

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ - UTFPR
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS
CURSO DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

AMANDA VANZ

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE EXTRATO DE
ALECRIM NA PRESERVAÇÃO DE FILÉS DE TILÁPIA DO NILO
DEFUMADOS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

FRANCISCO BELTRÃO

2013

AMANDA VANZ

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE EXTRATO DE
ALECRIM NA PRESERVAÇÃO DE FILÉS DE TILÁPIA DO NILO
DEFUMADOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao programa de Graduação em Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR como requisito parcial para obtenção de título de “Tecnólogo em Alimentos”.

Orientador: Prof^o Dr. Alexandre da Trindade Alfaro

Co-orientadoras: Prof^a Dra. Alessandra Machado Lunkes

Prof^a Dra. Cleusa Ines
Weber

FRANCISCO BELTRÃO

2013

FOLHA DE APROVAÇÃO

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE EXTRATO DE ALECRIM NA PRESERVAÇÃO DE FILÉS DE TILÁPIA DO NILO DEFUMADOS

Por

Amanda Vanz

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos, no Curso Superior de Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

BANCA AVALIADORA

Prof^a *Dra.* Alessandra Machado Lunkes
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR

Prof^a *Dr.* Alexandre da Trindade Alfaro
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR
(Orientador)

Prof. *Dr.* Cleusa Ines Weber
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR
(Coordenador do curso)

Francisco Beltrão, 01 de Setembro de 2013

A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso.

DEDICATÓRIA

Dedico este aos meus pais, Melsi e Salete Vanz, pela compreensão e afeto que me atribuíram nestes 3 anos de ausência, que sempre acreditaram em mim e muito contribuíram para a realização deste sonho.

Dedico também à minha irmã Bárbara Vanz, meu talismã, pela força e parceria nos momentos de crescimento durante o processo de minha formação profissional.

Agradecimentos

A Deus, pela vida, pela força e pela família adquirida, que muito me ajudaram para concretizar meu objetivo;

Aos meus pais, Melsi e Salete Vanz e minha irmã Bárbara Vanz pela compreensão, afeto e apoio atribuídos à mim nesta jornada;

À minha melhor amiga, Maíra Keli Cargnin, pelo apoio durante minha vida acadêmica, mesmo distante;

Ao meu anjo guardião, Luiz Carlos dos Santos Fortes, que acreditou em mim e muito contribuiu para a realização deste sonho;

As minhas queridas amigas que moraram comigo e que conviveram comigo em momentos difíceis e em momentos bons (Camila Baldo, Mariluci dos Santos Fortes, Patrícia Simer, Bruna Boger e Adriana Menegaro e Andriélen Virke de Oliveira) e a minha colega Regina Albani, que me ajudou muito nas análises ao decorrer do meu projeto;

A minha amiga e irmã Caroline Giane de Carli pelo apoio e colaboração nos momentos de dúvidas;

Ao meu orientador Alexandre da Trindade Alfaro pela ajuda durante o processo de construção deste projeto e agradeço também do fundo do meu coração às minhas co-orientadoras Alessandra Machado Lunkes e Cleusa Ines Weber pelos conselhos, conversas, esclarecimentos, fornecimento de seus grandes conhecimentos repassados a mim e correção deste trabalho;

Agradeço ao Professor João Marchi pelas críticas construtivas e sugestões durante o processo das análises iniciais;

Agradeço ao meu amigo e Laboratorista Ronaldo Follman Santos, pela ajuda imensa recebida dentro e fora do âmbito universitário;

Agradeço a todos que de uma forma ou de outra, direta ou indiretamente, contribuíram no processo de minha formação profissional.

“Sucesso é o resultado da prática constante de fundamentos e ações vencedoras. Não há nada de milagroso no processo, nem sorte envolvida. Amadores aspiram, profissionais trabalham”.

Bill Russel (apud Jairo Netto)

RESUMO

VANZ, Amanda. **Avaliação do potencial antioxidante de extrato de alecrim na preservação de filés de tilápia do Nilo defumados. 2012.** Trabalho de Conclusão de Curso (Curso superior de Tecnologia em Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Francisco Beltrão.

