou a variável dependente compostos fenólicos totais e temperaturas maiores sugerem maiores quantidades de compostos fenólicos totais. O tempo não se apresentou significativo para o modelo e isto sugere que o mesmo não influencia a quantidade de compostos fenólicos para este estudo.

Demonstrado pelas figuras 21 a 23, o aumento da quantificação de compostos fenólicos totais nos extratos gerados por este estudo ocorre quando são utilizados para a obtenção dos extratos: BUS dissolvidos em solvente acetona 80% e extraídos a 60 °C.

Melo *et al.* (2011) quantificaram o teor de compostos fenólicos totais em bagaços de uvas: Isabel (*Vitis labrusca*), Verdejo (*Vitis vinifera*) e bagaço de goiaba (*Psidium guajava*). Os extratos foram obtidos através da pesagem de 1 g de cada um dos bagaços liofilizado e dissolvidos em 10 mL de etanol:água (80:20) e apenas em água, sendo as extrações conduzidas em ultrassom, na temperatura ambiente durante 15 minutos, seguido por centrifugação do extrato. Os resultados obtidos para os extratos em água variaram de 4,41 a 8,03 mg GAE/g nos bagaços de uvas, sendo que o bagaço de uva verdejo obteve o maior valor, e quantificou-se 1,88 mg GAE/g para o bagaço de goiaba. Os extratos etanólicos 80% variaram de 16,57 a 20,94 mg GAE/g para os bagaços de uvas, sendo o maior também o bagaço de uvas verdejo e 3,41 mg GAE/g para o bagaço de goiaba. Esses resultados são próximos aos encontrados por este trabalho quando se utiliza etanol 80% como solvente.

Rockenbach *et al.* (2011a) quantificaram compostos fenólicos totais em bagaços de uvas oriundos do processamento de vinhos oriundos de três vinícolas

diferentes e das variedades *Vitis labrusca* e *Vitis vinifera*. Seus extratos preparados pela dissolução de 1 g de amostra liofilizada em 50 mL de metanol acidificado a 0,1% e agitados em equipamento ultra-turrax durante 1 h a 4 °C no escuro. Os extratos foram filtrados. Obtiveram-se então valores para compostos fenólicos totais entre 32,62 a 74,74 mg GAE/g. Os resultados deste autor podem ser considerados próximos aos deste trabalho. No entanto, o valor máximo do autor pode ser atribuído a acidificação do extrato e a utilização do metanol que foram melhores extratores. Deve-se levar em conta também, que as amostras analisadas foram liofilizadas, processo que concentra ainda mais o analito (m/m).

Rockenbach *et al.* (2008) analisaram os compostos fenólicos totais de bagaços de uvas das variedades Tannat e Ancelota. Sendo que as amostras foram secas a 50 °C durante 24 h, na sequência foram trituradas e desengorduradas com solvente hexano durante 6 h a 60 °C. Para a extração dos compostos fenólicos foram pesados 2,5 g de amostra seca e dissolvidos em soluções de etanol:água e acetona:água nas concentrações 0, 30, 50, 70 e 100% (v/v), acidificados com HCl a 0,1%. A extração foi conduzida em agitação mecânica durante 2 h e ao abrigo da luz, posteriormente os extratos foram filtrados e seu volume final ajustado para 50 mL. Os resultados compreenderam valores de 3,96 a 7,32 g GAE/100g (equivalente: 39,6 a 73,2 mg GAE/g) nas soluções de etanol, sendo que o maior valor correspondeu ao etanol na concentração 50% para as duas variedades de uvas. Para o solvente acetona, os resultados compreenderam valores de 1,32 a 7,95 g GAE/100g (equivalente: 13,2 a 79,5 mg GAE/g), sendo que a maior quantificação correspondeu a acetona na concentração de 50% estando esse valor muito próximo às quantificações da extração a 70% para as duas variedades. Em água os valores variaram de 1,48 a 1,50 g GAE/100g (equivalente: 14,8 a 15,0 mg GAE/g). Os resultados deste estudo também estão próximos aos encontrados em cascas de bagaços de uvas, quantificações de 12,10 a 53,60 g GAE/Kg (equivalentes a 12,10 e 53,60 mg GAE/g) (HARSHA *et al.*, 2013).

Rufino *et al.* (2010) realizaram análises em frutas cultivadas no Brasil, as quantificações em peso seco resultaram em: assai 3268 mg GAE/100g (32,68 mg GAE/g), acerola 10280 mg GAE/100g (10,28 mg GAE/g), bacuri 1365 mg GAE/100g (13,54 mg GAE/g), cajá 579 mg GAE/100g (5,79 mg GAE/g), caju 830 mg GAE/100g (8,30 mg GAE/g), camu-camu 11615 mg GAE/100g (116,15 mg GAE/g), carnaúba 830 mg GAE/100g (8,30 mg GAE/g), gurguri 1364 mg GAE/100g (13,64 mg GAE/g),

jaboticaba 3584 mg GAE/100g (35,84 mg GAE/g), jambolão 1117 mg GAE/100g (11,17 mg GAE/g), juçara 5672 mg GAE/100g (56,72 mg GAE/g), mangaba 935 mg GAE/100g (9,35 mg GAE/g), murici 2380 mg GAE/100g (23,80 mg GAE/g), murta 2055 mg GAE/100g (20,55 mg GAE/g), puçá-coroa-de-frade 1047 mg GAE/100g (10,47 mg GAE/g), puçá-preto 2638 mg GAE/100g (26,38 mg GAE/g), umbu 742 mg GAE/100g (7,42 mg GAE/g), uvaia 1930 mg GAE/100g (19,30mg GAE/g). Com exceção de camu-camu e juçara os resultados de Rufino *et al.* (2010) estão próximos aos encontrados por este estudo, tais valores demonstram que a quantidade dos compostos fenólicos encontrados nos extratos de BUS e BUV são consideravelmente altas.

É possível padronizar para estudos posteriores a utilização da temperatura de 60 °C durante um tempo de 15 minutos, para realizar a extração de compostos antioxidantes de BUS em acetona 80% e, 60 °C durante 45 minutos em acetona a 80%, para realizar extração em BUV.

Calculou-se a correlação entre as respostas do planejamento fatorial (Atividade Antioxidante e Compostos Fenólicos Totais) e obteve-se 94,69% de correlação entre as quantificações $p(<0,05)$. O gráfico da correlação pode ser visualizado na figura 24.

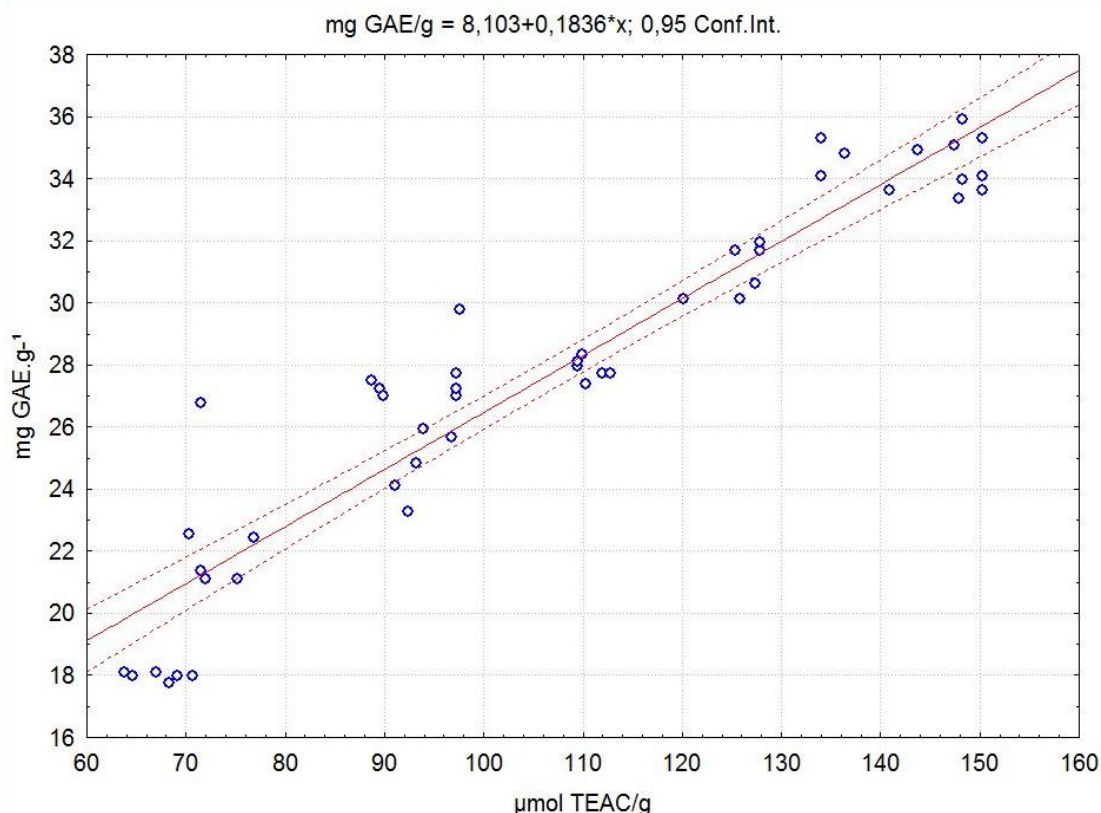


Figura 24. Correlação entre as variáveis dependentes do planejamento fatorial fracionário 2³⁻¹, Compostos Fenólicos Totais e Atividade Antioxidante DPPH•.

O coeficiente de determinação (R^2) entre as variáveis pode ser calculado através do quadrado do coeficiente de correlação, conforme equação 18.

Equação 18

$$R^2 = (\text{Coeficiente de Determinação})^2$$

O coeficiente de determinação desta correlação resultou em 0,8967. A correlação positiva entre as respostas fica fortemente evidenciada quando são observadas as melhores condições para as duas variáveis dependentes deste estudo. A correlação positiva para este estudo também demonstra que para este caso o aumento de compostos fenólicos totais infere em um aumento da atividade antioxidante dos extratos.

Karacabey e Mazza (2010) realizaram extração sólido-líquido através de metodologia de superfície de resposta para otimizar as condições de extração de compostos bioativos em amostras de bagaço de uvas (pedúnculos de bagaços de uvas), as variáveis independentes estudadas pelos autores foram: concentração de etanol, temperatura de extração e proporção entre o solvente e a amostra sólida,

sendo que a temperatura de extração (ótima 86 °C) e a concentração do etanol (40,4%) afetaram significativamente as variável dependente atividade antioxidante pelo método do radical cátion ABTS, onde $p (<0,01)$. Este estudo também demonstrou que tanto o tempo de extração dos compostos bioativos quanto a temperatura de extração interferem significativamente na atividade antioxidante dos extratos obtidos.

Muitos estudos ainda podem ser feitos utilizando-se a metodologia de superfície de resposta. Essa ferramenta é excelente quando temos como objetivo de ajustar um processo a uma necessidade.

5.3 ESTUDO DA BIOATIVIDADE DOS EXTRATOS DE BUS E BUV NAS SUAS MELHORES CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO

A partir das melhores condições de extração para BUS e BUV, determinadas pelo planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} , foram realizadas diferentes análises de atividade antioxidante *in-vitro* com a finalidade de obter uma caracterização mais completa da capacidade antioxidante desses extratos. As melhores condições obtidas pelas quantificações de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante, como mencionadas anteriormente, para BUS: extração em temperatura de 60 °C durante um tempo de 15 minutos, em acetona 80% e BUV, 60 °C durante 45 minutos em acetona a 80%, foram fixadas para análise de diferentes metodologias de atividade antioxidante. Para tanto, foi realizada análise de EC_{50} , demonstrando os resultados por probitos, capacidade sequestradora do radical cátion ABTS, poder redutor do ferro (FRAP) e percentual de inibição pelo método beta-caroteno/ácido linoleico, assim como teor de flavonoides e antocianinas totais.

5.3.1 Curva Cinética EC_{50} por Probitos dos extratos da melhor condição de extração de BUS e de BUV

Nas figuras 25 e 26 podem ser visualizadas as curvas cinéticas EC_{50} determinadas por probitos nas melhores condições de extração do BUS e do BUV, respectivamente.