A tilápia do Nilo é um pescado de grande importância na aquicultura mundial, sendo uma das espécies mais indicadas para a criação intensiva. Essa espécie é altamente procurada pelo consumidor por possuir requisitos importantes na hora da compra tais como: carne branca e textura firme. Devido ao alto teor lipídico da carne da tilápia do Nilo, esta se deteriora rapidamente se não manuseada, transportada e armazenada corretamente. A defumação é um processo comumente utilizado para produtos cárneos e objetiva o melhoramento sensorial e as propriedades organolépticas do produto destinado ao consumo humano. Tendo em vista as propriedades antioxidantes presentes na defumação, como compostos aromáticos, tal processo beneficia a carne aumentando sua vida útil. Por outro lado, a defumação torna a superfície de contato do alimento propícia à ação do oxigênio e conseqüente formação de radicais livres, o qual acelera as reações de oxirredução de ácidos graxos. O trabalho teve como objetivo avaliar o potencial antioxidante do extrato de alecrim na inibição da oxidação lipídica de filés de tilápia defumados. Foram realizadas análises físico-químicas dos filés de tilápia *in natura*, sendo elas pH, lipídeos, cor e atividade de água, para filés *in natura*, análise da atividade antioxidante total pelo método de FRAP e ABTS e análise de compostos fenólicos para o extrato e TBARS para o filé defumado acrescido com alecrim. O filé *in natura* estava dentro dos padrões descritos pela literatura, sendo 15,25% de lipídeos, 6,1 para pH e 0,741 para atividade de água. Quanto às atividades antioxidantes, os extratos se mostraram eficientes quando ao quesito antioxidante com um valor muito próximo comparando-os a outros autores (ABTS = 12,85 μM Trolox Eq/g; FRAP = 36,73 μM Trolox equivalente/g compostos fenólicos = 123,59 mg de AGE/100 g de extrato seco). Para oxidação lipídica dos filés defumados (TBARS) em 15 dias, os valores mostraram-se altos (T1 = 5,42 \pm 0,215^a; T6 = 5,66 \pm 12,688^a; T5 = 7,99 \pm 0,008^a; T4 = 10,09 \pm 0,005^a; T3 = 15,63 \pm 0,001^a), sendo assim obteve-se um produto final bastante oxidado, não podendo mais ser consumido.

Palavras-chave: Inibição da rancidez, *Oreochromis niloticus*, defumação, *Rosmarinus officinalis*.

ABSTRACT

VANZ, Amanda. **Antioxidant potential of rosemary extract in the preservation of Nile tilapia fillets** smoked . 2012 . Completion of course work (Studied Food Technology). Federal Technological University of Paraná. Francisco Beltrão.

The Nile tilapia is a fish of great importance in world aquaculture , one of the species most suitable for intensive farming . This species is highly sought after by the consumer has important requirements when purchasing such as : white flesh and firm texture . Due to the high lipid content of the flesh of Nile tilapia , this deteriorates rapidly if not handled , transported and stored correctly. Smoking is a process commonly used for meat products , and aims to improve sensory and organoleptic properties of the product intended for human consumption . In view of the antioxidant present in the smoking process , such as aromatic compounds , this process benefits the meat increasing its useful life. On the other hand , smoking makes food contact surface conducive to the action of oxygen and the consequent formation of free radicals , which accelerates the redox reactions of fatty acids . The study aimed to evaluate the antioxidant potential of rosemary extract in inhibiting lipid oxidation of tilapia fillets smoked . Analyses Physico- chemical properties of fresh tilapia fillets , which were pH , lipids , color and water activity for fresh fillets , analysis of total antioxidant activity by FRAP and ABTS method and analysis of phenolic compounds in the extract and TBARS for fillet with rosemary smoked increased . The filet was fresh within the standards described in the literature , being 15.25% lipid , 6.1 for pH and water activity to 0.741 . Regarding the antioxidant activity , the extracts were effective when antioxidant to quest with a value very close to comparing them to other authors (ABTS = 12.85 mM Trolox Eq / g ; FRAP = 36.73 mM Trolox equivalent / g phenolics = AGE/100 123.59 mg g dry extract) . For lipid oxidation smoked fillets (TBARS) in 15 days , the values shown are high (T1 = 5.42 ± 0.215 to T6 = $5.66 \pm 12,688$ a; T5 = 7.99 ± 0.008 nd , T4 = 10 , 09 th ± 0.005 , 15.63 ± 0.001 T3 = second) , thus obtained a final product rather oxidized and can no longer be consumed.

Keywords: Inhibition of rancidity, *Oreochromis niloticus*, smoking, *Rosmarinus officinalis*.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Estrutura benzênica (fenólica) com grupamento hidroxila (OH) **16**
- Figura 2.** Estrutura de um flavonóide..... **16**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Preparo das soluções para curva-padrão.....	24
Tabela 2. Valores de concentração de ácido gálico e metanol para a construção da curva de calibração	26
Tabela 3 – Valores de sal, água e peso dos filés para todos os tratamentos.	27
Tabela 4. Valores de extrato e seus respectivos métodos.....	28
Tabela 5. Tempo, temperatura e variação de temperatura no processo de defumação dos filés de tilápia do Nilo	28
Tabela 6. Avaliações físico-químicas dos filés de tilápia do Nilo in natura .	32
Tabela 7. Apresentação dos dados de oxidação lipídica dos filés de tilápia defumados com extrato de alecrim em mg malonaldeído/kg.	36

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo Geral	14
2.2 Objetivos específicos.....	14
3 REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1 Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	15
3.2 Defumação	16
3.3 Antioxidantes.....	17
3.3.1 Extrato de Alecrim	19
3.4 Compostos fenólicos	20
3.5 Poder Antioxidante pelo método FRAP	21
3.6 Poder Antioxidante pelo método ABTS+	22
3.7 Oxidação Lipídica pelo método TBARS	23
4 MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1 Material.....	24
4.2 Métodos.....	24
4.2.1.1 Avaliação da Atividade Antioxidante Total pelo método FRAP	24
4.2.1.2 Avaliação da atividade antioxidante total pelo método ABTS+.....	25
4.2.1.3 Determinação de Compostos Fenólicos.....	25
4.2.2 Adição de extrato aos filés	27
4.2.3 Defumação dos filés	28
4.2.4 Determinação de Lipídios.....	29
4.2.5 Determinação do pH.....	29
4.2.6 Avaliação da Oxidação Lipídica dos filés defumados pelo método TBARS	29
5.5 Análises microbiológicas.	37
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	38

REFERÊNCIAS	39
-------------------	----

1 INTRODUÇÃO

O pescado é um produto que contém alto conteúdo de ácidos graxos e pode se deteriorar muito rapidamente quando não manipulado e armazenado corretamente. A rancidez, ou oxidação de lipídios, é a deterioração mais importante que ocorre nesse produto, definindo a vida útil do mesmo. Isso ocorre porque, com um maior tempo de exposição do pescado, gera produtos indesejáveis do ponto de vista sensorial e conseqüentemente destrói as vitaminas lipossolúveis e os ácidos graxos essenciais (GRAY, 1978; CECCHI, 1999).

Os conservantes químicos são de grande importância em países tropicais, onde a maioria dos alimentos é afetada pela temperatura alta e grau de umidade que são condições apropriadas ao desenvolvimento microbiano. Ainda podem ser utilizados quando há transporte deficiente, e instalações inadequadas de armazenamento dentro da cadeia de produção (ADITIVOS & ALIMENTOS, 2013).

Conservantes químicos como butilhidroxianisol (BHA) e o butilhidroxitoueno (BTH) são comumente utilizados na indústria alimentícia. Contudo, segundo alguns estudos recentes, os mesmos podem causar efeitos colaterais em animais tais como: hemorragia massiva nas cavidades pleurais e peritoneais ou extensa proliferação de células no pulmão, com mudanças bioquímicas, atuando como agente promotor no desenvolvimento de adenoma (ADITIVOS & ALIMENTOS, 2013).

Atualmente a indústria de alimentos preza bastante o uso de antioxidantes naturais como forma de conservação natural, para atender uma demanda crescente da sociedade pelo consumo de alimentos mais saudáveis. Além de apresentarem atividade antioxidante e anti-inflamatória alguns antioxidantes são considerados os agentes antimicrobianos mais importantes presentes nas plantas, que posteriormente, poderão ser utilizadas como conservantes naturais em alimentos de baixa vida-de-prateleira (ADITIVOS & ALIMENTOS, 2013).

A defumação é uma antiga técnica de conservação de produtos cárneos e hoje é comumente utilizada como um artifício para o melhoramento da

qualidade sensorial do pescado, como odor, sabor, coloração e textura (SIGURGISLADOTTIR et al., 2000). Além disso, a defumação tradicional estende a vida útil do produto devido aos efeitos combinados da salga, cocção, secagem e deposição de substâncias químicas bactericidas que estão presentes na fumaça, neste caso os aldeídos e os ácidos orgânicos (ANDERSEN, THOMASSEN & RORA, 1997).