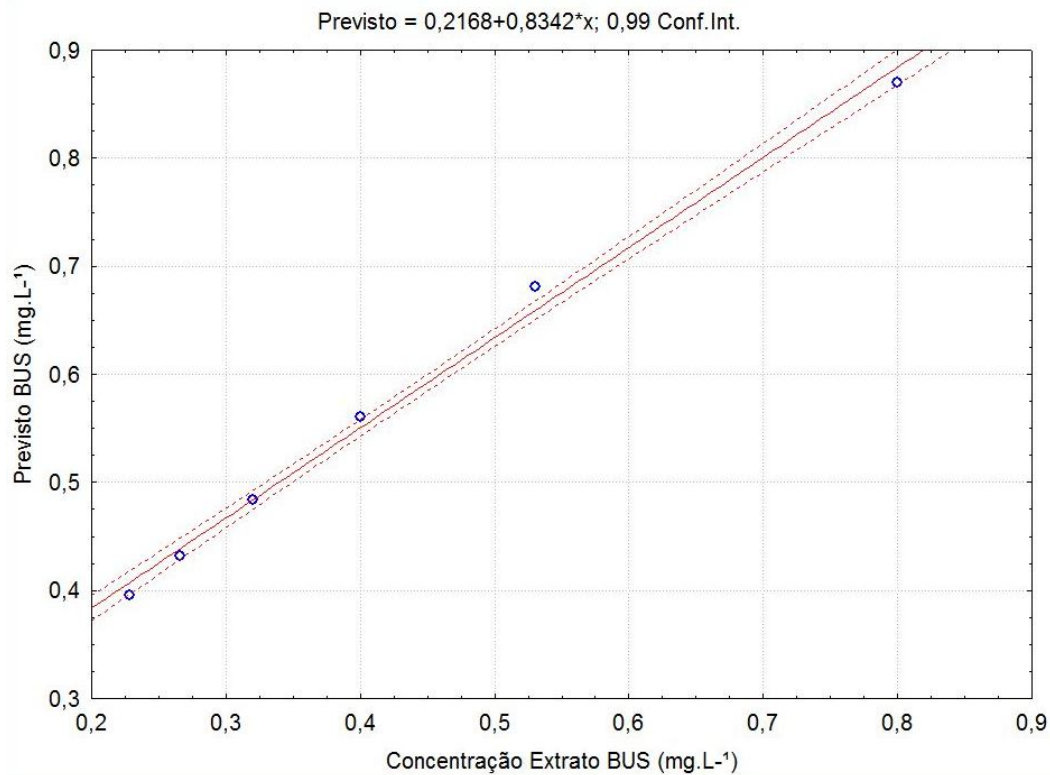


Figura 25. Curva cinética EC₅₀ BUS por probitos. R² 0,9939, p(<0,000000687x10⁻²²), 1% Intervalo de Confiança.

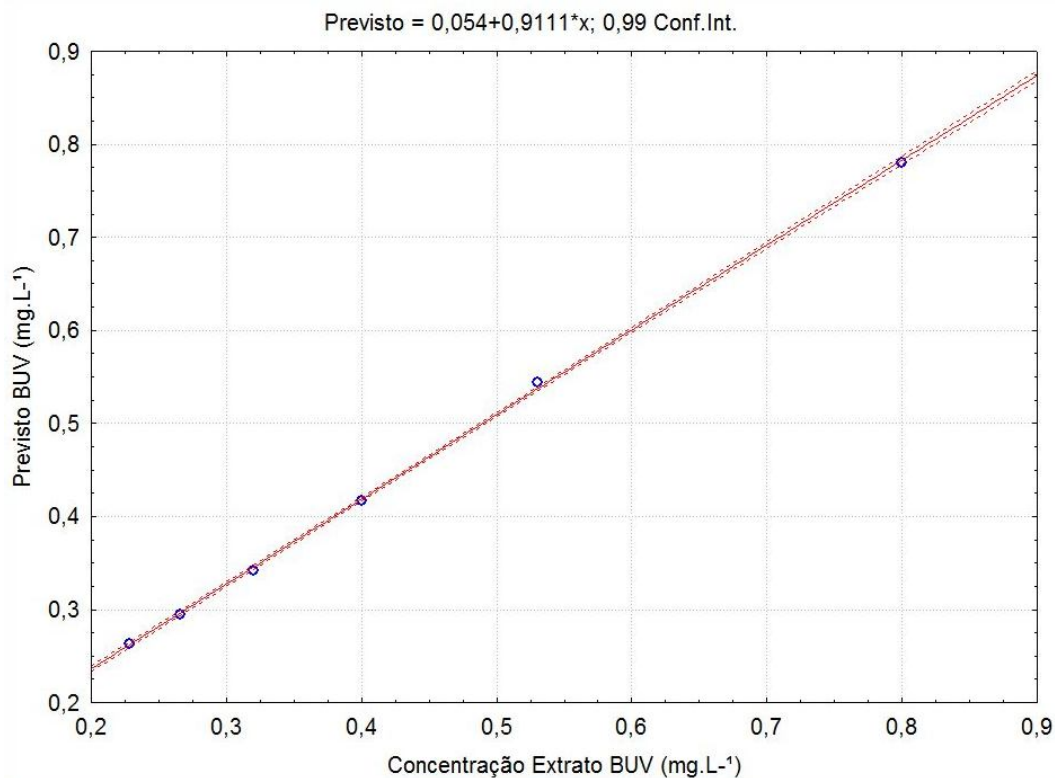


Figura 26. Curva cinética EC₅₀ BUV por probitos. R² 0,9996, p(<0,000000381x10⁻³¹), 1% Intervalo de Confiança.

Abaixo, segue a tabela 13, com os resultados de EC₅₀ por probitos, para as amostras das melhores condições de BUS e BUV, determinadas pelo planejamento fatorial fracionário 2⁴⁻¹. Os limites inferiores e superiores foram calculados com 99% de intervalo de confiança.

Tabela 13. Limites inferior e superior para EC50 por probitos para as amostras de BUS e BUV em suas melhores condições e para o antioxidante sintético ES.

Parâmetros	BUS (mg/mL)	BUV (mg/mL)	p-valor
EC ₅₀	0,340±0,01	0,490±0,01	<0,001

Significativo pelo teste t-Student p (<0,05).

O BUS (EC₅₀ 339 µg/mL) necessitou de uma menor concentração de extrato para reduzir a quantidade de DPPH• em 50% se comparado ao BUV (EC₅₀ 487 µg/mL). Sendo que para o teste t-Student houve diferença significativa p(<0,05) entre BUV e BUS. É importante verificar que o p-valor resultou em um número muito menor que 0,01 (Figuras 25 a 27), demonstrando um ajuste linear excelente.

Conforme Anastasiadi *et al.* (2012) seus extratos de sementes de uvas variaram de 7 a 20,4 µg/g de DPPH•, expressos em EC₅₀, entre as variedades de bagaços de uvas analisadas. O autor analisou sementes de seis variedades de uvas pesando 10 g da amostra seca em pó, suspendendo em 50 mL de metanol:água:ácido clorídrico (90:9,5:0,5 v/v) e sonicadas durante 10 minutos, filtrou-se e o sólido foi extraído por três vezes adicionais, sendo o solvente orgânico reevaporado sob vácuo e o restante redissolvido em 30 mL de metanol:água (1:1). Extraiu-se com éter de petróleo para remover os lipídeos, na sequência extraiu-se exaustivamente com acetato de etila e evaporou-se e redissolveu-se em metanol 1 mg/mL. Os resultados obtidos por Anastasiadi *et al.* (2012) foram superiores aos encontrados por este estudo, dado a sua forma de extração exaustiva e com solventes de diferentes polaridades.

Amico *et al.* (2008) analisaram amostras de bagaços de uvas das variedade Nerello mascalese, Nero d'avola e Cabernet sauvignon, oriundas do processamento de vinhos, liofilizadas e armazenadas em nitrogênio a -20°C. Seus resultados variaram de 9,90 a 30,70 µg/mL em etanol contendo 1% de HCL 1N. Os resultados de Amico *et al.* (2008) também foram superiores, dada a diferente forma de extração com acidificação do extrato, bem como variedades de uvas diferentes.

Melo (2010) quantificaram a captura de DPPH•, expressos em EC₅₀, em bagaços de uvas: Isabel (*Vitis labrusca*), Verdejo (*Vitis vinifera*) e bagaço de goiaba

(*Psidium guajava*). Extratos: 1 g de cada bagaço liofilizado e dissolvidos em 10 mL de etanol:água (80:20) e água, extração conduzida em ultrassom, na temperatura ambiente durante 15 minutos, seguido por centrifugação do extrato. Os resultados obtidos para os extratos em água variaram de 0,32 a 16,83 mg/mL (equivalente a 320 e 16830 µg/mL) nos bagaços de uvas e 7,84 mg/mL para o bagaço de goiaba (equivalente a 7840 µg/mL). Os extratos etanólicos 80% variaram de 0,20 a 10,43 mg/mL (equivalente a 200 e 10430 µg/mL) nos bagaços de uvas e 4,35 mg/mL para o bagaço de goiaba (equivalente a 4350 µg/mL). Os bagaços de uvas analisados por Melo (2010) possuem valor de EC₅₀, na faixa dos valores encontrados por este estudo, sendo as suas menores concentração necessárias para reduzir o DPPH• em 50% 200 e 320 µg/mL.

Bagaços de uvas prensados da variedade Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera*) oriundos do processamento do vinho foram secos a 40 ° C durante 24 h até 9,8 ± 0,1% de umidade e em sequência moídas em um liquidificador doméstico. O extrato foi preparado em diferentes solventes n-hexano, diclorometano, butanol e acetato de etila, e foram usados para fracionar os compostos solúveis, a partir de 100 g de amostra em 300 mL de etanol durante 5 dias e evaporado e em seguida foi particionado com os solventes acima citados, com 60 mL de cada solvente. Utilizando-se as amostras das partições, também foi realizado uma extração em soxhlet durante 6 h e também analisado. Seus resultados variaram de >250 a 108 µg/mL (CAMPOS *et al.*, 2008). Seus resultados corroboram com este estudo.

5.3.2 Resultados da análise de atividade antioxidante pelo método do ABTS^{•+} dos extratos da melhor condição de extração de BUS e de BUV

Os resultados da análise de atividade antioxidante pelo método ABTS^{•+} para a melhor condição de extração de BUS e de BUV, determinadas pelo planejamento fatorial fracionário 2⁴⁻¹ podem ser visualizados na tabela 14.

Tabela 14. Atividade antioxidante equivalente ao Trolox pelo método ABTS^{•+} dos extratos da melhor condição de extração de BUS e de BUV determinadas pelo planejamento fatorial fracionário 2⁴⁻¹

Amostras	Atividade Antioxidante ABTS ^{•+} (µmol TEAC.g ⁻¹)	p-valor
BUS	334,54 ± 27,23	<0,01
BUV	249,64 ± 21,27	

Significativo pelo teste t-Student p (<0,05). *TEAC: Capacidade antioxidante equivalente ao Trolox.

As amostras de BUS e BUV foram analisados estatisticamente pelo teste de t-Student p (<0,05), aonde houve diferenças significativas entre essas duas amostras quanto a sua atividade antioxidante equivalente ao Trolox pelo método ABTS^{•+}. Para motivo de comparação analisou-se o antioxidante sintético ES, o qual resultou em 4904,65 ± 447,81 µmol TAEC/g, sendo este um valor superior aos encontrados para BUS e BUV.

Os resultados expressos de atividade antioxidante são superiores aos encontrados por Cataneo *et al.* (2008), que analisaram em acetona 80%, a variedade Coudec 13 (42,69 a 98,92 µmol TAEC/g). No entanto, assemelham-se ao mesmo autor para a variedade Pinot Gris, em sua menor quantificação, em acetona 80% (347,88 a 463,56 µmol TEAC/g). Rockenbach *et al.* (2008) testaram a influência de solvente em bagaços de uvas, em acetona 70% quantificaram para variedade Ancelota 393,9 µmol TEAC/g e para Tannat 476,2 µmol TEAC/g, seus resultados são considerados próximos aos desse estudo. Karacabey e Mazza (2010) realizaram extração sólido-líquido através de metodologia de superfície de resposta para otimizar as condições de extração de compostos bioativos em amostras de bagaço de uvas (pedúnculos de bagaços de uvas) e obtiveram intervalos de 85,60 a 238,60 µmol TEAC/g, aonde seus maiores valores estão próximos aos encontrados por este estudo.

Rufino *et al.* (2010) realizaram análises em frutas cultivadas no Brasil, as quantificações em peso seco resultaram em: assai 64,50 µmol TEAC/g, acerola 953 µmol TEAC/g, bacuri 18,10 µmol TEAC/g, cajá 40,70 µmol TEAC/g, caju 79,4, camu-camu 1237 µmol TEAC/g, carnaúba 16,40 µmol TEAC/g, gurguri 136 µmol TEAC/g, jaboticaba 317 µmol TEAC/g, jambolão 125 µmol TEAC/g, juçara 606 µmol TEAC/g, mangaba 65,60 µmol TEAC/g, murici 412 µmol TEAC/g, murta 166 µmol TEAC/g, puçá-coroa-de-frade 346 µmol TEAC/g, puçá-preto 346 µmol TEAC/g, umbu 77 µmol TEAC/g, uvaia 182 µmol TEAC/g. Exceto juçara e murici, os demais resultados circundam os desse estudo. Através dos resultados das análises de Rufino *et al.* (2010) pode-se justificar que os bagaços de uvas analisados por este estudo possuem uma alta atividade antioxidante, já que BUS e BUV são excedentes de produção e ainda assim possuem atividade antioxidante próximas de frutos *in-natura*.

5.3.3 Resultados da análise de atividade antioxidante pelo método de FRAP dos extratos da melhor condição de extração de BUS e de BUV

Os resultados da análise de atividade antioxidante para dos extratos da melhor condição de extração de BUS e de BUV determinados pelo planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} , pelo método de redução do Fe^{3+} a Fe^{2+} , podem ser visualizados na tabela 15.

Tabela 15. Atividade antioxidante pelo método da redução do Fe dos extratos da melhor condição de extração de BUS e de BUV determinados pelo planejamento fatorial fracionário 2^{4-1}

Amostras	Atividade Antioxidante FRAP ($\mu\text{mol Fe}^{2+} \cdot \text{g}^{-1}$)	p-valor
BUS	$150,94 \pm 2,7$	<0,001
BUV	$110,73 \pm 0,67$	

Significativo pelo teste t-Student p (<0,05).

As amostras de BUS e BUV foram analisadas estatisticamente pelo teste de t-Student p (<0,05), aonde houve diferenças significativas entre essas duas amostras quanto a sua atividade antioxidante pelo método de redução do Fe^{3+} a Fe^{2+} . Para motivo de comparação analisou-se o antioxidante sintético ES, o qual resultou em $3038,57 \pm 238,70 \mu\text{mol TAEC/g}$, sendo este um valor superior aos encontrados para BUS e BUV.

Cascas de bagaços de uvas, oriundas de processos de vinificação, foram secas a $50 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 5 h e moídas, 100 mg de massa foram utilizadas para extração com 8 mL de uma solução metanol:água:HCl (80:20:0,1), durante 2 h com agitação contínua, passando pelo processo de centrifugação e re-extração com 6 mL do mesmo solvente, secou-se à vácuo e redissolveu-se o conteúdo em 10 mL da mesma solução. Tal processo resultou em valores de 103 a 511 $\text{mmol Fe}^{+2}/\text{Kg}$ (equivalente a 103 e 511 $\mu\text{mol Fe}^{2+} \cdot \text{g}^{-1}$) dentre as variedades analisadas (HARSHA *et al.*, 2013), sendo os menores resultados próximos aos encontrados por este estudo.

Rockenbach *et al.* (2011b) analisaram a atividade antioxidante de cascas e sementes de bagaços de uvas oriundos do processamento de vinhos de cultivares *Vitis labrusca* e *Vitis vinifera*. Seu extrato constitui-se de metanol:água:ácido acético (80:20:5) através de agitação mecânica em ausência de luz por 1 h a 4°C . Os resultados variaram entre 1454 e 3474 $\mu\text{mol Fe}^{2+} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ (equivalentes a 14,54 e 34,74 $\mu\text{mol Fe}^{2+} \cdot \text{g}^{-1}$) para a casca e entre 2942 e 21492 $\mu\text{mol Fe}^{2+} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$

(equivalentes a 29,42 e 214,92 $\mu\text{mol Fe}^2.\text{g}^{-1}$) para sementes, em peso seco. Os resultados das amostras de sementes corroboram com o presente estudo, já os resultados para casca de bagaços de uvas são inferiores aos determinados por este estudo.

Cascas e sementes de 18 cultivares de uvas foram liofilizadas separadamente, desengorduradas com éter de petróleo (1:10 – éter de petróleo:água) durante 3 h, filtradas (por duas vezes) e moídas. Para cascas, as quantificações foram de 112,89 a 312,04 $\mu\text{mol TEAC/g}$ e sementes 76,33 a 620,39 $\mu\text{mol TEAC/g}$ (XU *et al.*, 2010). A expressão em TEAC refere-se à construção de uma curva analítica de trolox e a partir dos traços linearizados de suas absorbâncias e concentrações relacionados emitir a equação da reta e a partir de então calcular resultados reais expressos com referência em Trolox equivalente. Da mesma forma é realizado com sulfato ferroso, quando as reações da curva de FRAP são realizadas com esse composto. Não há como comparar fielmente as duas expressões apesar de existir o mesmo princípio reacional. No entanto, os valores circundam os desse estudo e pode-se notar que Xu *et al.* demonstram ser maior o transporte de elétrons em sementes de bagaço de uvas se comparo a cascas.

Rufino *et al.* (2010) realizaram análises em frutas cultivadas no Brasil, as suas quantificações em peso seco resultaram em: assai 220 $\mu\text{mol Fe}^2.\text{g}^{-1}$, acerola (n.d – não detectado), bacuri 74,90 $\mu\text{mol Fe}^2.\text{g}^{-1}$, cajá 84,90 $\mu\text{mol Fe}^2.\text{g}^{-1}$, caju 44,60 $\mu\text{mol Fe}^2.\text{g}^{-1}$, camu-camu n.d, carnaúba 94,20 $\mu\text{mol Fe}^2.\text{g}^{-1}$, gurguri 97,50 $\mu\text{mol Fe}^2.\text{g}^{-1}$, jaboticaba 90,60 $\mu\text{mol Fe}^2.\text{g}^{-1}$, jambolão 88,40 $\mu\text{mol Fe}^2.\text{g}^{-1}$, juçara 96,10 $\mu\text{mol Fe}^2.\text{g}^{-1}$, mangaba 34,70 $\mu\text{mol Fe}^2.\text{g}^{-1}$, murici 61,50 $\mu\text{mol Fe}^2.\text{g}^{-1}$, murta 92,50 $\mu\text{mol Fe}^2.\text{g}^{-1}$, puçá-coroa-de-frade 95,90 $\mu\text{mol Fe}^2.\text{g}^{-1}$, puçá-preto 99,10 $\mu\text{mol Fe}^2.\text{g}^{-1}$, umbu 79,30 $\mu\text{mol Fe}^2.\text{g}^{-1}$, uvaia 63,70 $\mu\text{mol Fe}^2.\text{g}^{-1}$. Através dos resultados das análises de Rufino *et al.* (2010) pode-se justificar que também para a análise de atividade antioxidante de redução do ferro, os bagaços de uvas analisados por este estudo possuem uma atividade antioxidante expressiva, já que BUS e BUV são excedentes de produção e ainda assim possuem atividade antioxidante próximas de frutos *in-natura*.

5.3.4 Resultados da análise de Auto-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico dos extratos da melhor condição de extração de BUS e de BUV

Os resultados da análise de atividade antioxidante sistema β -Caroteno/Ácido Linoleico para BUS, BUV e ES, podem ser visualizados na tabela 16.

Tabela 16. Atividade antioxidante pelo sistema β -Caroteno/Ácido Linoleico dos extratos da melhor condição de extração de BUS e de BUV determinados pelo planejamento fatorial fracionário 2⁴⁻¹

Amostras	Atividade Antioxidante (%)	p-valor
BUS	73,32 \pm 4,56	0,333
BUV	68,09 \pm 6,88	

Concentração dos extratos de BUS e BUV: 0,8 mg/mL. Não diferem estatisticamente pelo teste de t-Student p(<0,05).

As amostras de BUS e BUV foram analisadas estatisticamente pelo teste de t-Student p (<0,05), aonde não houve diferenças significativas entre essas duas amostras entre as determinações de Autoxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico de BUS e BUV. Para motivo de comparação analisou-se o antioxidante sintético ES, o qual resultou em 71,37 \pm 4,12 % na concentração de 7 mg/mL, sendo este um valor inferior aos encontrados para BUS e BUV, pois o extrato possui maior concentração se comparado aos extratos de BUS e de BUV.

Melo (2010) quantificaram o teor de compostos fenólicos totais em bagaços de uvas: Isabel (*Vitis labrusca*), Verdejo (*Vitis vinifera*) e bagaço de goiaba (*Psidium guajava*). Extratos: 1 g de cada bagaço liofilizado e dissolvidos em 10 mL de etanol:água (80:20) e apenas em água, extração conduzida em ultrassom, na temperatura ambiente durante 15 minutos, seguido por centrifugação do extrato. Os resultados obtidos para os extratos em água variaram de 20,29 a 67,41% nos bagaços de uvas e 19,72% para o bagaço de goiaba. Os extratos etanólicos 80% variaram de 31,99 a 69,69% nos bagaços de uvas e 7,06% para o bagaço de goiaba. Melo (2010) analisou os extratos anteriormente descritos na concentração de 1:10 do extrato bruto, uma alíquota de 50 μ L (0,1 mg/L), menos concentrado que o deste estudo e uma alíquota 6 vezes menor. Para a mesma inibição de oxidação, os extratos de Melo (2010) foram mais diluídos, logo mais eficazes contra a inibição que os desse estudo.

Diferentes alíquotas dos extratos a 100 ppm (alíquotas de 50, 100 e 200 μ L) foram analisadas por Rockenbach *et al.* (2008). Estes autores testaram a influência

do solvente em bagaços de uvas para variedade Tannat e obtiveram 55,77% de inibição em etanol (200 µL); 24,29% em acetona (200 µL) e para Ancelota 53,29% (200 µL) em etanol; 29,62% (200 µL) em acetona. As quantificações desse autor foram realizadas a partir do extrato bruto e desta forma podem ser julgados seus resultados como abaixo dos encontrados por este estudo, por sua concentração ser maior, sendo que para o presente estudo foram pipetados 300 µL das amostras de BUS e BUV 1:100 do extrato bruto.

5.3.5 Resultados das análises de quantificação de flavonoides e antocianinas dos extratos da melhor condição de extração de BUS e de BUV

Os resultados das análises de flavonoides e antocianinas para BUS, BUV, podem ser visualizados na tabela 17.

Tabela 17. Flavonoides e Antocianinas dos extratos da melhor condição de extração de BUS e de BUV determinados pelo planejamento fatorial fracionário 2⁴⁻¹

Amostras	Flavonoides (g.100g ⁻¹)	p-valor	Antocianinas (g.100g ⁻¹)	p-valor
BUS	0,24 ± 0,007	<0,001	0,064 ± 0,002	<0,01
BUV	0,14 ± 0,003		0,078 ± 0,004	

Diferem estatisticamente entre si, pelo teste t-Student (p<0,05). Flavonoides expressos em Quercetina. Antocianinas expressas em Cianidina 3-glucosídeo.

Observaram-se diferença significativa pelo teste t-Student p (<0,05) entre as amostras BUV e BUS tanto para os teores de antocianinas quanto para os de flavonoides (Tabela 17).

Granato, Katayama e Castro (2010) encontraram resultados de 9,35 a 237,71 mg/L (equivalente a aproximadamente 0,001 a 0,024 g/100 mL) de antocianinas, em amostras de vinhos consumidos no Brasil. E resultados de 311,93 a 1794,91 mg de catequina/L (equivalente a aproximadamente 0,18 a 0,031 g/100 mL) de flavonoides.

Garrido *et al.* (2011) em suas extrações obtiveram valores de antocianinas para extrato 1 (extração metenólica combinada a pressão) 1783,50 mg/L expressos em malvidina-3-glucosídeo e para extrato 2 (extração metanólica) 816,06 mg/L expressos em malvidina-3-glucosídeo (equivalentes a 0,18 e 0,08 g/100mL).

Os resultados de Granato, Katayama e Castro (2010) e Garrido *et al.* (2011) são próximos aos quantificados por este estudo.

5.4 CARACTERIZAÇÃO DO PRODUTO CÁRNEO

5.4.1 Composição Centesimal das linguiças frescal de frango

A Figura 27 apresenta a imagem da aparência das linguiças frescal de frango elaboradas a partir das quatro diferentes formulações.

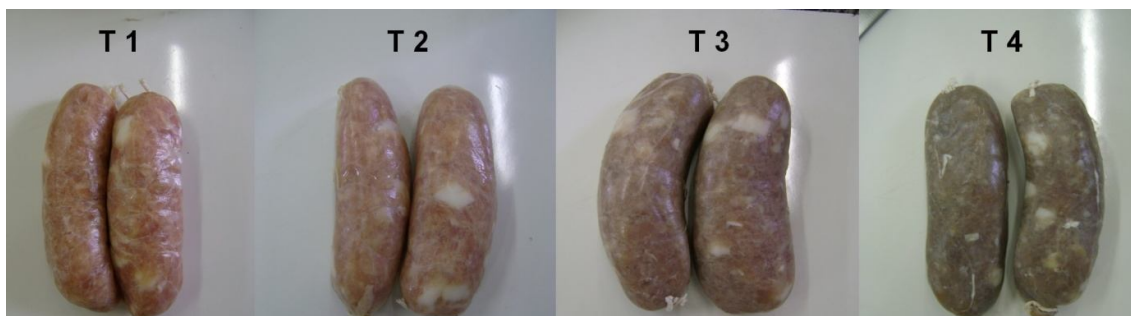


Figura 27. Imagem das linguiças frescal de carne de frango. T1: Linguiça frescal de frango sem antioxidantes - Amostra controle, T2: Linguiça frescal de frango contendo antioxidante sintético ES, T3: Linguiça frescal de frango contendo extrato de BUS na concentração de 2 mg.g⁻¹ de BUS e T4: Linguiça frescal de frango contendo extrato de BUS na concentração de 4 mg.g⁻¹: T4. Fonte: Da autora (2014).