Por apresentarem maior facilidade no preparo e utilização, os peixes estão cada vez mais presentes no mercado em diversas formas (ANDERSEN, THOMASSEN & RORA, 1997). Deste modo, a adição de antioxidantes à defumação proporciona, ao produto, a diminuição significativa da oxidação lipídica que é gerada a partir de condições tais como: exposição à luz, ao oxigênio, umidade, dentre outros.

A tilápia do Nilo é um pescado de grande importância, já que possui características positivas na hora da criação, dentre elas; altas taxas de crescimento e adaptabilidade em diversas condições de criação. É uma das carnes de pescado mais procurada pelo consumidor que visa o aspecto visual (carne branca e textura firme) e também a ausência de espinhos intramusculares (SANTOS et al., 2007).

O pescado, apesar de ser uma das carnes mais procuradas pelo consumidor, tem alto teor lipídico, podendo assim, deteriorar-se rapidamente se não manuseado, transportado e armazenado corretamente. Sendo assim, a adição de antioxidantes naturais e o processo de defumação poderão resultar na inibição da oxidação lipídica e contribuir para o aumento da vida útil desse pescado, visando também benefícios à saúde de quem o consumirá.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliação do potencial antioxidante do extrato de alecrim na inibição da oxidação lipídica de filés de tilápia defumados.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar os fenólicos totais presentes no extrato de alecrim;
- Avaliar o potencial antioxidante do extrato de alecrim;
- Aplicar a técnica de defumação tradicional nos filés de tilápia;
- Determinar as características físico-químicas dos filés de tilápia *in natura* e defumados;
- Determinar a oxidação lipídica nos filés de tilápia defumados;

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

Por ser considerada de grande importância para a aquicultura mundial, a tilápia é considerada uma das espécies de peixes mais indicadas para a criação intensiva. Essa espécie possui requisitos que são procurados pelo consumidor na hora da compra visual, tais como carne branca e textura firme, e a ausência de espinhos intramusculares. Adicionalmente, alguns aspectos positivos quanto à criação podem ser abordados: a alta taxa de crescimento, adaptabilidade em diversas condições de criação (SANTOS, et al., 2007).

Depois das carpas, as tilápias são os peixes mais despescados nos viveiros de todo o mundo. Hoje elas se encontram distribuídas em todo o mundo, principalmente em países com clima tropical ou subtropical, como no Brasil. Os principais países produtores se encontram na Ásia sendo a China continental, Filipinas e Taiwan (PANORAMA DA AQUICULTURA, 2000).

A tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, é a principal espécie de tilápia cultivada no mundo por possuir um rápido crescimento, maturação sexual mais tardia e hábito alimentar planctívoro e também por ser um pescado de baixo valor comercial (SOUZA, MACEDO VIEGAS 2001).

Um dos problemas que prevalecem na maioria das espécies tilápias, inclusive a *Oreochromis spp.*, é o sabor de lama (*off-flavor*). Muitos produtores acham que o *off-flavor* prevalece mais em tilápias cultivadas em água doce do que nas cultivadas em água salgada, (PANORAMA DA AQUICULTURA, 2000).

A criação de tilápias encontra-se amplamente distribuída no mundo inteiro, podendo atingir uma produção mundial de 1.500.000 t em 2010. Em 2010, no Brasil, seguindo o padrão dos anos anteriores, a tilápia foi uma das espécies mais cultivadas, a qual somada representou em torno de 40% da produção nacional juntamente com a carpa (FITZSIMMONS, 2000).

3.2 Defumação

Nos últimos anos, o consumo de peixes no Brasil foi relativamente baixo, em torno de 6 kg/habitante/ano (MACEDO-VIEGAS et al., 2000). Uma forma para que essa situação seja revertida seria a utilização de mecanismos que estimulem formas de consumo para esse tipo de pescado, como por exemplo, a defumação, visto que melhora as propriedades sensoriais e organolépticas do pescado, aumenta sua vida útil e é um dos alimentos que imprimem maior praticidade para o consumidor na hora da compra (SOUZA, MACEDO-VIEGAS, 2001).

Antigamente a tradicional defumação era realizada através da queima da madeira sob a carne, sem controle. Hoje, o processo pode ser acelerado consistindo em realização da defumação em um forno e pela deposição eletrostática das partículas de madeira que estão presentes na fumaça que entrará em contato com a carne (MACEDO-VIEGAS et al., 2000).