Através da figura 27 é possível observar que a amostra T3 é levemente mais escura que as amostras T1 e T2. Observando a amostra T4 é possível notar que a mesma é muito mais escura que as demais. Isto se deve ao fato de que às formulações T3 e T4 foi adicionado extrato de BUS na melhor condição de extração definido pelo planejamento fatorial fracionário 2⁴⁻¹ após rota-evaporação dos solventes e liofilização. O extrato de BUS foi produzido através de bagaços de uvas da cultivar bordô, sendo essas uvas de extrema pigmentação.

A tabela 18 apresenta os resultados das análises de composição centesimal das linguiças frescal de frango elaboradas a partir das quatro diferentes formulações.

Tabela 18. Resultados das análises de composição centesimal das quatro formulações de linguiça fresca de carne de frango.

Análise (%)	T1	T2	T3	T4	Legislação Brasileira (%)
Cinzas	3,13±0,10 ^A	3,30±0,14 ^A	3,17±0,11 ^A	3,44±0,08 ^A	-
Extrato Etéreo	6,56±0,58 ^A	6,01±0,13 ^A	6,34±0,81 ^A	5,34±0,26 ^A	Máximo 30
Proteína Bruta	18,91±1,27 ^A	18,79±0,70 ^A	19,67±0,32 ^A	18,89±0,54 ^A	Mínimo 12
Umidade	69,47±1,05 ^A	70,57±0,05 ^A	69,61±0,50 ^A	67,17±0,56 ^A	Máximo 70

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). De acordo com a IN nº 04, de 31 de março de 2000 – MAPA. Aonde: T1: Amostra controle; T2: Amostra contendo antioxidante sintético; T3: Amostra contendo 2mg.g⁻¹ de BUS; T4: Amostra contendo 4mg.g⁻¹ de BUS.

Conforme a IN nº 04, de 31 de março de 2000 do MAPA e resultados da tabela 18, para as amostras T1, T2, T3 e T4, todos os parâmetros físico-químicos da legislação são atendidos. Sendo que não houve diferenças significativas entre as amostras dentro do mesmo parâmetro pelo teste de Tukey com 95% de intervalo de confiança.

5.4.2 Análise Microbiológica das Linguiças fresca de frango

A tabela 19 apresenta os resultados das análises microbiológicas das linguiças fresca de frango elaboradas a partir das quatro diferentes formulações.

Tabela 19. Resultados das análises microbiológicas das 4 formulações de linguiça fresca de carne de frango.

Parâmetros (UFC/g)	T1	T2	T3	T4	Legislação Brasileira (UFC)
Coliformes a 35°C	6,6 X 10 ¹	1,3 x 10 ²	8,6 X 10 ¹	< 10 ¹	-
Coliformes a 45°C	3,3 X 10 ¹	4,3 x 10 ¹	4,3 X 10 ¹	< 10 ¹	5 x 10 ³
Estafilococos coagulase (+)	<10 ¹	<10 ¹	<10 ¹	< 10 ¹	5 x 10 ³
Clostridium Sulfito Redutor	<10 ¹	<10 ¹	<10 ¹	10 ³	3 x 10 ³
Salmonella sp.	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência

UFC/g: Unidades Formadoras de Colônias por grama de amostra. De acordo com RDC nº12, de 2 de janeiro de 2001. Aonde: T1: Amostra controle; T2: Amostra contendo antioxidante sintético; T3: Amostra contendo 2mg.g⁻¹ de BUS; T4: Amostra contendo 4mg.g⁻¹ de BUS.

Conforme a Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, os resultados da tabela 19 demonstram que os produtos cárneos elaborados (T1, T2, T3 e T4) encontram-se dentro das especificações legais de identidade e qualidade alimentar. Sendo assim são próprios para o consumo.

5.5 AVALIAÇÃO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO DO PRODUTO CÁRNEO

5.5.1 Resultados das análises de cor

As amostras de linguiça de carne de frango foram analisadas através do teste de Tukey ($p < 0,05$) para as determinações de cor para todos os componentes. Foram analisadas quanto ao tempo de estocagem (linha) para cada tratamento individualmente e quanto aos tratamentos, um em relação ao outro, em cada tempo de estocagem (coluna) (tabela 20).

Tabela 20. Resultados das análises de cor das quatro formulações de linguiça frescal de carne de frango frescal, analisadas cruas, armazenadas por diferentes períodos de tempo a 4°C.

Tratamentos	Componente L*				
	0 dias	2 dias	4 dias	6 dias	8 dias
T1	62,94 ^{a,A}	61,10 ^{b,A}	63,43 ^{a,A}	62,88 ^{a,A}	63,32 ^{ab,A}
T2	65,13 ^{a,A}	64,04 ^{a,A}	62,49 ^{a,A}	64,20 ^{a,A}	63,92 ^{a,A}
T3	57,24 ^{b,B}	59,10 ^{b,AB}	60,31 ^{b,AB}	60,86 ^{ab,A}	60,90 ^{b,A}
T4	55,24 ^{b,A}	55,67 ^{c,A}	55,86 ^{b,A}	58,50 ^{b,A}	56,43 ^{c,A}
Tratamentos	Componente a*				
	0 dias	2 dias	4 dias	6 dias	8 dias
T1	10,59 ^{ab,A}	12,12 ^{a,A}	12,22 ^{a,A}	11,98 ^{ab,A}	12,47 ^{ab,A}
T2	10,95 ^{a,B}	12,03 ^{a,AB}	11,29 ^{ab,AB}	12,87 ^{a,AB}	12,87 ^{a,A}
T3	7,92 ^{bc,B}	8,24 ^{b,B}	9,51 ^{bc,AB}	10,64 ^{bc,A}	10,64 ^{bc,A}
T4	7,81 ^{c,B}	8,95 ^{b,AB}	8,93 ^{c,AB}	8,90 ^{c,A}	8,90 ^{c,AB}
Tratamentos	Componente b*				
	0 dias	2 dias	4 dias	6 dias	8 dias
T1	17,78 ^{a,A}	17,75 ^{a,A}	18,24 ^{a,A}	17,43 ^{a,A}	17,94 ^{a,A}
T2	17,66 ^{a,A}	18,46 ^{a,A}	17,32 ^{ab,A}	17,40 ^{a,A}	18,37 ^{a,A}
T3	13,35 ^{b,C}	13,68 ^{b,BC}	14,90 ^{bc,AB}	15,76 ^{ab,A}	15,34 ^{b,A}
T4	12,54 ^{b,A}	12,56 ^{b,A}	13,24 ^{c,A}	14,13 ^{b,A}	13,18 ^{c,A}
Tratamentos	Componente ΔE				
	0 dias	2 dias	4 dias	6 dias	8 dias
T1	40,14 ^{b,A}	41,98 ^{ab,A}	40,40 ^{a,A}	39,18 ^{ab,A}	40,32 ^{b,A}
T2	38,38 ^{ab,A}	40,05 ^{b,A}	40,52 ^{a,A}	40,40 ^{b,A}	40,45 ^{b,A}
T3	42,17 ^{ab,A}	40,72 ^{b,A}	40,53 ^{a,A}	40,68 ^{ab,A}	40,51 ^{b,A}
T4	43,71 ^{a,A}	43,46 ^{a,A}	43,64 ^{a,A}	42,00 ^{a,A}	43,12 ^{a,A}
Tratamentos	Componente C*				
	0 dias	2 dias	4 dias	6 dias	8 dias
T1	20,77 ^{a,A}	21,54 ^{a,A}	21,97 ^{a,A}	21,16 ^{a,A}	21,68 ^{a,A}
T2	20,79 ^{a,A}	22,04 ^{a,A}	20,70 ^{ab,A}	20,84 ^{a,A}	22,43 ^{a,A}
T3	15,52 ^{b,C}	15,98 ^{b,BC}	17,68 ^{bc,AB}	18,90 ^{ab,A}	18,68 ^{b,A}
T4	14,80 ^{b,A}	15,43 ^{b,A}	17,66 ^{b,A}	17,66 ^{b,A}	15,91 ^{c,A}

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). NS: Aonde: T1: Amostra controle; T2: Amostra contendo antioxidante sintético; T3: Amostra contendo 2mg.g⁻¹ de BUS; T4: Amostra contendo 4mg.g⁻¹ de BUS.

As amostras dos tratamentos T3 e T4 apresentaram-se mais escuras, tendo um valor de L^* (luminosidade) menor em relação aos demais tratamentos. Como mencionado anteriormente, as amostras T3 e T4 foram formuladas com 2mg.g^{-1} e 4mg.g^{-1} respectivamente, de extrato liofilizado de BUS. Sendo que a alta pigmentação é uma característica natural da uva bordô, a qual compõe o BUS. Tais fatos podem ser observados na figura 27.

As amostras controle e sintético apresentaram maiores valores para o componente vermelho-verde (a^{*+}), sendo que a^* (positivo) remete ao vermelho, amarelo-azul (b^{*+}), sendo que b^* (positivo) remete ao amarelo, e para Chroma (C^*). Logo, controle e sintético por apresentarem maior saturação (C^*) tendem a uma coloração vermelho mais intenso se comparados a T3 e T4, os quais apresentaram saturação menor apresentando-se mais escuras que T1 e T2, resultando em coloração de vermelho menos intensa.

Para diferença de cor (ΔE) em relação ao padrão de cor branca, T4 apresentou a maior diferença em relação as demais amostras, tal fato corrobora com valores maiores de L^* para T1 e T2 em relação a T3 e T4.

A cor manteve-se estável com o passar do período do tempo de armazenamento para todos os tratamentos para a diferença de cor em relação ao padrão branco (ΔE). Para a amostra T1 não houve diferença significativa demonstrada pela análise estatística de Tukey $p(<0,05)$ entre os componentes de cor analisados. Para as amostras T2 e T4 houve diferença significativa demonstrada pela análise estatística de Tukey $p(<0,05)$ apenas para o componente a^* , demonstrando variações da intensidade da cor vermelha entre os tempos de armazenamento. Para a amostra T3 houve diferença significativa demonstrada pela análise estatística de Tukey $p(<0,05)$ em todos os componentes analisados exceto para ΔE , demonstrando instabilidade da cor para a amostra contendo 2mg.g^{-1} de BUS liofilizado.

A média geral do componente H (Hue) resultou em $56,59 \pm 2,89$ e não houve diferença significativa entre o tempo de armazenamento e nem entre os tratamentos.

Para melhor interpretação das análises de cor, foi realizada uma análise multivariada. A Figura 28 demonstra a análise dos componentes principais (ACP) para a análise de cor das quatro formulações de linguiça frescal de carne de frango.

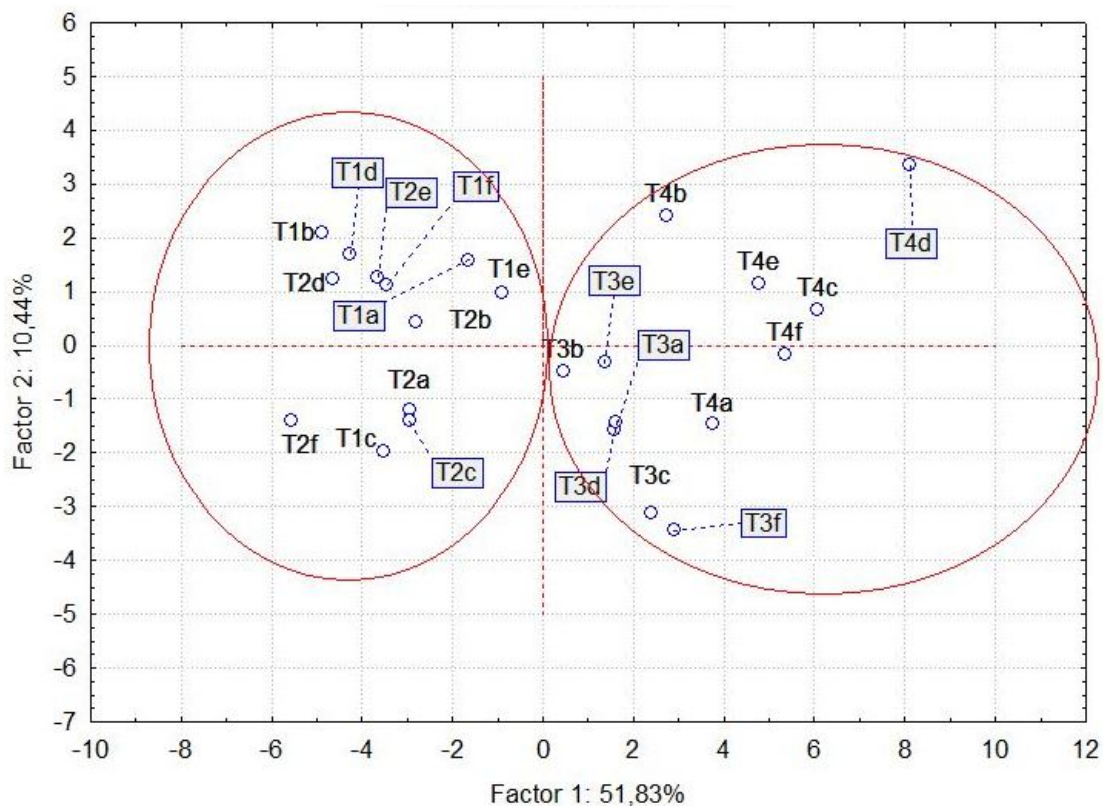


Figura 28. Análise dos componentes principais (ACP) das análises de cor das quatro formulações de linguiça fresca de carne de frango. Aonde: T1a ao T1f – Amostra Controle; T2a ao T2f – Amostras Contendo ES; T3a ao T3f – Amostras Contendo 2mg.g^{-1} de BUS; T4a ao T4f – Amostras Contendo 4mg.g^{-1} de BUS (Determinações dos parâmetros a^* , b^* , L^* , C^* , H e ΔE).

Para este estudo, de acordo com a análise multivariada, houve a separação de dois grandes grupos (figura 29), como pode ser observado. Os quadrantes 1 e 4 contém amostras de linguiças de carne de frango contendo antioxidantes naturais de BUS, a 2mg.g^{-1} e a 4mg.g^{-1} (T3 e T4). Já nos quadrantes 2 e 3 encontram-se as amostras contendo antioxidante sintético e amostras controle (T2 e T1).

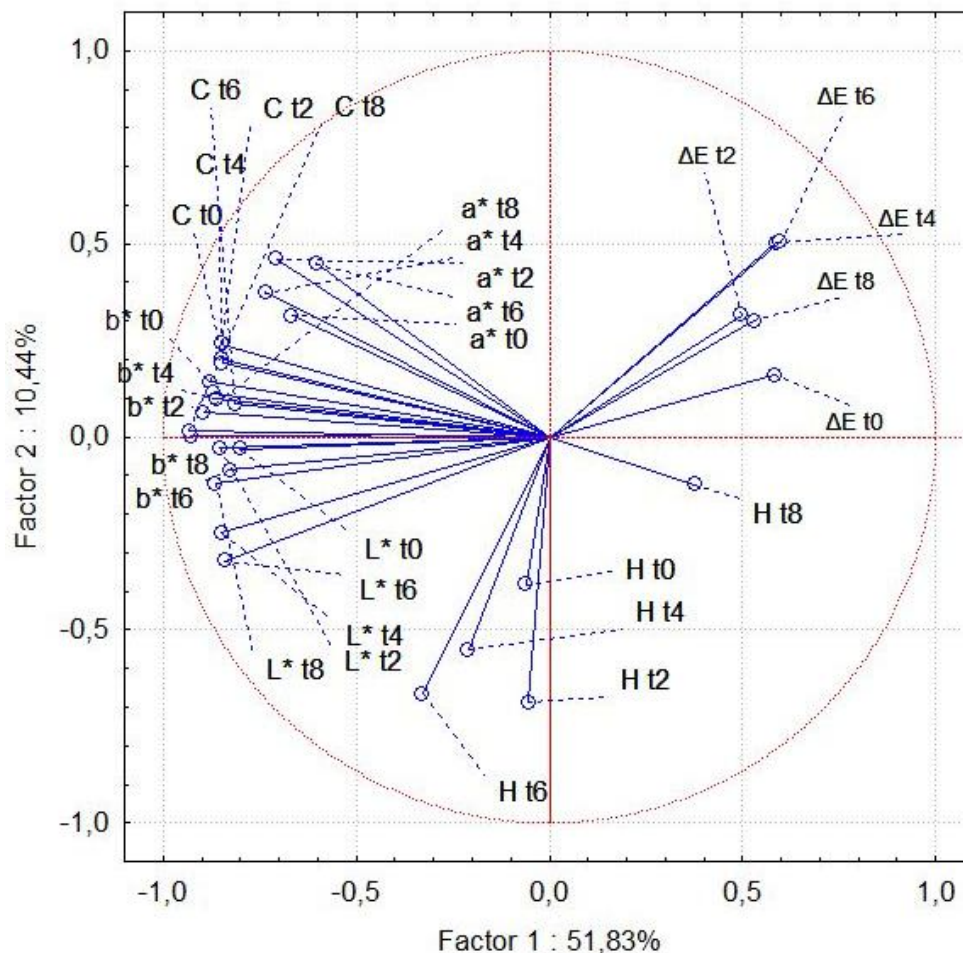


Figura 29. Análise dos componentes principais (ACP) das análises de cor dos quatro tratamentos de linguiça fresca de carne de frango. Descritores que separaram as amostras nos tempos de estocagem 0, 2, 4, 6 e 8 dias de armazenamento a 4 °C. Aonde: a* (luminosidade), b* (vermelho-verde), L* (amarelo-azul), C* (Chroma), H (Hue) e ΔE (Diferença do padrão branco).

Na Figura 29 podem ser observados os descritores da separação demonstrados pela Figura 28. Ou seja, os fatores que levaram a separação dos dois grandes grupos. O grupo dos antioxidantes naturais de BUV, pertencentes aos quadrantes 1 e 4 são descritos pelos componentes ΔE e H, tendo essas amostras maiores diferenças se comparadas ao padrão branco. Os descritores para o grupo dos quadrantes 2 e 3 são a*, b*, L* e C*, como já descrito anteriormente, elas possuem maiores valores para o componente vermelho-verde (a⁺), sendo que a^{*} (positivo) remete ao vermelho, amarelo-azul (b⁺), sendo que b^{*} (positivo) remete ao amarelo, e para Chroma (C^{*}).

Logo, controle e sintético tenderam a uma coloração vermelho mais intenso e mais claras quando comparados a T3 e T4, estas por sua vez, apresentaram

menores valores de L^* , resultando em linguças de coloração mais escura, conseqüentemente com maiores diferenças quando comparadas ao padrão de cor branca, promovendo um aumento do parâmetro ΔE .

Garrido *et al.* (2011) formularam hambúrgueres de carne suína adicionados de bagaços de uvas, em duas formas de extrações diferentes, GPI (extração metanólica combinada com pressão) GPII (Extração metanólica). Por fim os extratos foram rotaevaporados e obtidas amostras secas. A formulação levou 0,06% de GPI e de GPII, em formulações distintas. As amostras de hambúrgueres foram estocadas a 4°C e analisadas nos dias 0, 3 e 6, cruas. Os valores de cor, para o componente L^* , variaram de 40,53 a 43,56 para GPI, e de 43,47 a 45,07 para GPII. Para o componente a^* , variaram de 9,53 a 13,22 para GPI, e de 9,66 a 17,29 para GPII. Para o componente b^* , variaram de 2,91 a 5,62 GPI, e de 5,66 a 7,27 para GPII. Estando próximos aos resultados deste trabalho os valores de a^* . Encontraram-se abaixo os valores de b^* e acima os valores de L^* , embora positivos como os valores deste estudo.

Selani *et al.* (2011) realizaram adição de cascas e sementes de bagaços de uvas Niágara (BUN) e Isabel (BUI) a 60mg/Kg de carne de frango, sendo que essa concentração conforme o autor foi baseada no conteúdo total de polifenóis. As amostras foram armazenadas a -18°C e analisadas nos durante 9 meses. A carne crua foi analisada quanto ao componente L^* , e variou de 66,31 a 66,93 para BUI, e de 67,09 a 67,28 para BUN. O componente a^* , variou de 4,30 a 4,65 para BUI, e de 4,63 a 4,80 para BUN. O componente b^* variou de 13,33 a 13,74 para BUI, e de 14,11 a 14,23 para BUN. Estando próximos aos encontrados por este estudo os valores de L^* e b^* . E desta forma, pode se afirmar que as amostras do autor supracitado apresentaram-se vermelhas mais escuras do que as amostras deste estudo, pois o referido autor obteve menores valores de a^* .

Peitos, coxas e sobre-coxas de frango (1:1), sem osso e sem pelo, foram moídas e adicionados de extratos de sementes de bagaços de uvas a 0,1%. As amostras foram armazenadas a 4°C e analisadas nos tempos 0, 4, 8 e 12 dias de armazenamento. As amostras analisadas cruas, apresentaram para o componente L^* , valores de 77,40 a 79,00. Para o componente a^* , 3,10 a 4,20. Para o componente b^* , de 8,10 a 9,80 (BRANNAN, 2009). Estando próximos aos encontrados por este estudo os valores de L^* e b^* . As amostras de Brannan (2009) também apresentaram-se mais escuras que a do presente estudo.

5.5.3 pH

Na tabela 21 estão descritos os resultados da análise de pH das amostras das quatro formulações de linguiça fresca de carne de frango.

Tabela 21. Resultados das análises de pH das amostras das quatro formulações de linguiça fresca de carne de frango, cruas, durante 8 dias de estocagem a 4°C.

Amostras	0 dias	2 dias	4 dias	6 dias	8 dias
T1	6,64±0,07 ^{a, A}	6,54±0,01 ^{b, AB}	6,39±0,01 ^{b, BC}	6,31±0,03 ^{a, C}	6,20±0,06 ^{a, C}
T2	6,71±0,03 ^{a, A}	6,59±0,01 ^{a, B}	6,49±0,01 ^{a, B}	6,33±0,05 ^{a, C}	6,30±0,02 ^{a, C}
T3	6,62±0,01 ^{a, B}	6,53±0,01 ^{b, B}	6,16±0,01 ^{c, C}	6,05±0,01 ^{ab, D}	5,99±0,03 ^{b, D}
T4	6,61±0,01 ^{a, A}	6,55±0,01 ^{b, A}	6,10±0,01 ^{d, B}	6,03±0,01 ^{b, B}	6,05±0,01 ^{b, B}

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Aonde T0 a T8: Tempo 0 ao Tempo 8, de armazenamento a 4°C. T1: Amostra controle; T2: Amostra contendo antioxidante sintético; T3: Amostra contendo 2mg.g⁻¹ de BUS; T4: Amostra contendo 4mg.g⁻¹ de BUS.

Os resultados de pH das amostras das quatro formulações de linguiça de carne de frango, foram analisadas estatisticamente quanto ao teste de Tukey ($p < 0,05$). Foram analisadas quanto ao tempo de estocagem (linha) para cada tratamento individualmente e quanto aos tratamentos, um em relação ao outro, em cada tempo de estocagem (coluna). Quanto ao tempo de estocagem, todos os tempos obtiveram diferenças significativas, para todas as formulações. Quanto às formulações entre si, em cada tempo de estocagem, apenas em zero dias de armazenamento a 4°C, não houve diferença significativa.

O pH decresceu para todos os tratamentos em função do tempo variando de 6,74 a 5,99 entre os tratamentos e tempos de estocagem. O decréscimo do pH *pós-mortem* do músculo é um fenômeno natural que ocorre devido ao término de glicogênio pela interrupção da corrente sanguínea (LAWRIE, 2005).

Em 2 dias de armazenamento T2 diferiu significativamente de T1, T3 e T4, sendo T2 a amostra que obteve menor queda de pH do tempo 0 para o tempo 2 de armazenamento. Em 4 dias de armazenamento todos os tratamentos diferiram entre si. No 6º dia de armazenamento, T1, T2 e T3 não diferiram entre si e T4 diferiu de T1 e T2. Ao 8º dia de armazenamento, T1 e T2, diferiram de T3 e T4, sendo que T3 e T4 obtiveram os menores valores de pH, demonstrando que os extratos influenciam na queda do pH.