A defumação é uma antiga técnica de conservação de produtos cárneos onde é comumente utilizada como um artifício para o melhoramento da qualidade sensorial do pescado, como odor, sabor, coloração e textura (SIGURGISLADOTTIR et al., 2000). Além disso, a defumação tradicional estende a vida útil do produto devido aos efeitos combinados da salga, cocção, secagem e deposição de substâncias químicas bactericidas que estão presentes na fumaça, neste caso são os aldeídos e os ácidos orgânicos (ANDERSEN, THOMASSEN & RORA, 1997).

Por apresentarem maior facilidade no preparo e utilização, peixes defumados estão cada vez mais presentes no mercado em diversas formas. Os peixes de pequeno porte geralmente são defumados inteiros e os maiores em filés ou pedaços, sendo os cortes com ou sem pele (SOUZA, MACEDO VIEGAS, 2001).

Segundo Andersen, Thomassen & Rora (1997), em termos de defumação em peixes sem a pele, alguns não poderiam passar por tal processo, principalmente àquelas espécies com maior teor de lipídios, como o pacu (*Piaractus inesopotamicus*), pois altos teores de lipídios proporcionam aos filés menor resistência ao trauma mecânico, incluindo que o processo de

defumação afeta parcialmente o valor nutricional do pescado (BELTRAN & MORAL, 1991; GIRARD & GIRARD, 1991; HAARD, 1992; MAGA, 1987).

Porém, segundo Pardi, et al. (2007), somente a defumação não constitui um processo rigoroso de conservação; é utilizada mais como medida juntamente com a cura e para emprestar características organolépticas especiais, juntamente com uma conservação mais discreta.

A deposição da fumaça nos filés proporciona um sabor e aroma característicos. A ação antioxidante da defumação é atribuída, sobretudo aos fenóis de elevado ponto de ebulição (PARDI, et al., 2007).

Outro aspecto de grande importância no processo de defumação de pescado é o processo de salmouragem. Esta, em produtos defumados a quente é crítica, pois o teor de sal na fase aquosa do produto deve ser suficientemente alto (superior a 3%) para inibir o crescimento de qualquer organismo deteriorador, principalmente o *Clostridium botulinum* (BERAQUET & MORI, 1984).

Além desses aspectos, para aumentar a vida-de-prateleira do produto elaborado, também devem ser levadas em conta as condições de higiene durante o processamento, além do local de estocagem e da embalagem utilizada (MORAIS, 1994; WARD, 1995).

Verifica-se que em pescados defumados, o conteúdo de proteína e lipídios é mais alto que no pescado in natura, principalmente devido à perda excessiva de umidade quando comparado com a perda de lipídios e proteínas solúveis. As mudanças químicas nos grupos funcionais dos resíduos de aminoácidos, devido à defumação, são limitados, e não têm uma influência significativa no valor nutritivo das proteínas desse produto (HORNER, 1992; HOMER, 1992; MULLER, 1990).

3.3 Antioxidantes

Segundo a ANVISA “antioxidante é a substância que retarda o aparecimento de alteração oxidativa no alimento. Do ponto de vista químico, os antioxidantes são compostos aromáticos que contêm, no mínimo, uma hidroxila, podendo ser sintéticos, como o butilhidroxianisol (BHA) e o

butilhidroxitolueno (BHT), amplamente utilizados pela indústria alimentícia, ou naturais, substâncias bioativas, tais como organosulfurados, fenólicos e terpenos, que fazem parte da constituição de diversos alimentos” (ADITIVOS E ALIMENTOS, 2013).

Nos últimos anos muito se tem falado sobre antioxidantes e suas funcionalidades. Eles têm como função, evitar ou reduzir a ação de oxidação de compostos. Para que se entenda o processo de oxidação, deve-se considerar a existência do equilíbrio total da natureza em especial, as reações químicas. A maioria das reações que ocorrem na natureza é de óxi-redução, ou seja, enquanto uma parte se oxida, a outra reduz (ROCHA, 2013).

Os antioxidantes naturais são obtidos através da alimentação e são responsáveis pela manutenção do controle dos radicais livres presentes no corpo humano. Existem muitas outras moléculas naturais que atuam como antioxidantes, dentre elas os isômeros da vitamina E (tocoferóis: alfa, beta, gama e delta), os carotenoides (beta-caroteno, luteína e licopeno, entre outros), a vitamina C (ácido ascórbico), e alguns outros polifenóis presentes no alecrim e outros tipos de ervas aromáticas (ROCHA, 2013).