Garrido *et al.* (2011) formularam hambúrgueres de carne suína adicionados de bagaços de uvas, em duas formas de extrações diferentes, GPI (extração

metanólica combinada com pressão) GPII (Extração metanólica). Por fim os extratos foram rotaevaporados e obtidas amostras secas. A formulação levou 0,06% de GPI e de GPII, em formulações separadas. As amostras de hambúrgueres foram estocadas a 4°C e analisada nos dias 0, 3 e 6, cruas. Os valores de pH variaram de 5,41 a 5,47 para GPI. E, de 5,52 a 5,56 para GPII. Embora próximos a este estudo, os resultados do autor sofreram menor variação com o tempo de estocagem.

Selani *et al.* (2011) realizaram adição de pele e sementes de bagaços de uvas Niágara (BUN) e Isabel (BUI) a 60mg/Kg de carne de frango, sendo que essa concentração conforme o autor foi baseada no conteúdo total de polifenóis. As amostras foram armazenadas a -18°C e analisadas nos durante 9 meses. A média de valores de pH para as amostras cruas analisada foi de 6,32 e não houve diferença significativa $p(<0,05)$ entre os resultados pelo tempo de armazenamento.

Peitos, coxas e sobre-coxas de frango (1:1), sem osso e sem pele, foram moídas e adicionados de extratos de sementes de bagaços de uvas a 0,1%. As amostras foram armazenadas a 4°C e analisadas nos tempos 0, 4, 8 e 12 dias de armazenamento. O pH médio foi de 6,22 e não houve diferença significativa $p(<0,05)$ para amostras refrigeradas (BRANNAN, 2009).

Os valores de pH de Selani *et al.* (2011) e Brannan (2009) encontra-se próximos aos encontrados por este estudo.

5.5.3 TBARS

Os resultados das análises de TBARS, para as quatro formulações de produtos cárneos, podem ser visualizadas na tabela 22.

Tabela 22. Resultados das análises de TBARS das quatro formulações de linguiça fresca de frango em relação ao tempo de armazenamento das amostras cruas, estocadas a 4°C.

Tempo de armazenamento (dias)	TBARS (mg MDA.Kg ⁻¹ amostra)			
	T1	T2	T3	T4
0	0,582±0,06 ^{a, A}	0,607±0,14 ^{bc, A}	0,792±0,07 ^{b, A}	0,328±0,08 ^{a, B}
2	0,764±0,10 ^{a, A}	0,619±0,06 ^{bc, A}	0,768±0,12 ^{b, A}	0,337±0,08 ^{a, B}
4	0,789±0,05 ^{a, B}	0,494±0,02 ^{c, A}	0,255±0,13 ^{a, A}	0,450±0,16 ^{a, A}
6	1,138±0,04 ^{b, A}	0,708±0,02 ^{b, B}	0,576±0,02 ^{b, C}	0,217±0,04 ^{a, D}
8	1,606±0,24 ^{b, A}	1,601±0,06 ^{a, A}	0,726±0,10 ^{b, B}	0,437±0,17 ^{a, B}

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). T1: Amostra controle; T2: Amostra contendo antioxidante sintético; T3: Amostra contendo 2mg.g⁻¹ de BUS; T4: Amostra contendo 4mg.g⁻¹ de BUS.

As amostras de linguiça de carne de frango foram analisadas estatisticamente para resultados de TBARS através do teste de Tukey ($p < 0,05$), quanto ao seus tempos de estocagem referente a mesma amostra (coluna) e quanto ao tipo de amostra (linha) no mesmo tempo de estocagem. No tempo 0 e 2 dias de estocagem, T1, T2 e T3, diferiram significativamente de T4, sendo a inibição do extrato liofilizado a 4mg.g⁻¹ (T4) a maior inibição entre as demais amostras analisadas. No tempo de 4 dias de estocagem, T1 diferiu significativamente das demais amostras analisadas, sendo T1 a menor inibição de formação de ranço, se comparado as demais amostras. No tempo de 6 dias de estocagem, todos os tratamentos diferiram entre si, sendo a menor inibição a da amostra controle (T1), seguida por amostra contendo antioxidante sintético (T2), amostra contendo extrato liofilizado 2mg.g⁻¹ (T3) e amostra contendo extrato liofilizado 4mg.g⁻¹ (T4). E, no tempo de 8 dias de estocagem, T1 e T2 diferiram de T3 e T4, sendo que as suas inibições de ranço foram maiores em relação a T1 e T2.

Ao observarmos as amostras de forma pontual e correlacionarmos com o tempo de armazenamento, podemos observar que para a amostra controle (T1) os tempos 6 e 8 dias, diferiram dos tempos 0, 2 e 4 dias, sendo que houve maior inibição em 0, 2 e 4 dias de armazenamento. Em T2 A maior inibição deu-se no 4° dia de armazenamento, sendo que esta não diferiu significativamente dos dias 0 e 2

de armazenamento. Em T3 a maior inibição deu-se no 4º dia de armazenamento e diferiu significativamente dos demais dias. Em T4 a inibição do ranço manteve-se estável com o passar do tempo de armazenamento.

Quando analisamos a inibição oxidativa da linguiça de frango pelo método de TBARS verificou-se que após 8 dias de armazenamento a 4°C o tratamento contendo antioxidante sintético (ES) conseguiu inibir a formação de malonaldeído em 0,31%, enquanto que os tratamentos contendo 2 e 4 mg.g⁻¹ de extrato liofilizado de bagaço de suco de uva inibiram 55% e 73% respectivamente.

Sáyago-Ayerdi, Brenes e Goñi (2009), formularam hambúrgueres de carne de frango adicionados de bagaço de uvas vermelha (*Vitis vinífera*) liofilizadas, nas proporções de 1% e 2% e amostra controle. As amostras foram analisadas nos dias 0, 3, 5 e 13 dias de armazenamento a 4°C. O valor de TBARS para as amostras cruas foram de 0,84 (amostra controle), 0,89 (1%) e 1,09 (2%) mg de malonaldeído/Kg, no dia 0. No 3º dia de armazenamento: 0,99; 1,01 e 1,16, respectivamente. No 5º dia: 1,15; 0,92 e 1,18, respectivamente. E, no 13º dia: 2,05; 1,30 e 1,42, respectivamente. Frente a esses valores de TBARS, pode-se se dizer que as amostras dos autores supracitados se comportaram de forma semelhante as desse estudo, aonde houve maior inibição da formação de ranço quando utilizado bagaço de uvas na formulação em relação ao controle. Os valores de TBARS também foram semelhantes. No entanto, o presente estudo utilizou proporções menores de extrato liofilizado se comparado a Sáyago-Ayerdi, Brenes e Goñi (2009).

Garrido *et al.* (2011) formularam hambúrgueres de carne suína adicionados de bagaços de uvas, em duas formas de extrações diferentes, GPI (extração metanólica combinada com pressão) GPII (Extração metanólica). Por fim os extratos foram rotaevaporados e obtidas amostras secas. A formulação levou 0,06% de GPI e de GPII, em formulações separadas. As amostras de hambúrgueres foram estocadas a 4°C e analisada nos dias 0, 3 e 6, cruas. Os valores de TBARS, para GPI, variaram de 0,43 a 1,22 mg malonaldeído/Kg de amostra. E, de 0,78 a 2,92 mg malonaldeído/Kg de amostra para GPII. Sendo que o controle variou de 1,07 a 7,18 malonaldeído/Kg de amostra. Amostras de produtos cárneos a base de carne suína tendem a resultar em maiores números de TBARS. Caso seja observado o valor de TBARS do controle e o comparar com o valor de TBARS do controle deste estudo isso fica evidente. A carne suína possui maiores percentuais

de lipídeos que a carne de frango. As inibições das amostras com bagaços de uvas resultam em valores próximos aos desse estudo.

Selani *et al.* (2011) realizaram adição de cascas e sementes de bagaços de uvas Niágara (BUN) e Isabel (BUI) a 60mg.Kg^{-1} de carne de frango, sendo que essa concentração conforme o autor foi baseada no conteúdo total de polifenóis. As amostras foram armazenadas a -18°C e analisadas nos durante 9 meses. O valor de TBARS foi analisado em amostras cruas. Variaram de 0,12 a 0,81 mg MDA.Kg^{-1} de amostra para BUI, e de 0,10 a 0,81 mg MDA.Kg^{-1} de amostra para BUN. O controle variou de 0,24 a 1,29 mg MDA.Kg^{-1} de amostra. O BHT variou de 0,10 a 0,21 mg MDA.Kg^{-1} de amostra. Caso compararmos Selani *et al.* (2011) e este estudo, é possível observar que o armazenamento em temperaturas baixas, de congelamento, interferem no valor de TBARS, mantendo-o com maior estabilidade.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Para ambas variáveis dependentes do planejamento fatorial (Atividade antioxidante DPPH• e Compostos Fenólicos Totais), a 99% de IC, foram significativos, em ordem de maior significância, solvente, bagaço utilizado e temperatura. O tempo foi significativo apenas para Atividade Antioxidante DPPH•;
- A melhor condição de extração para a resposta atividade antioxidante pode ser determinada pelo uso do solvente acetona 80%, utilizando o BUS como matéria prima de extração, a 60 °C durante 15 minutos, sendo a mesma condição para a variável dependente compostos fenólicos totais, no entanto para essa variável dependente o tempo não influenciou na resposta;
- Houve uma alta correlação entre as variáveis dependentes do planejamento fatorial de extração (94,69%) $p(<0,05)$;
- As quantificações de atividade antioxidante, das melhores condições de BUS e BUV, pelos métodos de FRAP, DPPH, ABTS e Beta-caroteno são valores expressivos em relação aos contidos na literatura; De uma maneira geral destaca-se que os valores médios para as atividades antioxidantes pelos métodos ABTS^{•+}, FRAP e Beta-caroteno sempre foram maiores para o BUS.
- A atividade antioxidante pelo método ABTS^{•+} para o BUS foi 34% superior ($p<0,05$) em relação ao BUV. Pelo método FRAP para o BUS foi 36,3% ($p<0,05$) superior ao do BUV, mantendo-se praticamente a mesma proporção de aumento entre as amostras. Já pelo método do beta-caroteno para o BUS foi levemente superior (7,68%) em relação ao BUV;
- O BUS necessitou de uma menor concentração de extrato para reduzir a quantidade de DPPH• em 50% se comparado ao BUV;
- Houve a separação de dois grandes grupos para as análises de cor das linguiças de carne de frango. Sendo: grupo das amostras de linguiças de carne de frango contendo antioxidantes naturais de BUS, a $2\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ e a $4\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ e grupo das amostras contendo antioxidante sintético e amostras controle. As amostras contendo os extratos naturais liofilizados apresentaram-se mais escuras que as demais devido a pigmentação natural da uva bordô;
- O pH sofreu influência da adição dos extratos, sendo que houve variações significativas do pH nas amostras T3 e T4;

- O extrato liofilizado de bagaço oriundo da produção de suco de uvas tem efetivo potencial antioxidante, podendo ser aplicado em linguiças frescas de frango como substituintes aos antioxidantes sintéticos.

7 REFERÊNCIAS

ABE, Lucile T.; DA MOTA, Renata V.; LAJOLO, Franco Maria; GENOVESE, Maria I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.27, n.2, p.393-400, 2007.

ABROS, Kettelin A.; FREITAS, Renato J. S. de.; STERTZ, Sônia C.; DORNAS, Marlos F. Atividade antioxidante e teor de fenólicos totais em hortaliças orgânicas e convencionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.30, n.2, p.501-506, 2010.

AHN, Mok-Ryeon; KUMAZAWA, Shigenori; HAMASAKA, Tomoko; BANG, Keuk-Seung.; NAKAYAMA, Tsutomu. Antioxidant Activity and constituents of propolis collected in various areas of Korea. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 7286-7292, 2004.

AMICO, V.; CHILLEMI, S.; MANGIAFICO, C.; SPATAFORA, C.; TRINGALI, C. Polyphenol-enriched fractions from Sicilian grape pomace. **Bioresource Technology**. v.99, p.5960-5966, 2008.

ANASTASIADI, Maria; PRATSINIS, Harris; KLETSAS, Dimitris; SKALTSOUNIS, Alexios-Leandros; HAROUTOUNIAN, Serkos A. Grape stem extracts: Polyphenolic content an assessment of their in vitro antioxidant properties. **Food Science Technology**. v.48, p.316-322, 2012.

AOAC. Association of Official Analytical Chemist International. Total monomeric anthocyanin pigment contento f fruit juices, beverages, natural colorants, and wines. pH differential method. **Official Method 2005.02**. 2005.

ARAÚJO, Julio M. A. **Química de Alimentos**. 2 Ed. Editora: UFV, 2008, 416p.

AYED, N.; YU, H.L.; LACROIX, M. Using gamma irradiation for the recovery of anthocyanins from grape pomace. **Radiation Physics and Chemistry**. v.57, p.277-279, 2000.