Um grande problema em produtos com alta taxa de ácidos graxos (gordura) é a rápida degradação pela reação de oxidação lipídica. Portanto, a presença de sabor ou odor estranho ao alimento (principalmente o de ranço) fará com que o consumidor não adquira esse produto. Portanto a indústria alimentícia adiciona aditivos, como os antioxidantes naturais, para que se possa manter a vida de prateleira do (*shelf life*) do produto por mais tempo que o normal (ROCHA, 2013).

O uso de aditivos sintéticos na indústria de alimentos vem sendo substituído pelos aditivos naturais por escolha do consumidor, que no caso procura seguir uma alimentação mais saudável (ROCHA, 2013).

Alguns sistemas enzimáticos atuam como antioxidantes naturais os quais impedem a formação de radicais livres e reduzem a velocidade das reações de oxidação. Os mais conhecidos são o superóxido-dismutase, a catalase e a glutathiona-peroxidase, a catalase e a glutathiona-peroxidase (CHITARRA, 2005).

A ingestão de frutas e hortaliças apresenta efeito contra doenças como por exemplo o câncer. Também foi comprovado a eficiência da ingestão desses alimentos por pessoas que se exercitam regularmente (CHITARRA, 2005).

3.3.1 Extrato de Alecrim

Entre os antioxidantes naturais mais conhecidos e utilizados está o extrato de alecrim. Várias pesquisas têm sido realizadas e tem-se observado que o alecrim possui uma alta atividade antioxidante. Vários compostos fenólicos têm sido isolados do alecrim, como por exemplo o carnosol, rosmano, rosmaridifenol e rosmariquinona (ASSIS et al., 2009).

Na região Nordeste do Brasil, as folhas de alecrim têm sido utilizadas popularmente com propriedades antioxidante e digestiva (Agra et al., 2007). O alecrim é um arbusto aromático de pequeno porte da família Labiatae, cujas folhas abrigam pequenas glândulas contendo óleo aromático (Al-Sereiti et al., 1999).

Seu óleo essencial e seu extrato são constituídos por hidrocarbonetos monoterpênicos, ésteres terpênicos, linalol, verbinol, terpineol, 3- octanona e acetato de isobornila. Os terpenóides são representados pelo carnosol, ácidos carnosílico, oleânico, ursólico, entre outros. Os flavonóides incluem diosmetina, diosmina, gencuanina, luteolina, hispidulina e apigenina. Apresenta ainda os ácidos rosmarínico, caféico, clorogênico, neoclorogênico e labiático (Alonso, 1998).

O alecrim (*Rosmarinus officinalis*) possui propriedades e características organolépticas desejadas pelo consumidor. Portanto ele é muito utilizado como especiaria de alto poder antioxidante, sendo classificado como um aromatizante natural quando adicionado aos alimentos, segundo o Council of Europe (1981) (ASSIS et al., 2009).

Tem-se observado, através da atividade antioxidante, a inibição de microrganismos patogênicos de bactérias Gram- positivas e Gram-negativas, como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus albus*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus brevis*, *Pseudomonas fluorenses*, *Kluyveromyces*

bulgaricus (Newall et al., 2002), *Micrococcus luteus*, *Salmonella* spp. e *Listeria monocitogens* (Alonso, 1998).

3.4 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos possuem efeitos benéficos para a saúde humana e estão presentes em frutas, vegetais, chás, vinhos, etc. Estudos clínicos, epidemiológicos e in vitro, mostram resultados de efeitos biológicos relacionados aos compostos fenólicos da dieta, tais como: atividade antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e anticarcinogênica (GUSMAN, MALONNE, ATASSI, 2001; DELMAS, JANNIN, LATRUFFE, 2005; CANTOS, TOMÁS-BARBERÁN, 2002; BEER, 2003).

Os compostos fenólicos são pertencentes aos compostos que possuem várias estruturas simples e também complexas com pelo menos um anel aromático, onde pelo menos um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila (OH), conforme é demonstrado na figura 1. (SIMÕES et al., 1999).

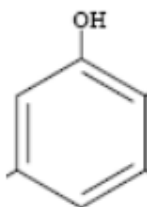


Figura 1. Estrutura benzênica (fenólica) com grupamento hidroxila (OH)²

Fonte: Simões et al., 1999

Os compostos fenólicos são classificados conforme o tipo da cadeia principal que constituirá o anel benzênico e com a cadeia que irá a substituir (SIMÕES et al., 1999) (figura 2).

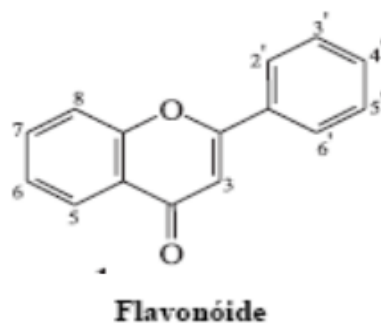


Figura 2. Estrutura de um flavonóide²

Fonte: Simões et al., 1999

Contudo, englobam uma gama enorme de substâncias tais como: fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides, estilbenos, taninos condensados e hidrolisados e, por fim, as ligninas. Além disso, os polifenóis possuem elevada polaridade, sendo bastante reativos e suscetíveis à ação de enzimas (SOARES, 2002; NACZK e SHAHIDI, 2004).

Além de possuírem propriedades antioxidantes, os compostos fenólicos contribuem no sabor, odor e coloração de diversos vegetais sendo muito usados como flavorizantes e corantes na indústria de alimentos e na indústria de cosmetologia (CUNHA et al., 2003).

O alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) é usualmente muito utilizado dentro da indústria alimentícia por possuir propriedades aromáticas, antioxidantes, antimicrobiana e antitumoral. Nos extratos de alecrim encontram-se três grupos de compostos fenólicos: O ácido carnósico, o carnosol, os diterpenos, o ácido rosmarínico, dentre outros (ALMELA, et, al., 2002).

3.5 Poder Antioxidante pelo método FRAP

Em nosso organismo acontecem várias reações químicas e também processos oxidativos, porém o consumo de substâncias antioxidantes na alimentação humana pode produzir uma ação protetora contra esses processos. Várias doenças já foram constatadas e estão ligadas a esses danos causados por formas de oxigênio extremamente reativas dentro do organismo.

Essas substâncias, também, estão ligadas ao envelhecimento do corpo (DEGASPARI & WASZCZYNSKYJ, 2004).

Pulido et al. (2000) descrevem o método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) – Poder Antioxidante de Redução do Ferro (Fig. 1) como alternativa para determinar a redução do ferro em fluidos biológicos e soluções aquosas de compostos puros.

Esse método pode ser aplicado tanto para estudos da atividade antioxidante em extratos de alimentos e bebidas, quanto para estudo de eficiência antioxidante de substâncias puras (RUFINO et al., 2006). O ensaio FRAP também mede a capacidade de redução de compostos fenólicos (ROGINSKY e LISSI, 2005).

Segundo Benzie & Strain (1996) o método FRAP baseia-se pela habilidade de redução do Fe^{3+} para o Fe^{2+} , em pH baixo. Quando isso ocorre na presença de 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ), a redução é acompanhada pela formação de um complexo de cor azul intensa, complexo este exposto como Fe^{2+} - TPTZ, que pode ser monitorado a 593 nm.

Este método é barato, os reagentes são de fácil preparo, os resultados são altamente reprodutíveis e o procedimento é simples e rápido (BENZIE & STRAIN, 1996). Porém, a medida da capacidade de redução não reflete necessariamente a capacidade antioxidante em si (FRANKEL & MEYER, 2000), pois nem todo redutor, que é capaz de reduzir o ferro, é antioxidante e nem todo antioxidante é capaz de reduzir o ferro (PRIOR et al., 2003). Sabendo-se que esse método não inclui nenhum tipo de substrato oxidável, ele não fornece as informações referentes às propriedades protetoras dos antioxidantes (FRANKEL & MEYER, 2000).

3.6 Poder Antioxidante pelo método ABTS+

Os ensaios utilizando o radical ABTS entre eles o TEAC, é basicamente composto pelo sequestro do ânion radical de longa vida $ABTS^{\cdot-}$. O ABTS é oxidado pelo radical peroxil ou outros oxidantes para seu radical cátion, $ABTS^{\cdot+}$, que é intensamente colorido, e a capacidade antioxidante é medida pela

habilidade que o composto em teste possui em decrescer a cor reagindo diretamente com o radical $ABTS^+$ (VIGNOLI, 2009).

É um método operacionalmente simples e é comumente utilizado em muitos estudos de avaliação da capacidade antioxidante de diversos compostos. O $ABTS^+$ é solúvel em meios aquosos e não é afetado pela força iônica, portanto é bastante utilizado para determinação de capacidade antioxidante de extratos lipofílicos e hidrofílicos. É utilizado também para estudos de efeitos do pH em mecanismos antioxidantes em uma grande faixa de pH (AWIKA, et al., 2003).