BAGCHI, D.; BAGCHI, M.; STOHS, S.J.; DAS, D.K.; RAY, S.D.; KUSZYNSKI, C.A.; JOSHI, S.S.; PRUESS, H.G. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance inhuman health and disease prevention. **Toxicology**. v.148, p.187-197, 2000.

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

BRANNAN, R.G. Effect of grape seed extract on descriptive sensory analysis of ground chicken during refrigerated storage. **Meat Science**. v.81, p.589-595, 2009.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel Wissenschaft Und-technologie**, v.28, p.25-30, 1995.

BANNAWART, Gisele Cristina M. C.; TOLEDO, Maria Cecília F. Aspectos toxicológicos dos antioxidantes BHA, BHT e TBHQ. **Boletim do SBCTA**. v.33, p.245-255, 1999.

BOBBIO, Florinda O.; BOBBIO, Paulo A. **Química do Processamento de Alimentos**. 3ed. São Paulo: Varela, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento – MAPA. Instrução Normativa nº 4 de 31 de março de 2000. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Linguiça e de Salsicha**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 04 de abril de 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento – MAPA. Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001. **Regulamento Técnico Sobre padrões Microbiológicos para Alimentos**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 10 de janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Decreto nº 55.871 de 26 de março de 1965. **Normas Regulamentadoras do Emprego de Aditivos para Alimentos**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 09 de abril de 1965.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Portaria nº 540 de 27 de outubro de 1997. **Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares – definição, classificação e emprego**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 28 outubro de 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Portaria nº 1004 de 11 de dezembro de 1998. **Atribuição de Funções de Aditivos**,

Aditivos e seus limites máximos de uso para a Categoria 8 – Carnes e Produtos Cárneos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 14 de dezembro de 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução ANVS/MS nº 360, de 23 de dezembro de 2003. **Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional.** Diário Oficial da União, Brasília, DF, 26 de dezembro de 2003.

BRIGHENTE, I. M. C.; DIAS, M.; VERDI L. M.; PIZZOLATTI, M. G. Antioxidant Activity and total phenolic of some Brazilzn Species. **Pharmaceutical Biology.** v.45, n.2, p.156-161, 2007.

BURIN, Maria V.; FERREIRA-LIMA, Nayla E.; PANCERI, Carolina P.; BORDIGNON-LUIZ, Marilde T. Bioactive compounds and antioxidant activity of *Vitis vinifera*. and *Vitis labrusca*. grapes: Evaluation of different extraction methods. **Microchemical Journal.** v.114, p.155-163, 2014.

CABRAL, Ingridy S. R.; SHIRAHIGUE, Ligianne D.; ARRUDA, Lia F. de.; CARPES, Solange T.; OETTERER, Marília. Produtos naturais de algas marinhas e seu potencial antioxidante e antimicrobiano. **B. CEPPA.** v.29, n. 2, p.181-192, 2011.

CAMARGO, Umberto A.; MAIA, João D.G.; RITSCHER, Patrícia. **Embrapa Uva e Vinho: Novas cultivares brasileiras de uvas.** 1Ed. Editora: Embrapa Uva e Vinho, 2010, p.64.

CAMPOS, Luana M.A.S. de; LEIMANN, Fernanda V.; PEDROSA, Rozangela C.; FERREIRA, Sandra R.S. Free radical scavenging of grape pomace extracts from Cabernet sauvignon (*Vitis vinifera*). **Bioresource Technology.** v.99, p.8413-8420, 2008.

CAMPOS, Luanda M. A. S. de. **Obtenção de estratos de bagaço de uva cabernet sauvignon (*Vitis vinifera*): Parâmetros de Processo e Modelagem Matemática.** 141 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, SC, 2005.

CASTILLO, Carmem J. C. **Qualidade da Carne.** 1 Ed. Editora: Varela, 2006, p.240.

CATANEO, Cirilene B.; CALIARI, Vinícius; GONZAGA, Luciano V.; KUSKOSKI, Eugênia M.; FETT, Roseane. Atividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de vinho. **Semina: Ciências Agrárias.** v.29, n.1, p.93-102, 2008.

CENTENARO, Graciela S.; FURLAN, Valcenir J. M.; SOUZA-SOARES, Leonor A. de. Gordura de Frango: Alternativas Tecnológicas e Industriais. **Semina: Ciências Agrárias**. v.29, p. 619-630, 2008.

CHITARRA, Maria I. F.; CHITARRA, Adimilson, B. **Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças: Fisiologia e manuseio**. 2 Ed. Editora: UFLA, 2005, p785.

CUVELIER, M. E.; BERSET, C.; RICHARD, H. Antioxidant constituent in sage (*Salvia officinalis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.42, p.665-669, 1994.

DAMODARAN, Srinivasan; PARKIN, L. Kirk; FENNEMA, Owen R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4 Ed. Editora: Artmed, 2010, 900p.

DENG, Qian; PENNER, Michael H.; ZHAO, Yanyun. Chemical composition of dietary fiber and polyphenols of five different varieties os wine grape pomace skins. **Food Research International**. v.44, p.2712-2720, 2011.

DEVATKAL, Suresh K.; NARSAIAH, K.; BORAH, A. Anti-oxidant effect of extracts of kinnow rind, pomegranate rind and seed powders in cooked gat patties. **Meat Science**. v.85, p.155-159, 2010.

EMMONS, C. L.; PETERSON, D. M.; PAUL, G. L. Antioxidant capacity of oat (*Avena sativa L.*) extracts. 2. In vitro antioxidant activity and content of phenolic and tocol antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 12, p. 4894-4898, 1999.

FARMER, E. H.; BLOOMFIELD, G. G.; SUNDRALINGAM, S.; SUTTON, D. A.; Farmer, E. H., G. F. Bloomfield, A. Sundralingam and D. A. Sutton. The course and mechanism of autoxidation reactions in olefinic and polyolefinic substances, including rubber. **Transactions of the Faraday Society**.v.38, p.348-356, 1942.

FERREIRA, Luiz F, D. **Obtenção e caracterização de farinha de bagaço de uva e sua utilização em cereais matinais expandidos**. 157 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, MG, 2010.

FRANKEL, Edwin N. Lipid Oxidation. **Progress in Lipid Research**. v.19, n.1-2, p.1-22, 1980.

FERRARI, Valdecir. **A sustentabilidade da vitivinicultura através de seus próprios resíduos**. 26 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Econômicas) Universidade de Caxias do sul, 2010.

FLANZY, Claude. **Enología: Fundamentos Científicos Y Tecnológicos**. Editora Madrid: Mundi Prensa, 1ªed, 2000, 783p.

GARRIDO, Maria D.; AUQUI, Mariella; MARTÍ, Nuría; LINARES, María B. Effect of two different red grape pomace extracts obtained under different extraction systems on meat quality of pork burgers. **LWT: Food Science and Technology**. v.44, p.2238-2243, 2011.

GRANATO, D.; KATAYAMA, F.C.U.; CASTRO I.A. Assessing the association between phenolic compounds and the antioxidant activity of Brazilian red wines using chemometrics **Food Science Technology**. v.43, p.1542-1549, 2010.

GRIS, E.F.; MATTIVI, F.; FERREIRA, E.A.; VRHOVSEK, U.; WILHELM, D.; PEDROSA, R.C.; BORDIGNON-LUIZ, M.T. Stilbenes and tyrosol as target compounds in the assessment of antioxidant and hypolipidemic activity of Vitis vinifera Red Wines from Southern Brazil. **Journal Agricultural Food Chemistry**. v.59, p.7954-7961, 2011.

HAGERMAN, A. E.; RIEDL K. M.; JONES, G. A.; SOVIK, K.N.; RITCHARD, N. T.; HARTZFELD, P. W.; RIECHEL, T. L. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.46, p.1887-1892, 1998.

HALLIWEL, Barry. Antioxidants and human disease: A general introduction. **Nutrition Reviews**. v.55, n.1, p.(II)S44-S52, 1997.

HALLIWEL, Barry.; MURCIA, M. Antonia.; CHIRICO, Susanna.; ARUOMA, Okezie I. Free radicals and antioxidants in food and vivo: what they do and how they work. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. v.35, n.1/2, p.7-20, 1995.

HARSHA, SRI P.S.C.; GARDANA, Claudio; SIMONETTI, Paolo; SPIGNO, Giogia; LAVELLI, Vera. Characterization of phenolics, in vitro reducing capacity and anti-glycation activity of red grape skins recovered from winemaking by-products. **Bioresource Technology**. v.140, p.263-268, 2013.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz.** Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos, Versão eletrônica, 4. ed. São Paulo: IAL, 2008, 1000p.

KAHKONEN, Marja P.; HOPIA, Anu I.; VUORELA, Heikki, J.; RAUHA, Kalevi Pihlaja; KUJALA, Tytti S.; HEINONEN Marina. Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. **Journal Agricultural Food Chemistry.** v.47, p.3954-3962, 1999.

KARACABEY, Erkan; MAZZA, Giuseppe. Optimisation of antioxidant activity of grape cane extracts using response surface methodology. **Food Chemistry.** v.119, p.343-348, 2010.

KAUR, Charanjit; KAPOOR, Harish C. Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium's health. **International Journal of Food Science and Technology.** v.36, p. 703-725, 2001.

KUKIC, Jelena.; POPOVIC, Visnja.; PETROVIC, Silvana.; MUCAJI, Pavel.; CIRIC, Ana.; STOJKOVIC, Dejan.; SOKOVIC, Marina. Antioxidant and antimicrobial activity of *Cynara cardunculus* extracts. **Food Chemistry.** v. 107, n. 2, p. 861-868, 2008.

LAWRIE, R. A. **Ciência da Carne.** Porto Alegre, Ed. Artmed, 2005, 384p.

MCCARTHYA, T. L.; KERRYA, J. P. LYNCHB, P. B.; BUCKLEYA, D. J. Evaluation of the antioxidant potential of natural food/plant extracts as compared with synthetic antioxidants and vitamin E in raw and cooked pork patties. **Meat Science.** v.58, p.45-52, 2001.

MARÇO, Paulo H.; POPPI, Ronei J.; SCARMINIO, Ieda S. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Química Nova.** v.31, n.5, p.1218-1223.

MARIUTTI, Lilian R. B.; BRAGAGNOLO, Neura. Revisão: Antioxidantes Naturais da Família Lamiaceae. Aplicação em Produtos Alimentícios. **Revista Brasileira de Tecnologia de Alimentos.** v.10, n.2, p. 96-103, 2007.

MARIUTTI, Lilian R. B.; BRAGAGNOLO, Neura. A oxidação lipídica em carne de frango e o impacto da adição de sálvia (*Salvia officinalis*, L.) e de alho (*Allium sativum*, L.) como antioxidantes naturais. **Revista Instituto Adolfo Lutz.** v.68 (1), p.1-11, 2009.

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

MELO, Enaide de A.; MACIEL, Maria Inês S.; LIMA, Vera Lúcia A. G.; SANTANA, Ana Paula M de. Capacidade antioxidante de hortaliças submetidas a tratamento térmico. **Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**. v. 34, n. 1, p. 85-95, abr. 2009.

MELO, Priscilla S.; BERGAMASCHI, Keityane B.; TIVERON, Ana P.; MASSARIOLI, Adna P.; OLDONI, Tatiane L. C.; ZANUS, Mauro C.; PEREIRA, Giuliano E.; ALENCAR, Severino M. Composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais. **Ciência Rural**. v.41, n.6, p.1088-1093, 2011.

MELO, Priscilla S. **Composição química e atividade biológica de resíduos agroindustriais**. 101 p. Dissertação (Mestrado em Ciências: Ciência e tecnologia de alimentos) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, SP, 2010.

MENSOR, Luciana L.; MENEZES, Fábio S.; LEITÃO, Gilda G.; REIS, Alexandre S.; SANTOS, Tereza C. dos.; COUBE, Cintia S.; LEITÃO, Suzana G. Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, v.15, p.127–130, 2001.

MORRISSEY, P. A.; SHEEHY, P. J. A.; GALVIN, K.; KERRYH J. P.; BUCKLEYH, D. J. Lipid Stability in Meat and Meat Products. **Elsevier: Meat Science**. v.49, Suppl. I, S73 S86, 1998.

OLIVEIRA, Alane C. de.; VALENTIM, Iara B.; GOULART, Marília O. F.; SILVA, Cícero A.; BECHARA, Etelvino J. H.; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**. v.32, n. 3, p.689-702, 2009.

OLIVEIRA, Cátia M. de. **Viticultura e Produção de Vinho. Dossiê Técnico**. Serviço Brasileiro de respostas técnicas. Rede de Tecnologia. Rio de Janeiro. 2007, 46p.

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

PARK, Y. K.; KOO, M. H.; SATO, H. H.; CONTADO, J. L. Estudo de alguns componentes da própolis coletada por *Apis mellifera* no Brasil. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 38, n.4, p. 1235-1259, 1995.

RAMOS, Eduardo M.; GOMIDE, Lúcio A. de M. **Avaliação da Qualidade de Carnes: Fundamentos e Metodologias**. 1 Ed. Editora: UFV, 2009, p.599.

RAHARJO, Sri; SOFOS, John N.; SCHMIDT, Glenn R. Improved Speed, Specificity, and Limit of Determination of an Aqueous Acid Extraction Thiobarbituric Acid-C18 Method for Measuring Lipid Peroxidation in Beef. **Journal Agriculture. Food Chemistry**. v.40, p.2182-2185, 1992.

RAMALHO, Valéria C.; JORGE, Neuza. Antioxidantes Utilizados em Óleos, Gorduras e Alimentos Gordurosos. **Química Nova**. v.29, n.4, 2006.

RE, Roberta; PELLEGRINI, Nicoletta; PROTEGGENTE, Anna; PANNALA, Ananth; YANG, Min; RICE-EVANS, Catherine. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radicals Biology and Medicinal**. v.26, n.9/10, p.1231-1237, 1999.

RIZZON, Luiz A.; MANFROI, Vitor.; MENEGUZZO, Júlio. **Elaboração de suco de uva na propriedade vitícola**. Bento Gonçalves: Embrapa uva e vinho, 1998. p.24.

ROCKENBACH, Ismael I.; SILVA, Graciela L. da.; RODRIGUES, Eliseu.; KUSKOSKI, Eugênia M.; FETT, Roseane. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.28 (Supl.), p.238-244, 2008.

ROCKENBACH, Ismael I.; RODRIGUES, Eliseu; GONZAGA, Luciano V.; CALIARI, Vinícius; GENOVESE, Maria I.; GONÇALVES, Any E. de S. S.; FETT, Roseane. Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. **Food Chemistry**. v.127, p.174-179, 2011a.

ROCKENBACH, Ismael I.; GONZAGA, Luciano V.; RIZELIO, Viviane M.; GONÇALVES, Any E. de S. S.; GENOVESE, Maria I.; FETT, Roseane. Phenolic compounds and antioxidant activity os seed na skin extracts of redg rape (*Vitis vinifera* and *Vitis labrusca*) pomace from Brazilian winemaking. **Food Research International**. v.44, p.897-901, 2011b.

RODRIGUES, Maria I.; LEMMA, Antonio F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos**. São Paulo: Campinas. Casa do espírito amigo fraternidade fé e amor, 2009.

ROMBALDI, César V.; FERRI, Valcir C.; BERGAMASQUI, Mariano; LUCHETTA, Luciano; ZANUZO, Márcio R. Produtividade e qualidade de uva, cv. bordô (Ives) sob dois sistemas de cultivo. **Revista Brasileira de Agrociência**. v.10, n.4, p.519-521, 2004.

RUFINO, Maria do S. M.; ALVES, Ricardo E.; BRITO, Edy S. de.; MORAIS, Selene M. de.; SAMPAIO, Caroline de G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, Jara.; SAURA-CALIXTO, Fulgencio D. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). **Comunicado Técnico 125**. Embrapa - Fortaleza, CE, 2006.

RUFINO, Maria do S.M.; ALVES, Ricardo E.; BRITO, Edy S. de.; PÉREZ-JIMÉNEZ, Jara; SAURA-CALIXTO, Fulgencio; MANCINI-FILHO, Jorge. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*. v.121, p.996-1002, 2010.

RUFINO, Maria do S. M.; ALVES, Ricardo E.; BRITO, Edy S. de.; MORAIS, Selene M. de.; SAMPAIO, Caroline de G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, Jara.; SAURA-CALIXTO, Fulgencio D. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS^{•+}. **Comunicado Técnico 128**. Embrapa - Fortaleza, CE, 2007.

SÁNCHEZ-ALONSO; JIMÉNEZ-ESCRIG, A; SAURA-CALIXTO, F.; BORDERÍAS, A.J. Effect of grape antioxidant dietary fibre on the prevention of lipid oxidation in minced fish: Evaluation by different methodologies. **Food Chemistry**. v.101, p.372-378, 2007.

SANTOS, Gersa M dos.; MAIA, Geraldo A.; SOUSA, Paulo Henrique M de S.; COSTA, José Maria C da.; FIGUEIREDO, Raimundo W. de.; PRADO, Giovana M. do. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). **Arquivos Latino-americanos de Nutrição**. v.58, n.2, 2008.

SÁYAGO-AYERDI, S.G.; BRENES, A.; GOÑI, I. Effect of grape antioxidant dietary fiber on the lipid oxidation of raw and cooked chicken hamburgers. **LWT: Food Science and Technology**. v.42, p.971-976, 2009.

SELANI, M.M.; CONTRERAS-CASTILLO, C.J.; SHIRAHIGUE, L.D.; GALLO, C.R.; PLATA-OVIEDO, M.; MONTES-VILLANUEVA, N.D. Wine industry residues extracts as natural antioxidants in raw and cooked chicken meat during frozen storage. **Meat Science**. v.88, p.397-403, 2011.

SHIMOKOMAKI, Massami; OLIVO, Rubison; TERRA, Nelcindo N.; FRANCO, Bernadette D. G. de M. **Atualidades em a Tecnologia de Carnes**. São Paulo: Varela, 2006. 651p.

SILVA, Francisco; BORGES, M. Fernanda M.; FERREIRA, Margarida A. Métodos para Avaliação do Grau de Oxidação Lipídica e da Capacidade Antioxidante. **Química Nova**. v.22, n.1, 1999.

SINGLETON, Vernon L.; ORTHOFER, Rudolf; LAMUELA-RAVENTÓS, Rosa M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**. v.299, p.152-178, 1999.

SOARES, Denise J.; TAVARES, Tarliane M.; BRASIL, Isabella M.; FIGUEIREDO, Raimundo W. de; SOUSA, Paulo H. M. de. Processos oxidativos na fração lipídica de alimentos. **B. CEPPA**. v.30, n.2, p.263-272, 2012.

SPIGNO, Giorgia; DE FAVERI, Dante M. Antioxidants from grape stalks and Marc: Influence of extraction procedure on yield, purity and antioxidant Power of the extracts. **Journal of Food Engineering**. v.78, p.793-801, 2007.

TAIZ, Lincoln; ZEIGER, Eduardo. **Fisiologia Vegetal**. 4. ed. São Paulo: Artmed, 2009. 819p.

TARLADGIS, Brasil G.; WATTS, Betty M.; YOUNATHAN, Margaret T. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. **American Oil Chemists Society**. v.37. 1960.

TERRA, Nelcindo N.; BRUM, Marco, A.R. **Carne e seus derivados: Técnicas de controle de qualidade**. 1 Ed. Editora: Nobel, 1988, 121p.

TOALDO, Isabela M.; FOGOLARI, Odinei; PIMENTEL, Gabriela C.; GOIS, Jefferson S.de.; BORGES, Daniel L.G.; CALIARI, Vinícius; LUIZ, Marilde B. Effect of grape seeds on the polyphenol bioactive content and elemental composition by ICP-MS of grape juices from *Vitis labrusca* L. **Food Science Technology**. v.53, p.1-8, 2013.

União Brasileira de Avicultura – UBABEF. A avicultura brasileira. Site: http://www.ubabef.com.br/a_avicultura_brasileira/historia_da_avicultura_no_brasil. Acessado em 25/08/2013.

União Brasileira de Viticultura – Uvibra. Site: http://www.uvibra.com.br/pdf/safra_uva2002-2011.pdf. Acessado em 15/07/2013.

VERHAGEN, H.; DEERENBERG, I.; MARX, A.; HOOR, T. F.; HENDERSON, P. T.; KLEINJANS, J. C. S. Estimate of the daily dietary intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene in the Netherlands. **Food Chemistry and Toxicology**. v.28, p.215-220, 1990.

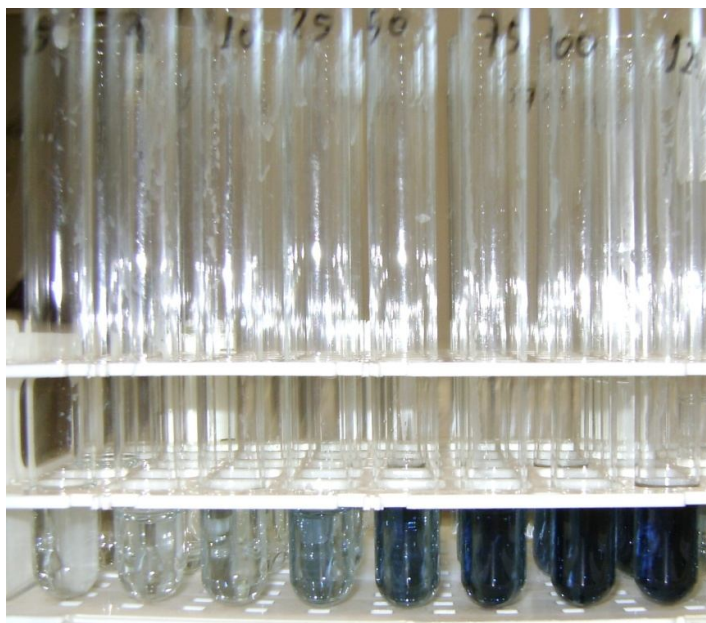
WOISKY, Ricardo G.; SALATINO, Antonio; Analysis of própolis: some parameters and producedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**. v.37, p.99-105, 1998.

XU, Changmou; ZHANG, Yali; CAO, Lei; LU, Jiang. Phenolic compounds and antioxidant properties of different grape cultivars grown in China. *Food Chemistry*. v.119, p.1557-1565, 2010.

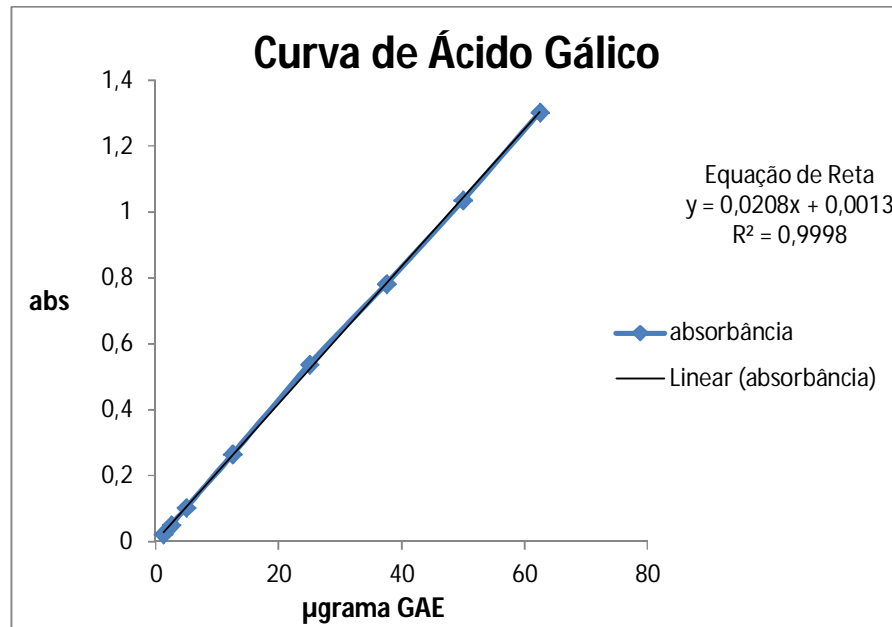
ZHANG, Ying-lao; KONG, Li-chun; YIN, Cai-ping; JIANG, Jian-quan; HE, Jing; XIAO, Wei-xuan. Extraction optimization by response surface methodology, purification and principal antioxidant metabolites of red pigments extracted from bayberry (*Myrica rubra*.) pomace. **Food Science and Technology**. v.51, p.343-347, 2013.

ZHOU, Shao-huan; FANG, Zhong-xiang; LU, Yuan; CHEN, Jian-chu; LIU, Dong-hong; YE, Xing-qian. Phenolics and antioxidant properties of bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.)pomace. **Food Chemistry**. v.112, p.394-399, 2009.

ANEXO A: Reação *in-vitro* da curva analítica de ácido gálico, nas concentrações de 2,5; 5; 10; 25; 50; 75; 100 e 125 ppm



ANEXO B: Equação de reta da curva analítica de ácido gálico, nas concentrações de 2,5; 5; 10; 25; 50; 75; 100 e 125 ppm



ANEXO C: Reação *in-vitro* da curva de trolox, nas concentrações de 10, 20, 40, 60, 80 e 100 μmol de trolox



ANEXO D: Equação de reta, da curva de trolox, nas concentrações de 10, 20, 40, 60, 80 e 100 μmol de trolox