3.7 Oxidação Lipídica pelo método TBARS

Esse método tem como objetivo avaliar a atividade antioxidante de extratos naturais (SMET et al., 2008), avaliar produtos secundários da oxidação lipídica, formado pela decomposição de hidroperóxidos (BUEGE & AUST, 1979) e capacidade de inibição da oxidação lipídica (HIRSCH, 2011).

O método de TBARS, ensaio das substâncias reativas ao ácido tiobartúrico, ainda hoje é um dos mais populares ensaios para estudos relacionados à peroxidação lipídica (SMET et al., 2008).

Para medir a capacidade de inibição da oxidação lipídica, um substrato é oxidado na presença de um íon metálico e a extensão da oxidação lipídica é determinada pela adição de TBA (ácido tiobartúrico), que reage com os produtos da oxidação lipídica principalmente o malonaldeído (MA), formando um composto que pode ser medido espectrofotometricamente. O MA é derivado da ruptura da endociclicização de ácidos graxos poli-insaturados com mais de duas duplas ligações tais como o ácido linoleico, araquidônico e decosa-hexanóico (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2007).

Segundo Antolovich et al. (2001), a oxidação é inibida pela adição de um antioxidante e então a redução da absorvância é vista. É um método simples e sensível (KAPPUS, 1985), mas os ensaios não são específicos para o MA, pois outras substâncias reagem com este composto, como por exemplo, alcanos, alcenos, alcadienos e aldeídos (ESTERBAUER et al., 1984).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

Os filés de tilápia do Nilo frescos foram adquiridos na indústria de filetagem Santa Clara, localizada na Linha Santa Bárbara, nas proximidades da UTFPR Câmpus Francisco Beltrão, no mês de Agosto de 2013. Os extratos de alecrim foram doados pelo projeto de Trabalho de Conclusão de Curso das alunas Leide Chaiane Gaspar Silva e Janaina Martini, que foram extraídos no ano de 2012.

4.2 Métodos

4.2.1 Avaliação do Potencial Antioxidante do extrato de alecrim

4.2.1.1 Avaliação da Atividade Antioxidante Total pelo método FRAP

O método utilizado foi segundo Embrapa (2006). A partir da solução padrão de trolox (2.000 μM), preparou-se em tubos falcon de 10 mL, soluções variando a concentração de 100 μM a 1300 μM , conforme a tabela 1.

Tabela 1. Preparo das soluções para curva-padrão

Ensaio	Trolox (mL)	Água Deionizada (mL)	Concentração final (μM)
1	0,5	9,5	100
2	1	9	200
3	2	8	400
4	3	7	600
5	4	6	800
6	5	5	1000
7	6	4	1200
8	6,5	3,5	1300

Em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 90 μL de cada solução de Trolox (100 μM a 1300 μM) para tubos falcon, acrescentou-se e homogeneizou-se os tubos em um vortex. Após isso manteve-se os tubos em banho-maria a 37°C por 30 minutos. Realizou-se então a leitura em 595 nm em espectrofotômetro, calibrando o equipamento com o reagente FRAP.

A partir do extrato, preparou-se, em tubos falcon, três diluições diferentes em triplicata. Em ambiente escuro transferiu-se uma alíquota de 90 μL de cada diluição do extrato para os tubos falcon e acrescentou-se 141 μL de água deionizada, e 4,40 mL do reagente FRAP, homogeneizou-se em um vortex e manteve-se em banho-maria a 37 °C por 30 minutos. Após isso realizou-se a calibração do espectrofotômetro com álcool metílico e fez-se as respectivas leituras em uma ABS de 595 nm.

4.2.1.2 Avaliação da atividade antioxidante total pelo método ABTS+

Em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 30 μL de cada solução de trolox (100 μM , a 1300 μM) para tubos de ensaio, e misturou-se com 3,0 mL da solução do radical ABTS (previamente preparado) e homogeneizou-se em agitador de tubos. Realizou-se a leitura (734 nm) após 6 minutos da mistura e utilizou-se álcool metílico como branco para calibrar o espectrofotômetro.

A partir do extrato, preparou-se em tubos de ensaio, no mínimo, três diluições diferentes, em triplicata. Em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 30 μL de cada diluição do extrato para tubos falcon com 3,0 mL do radical ABTS $\cdot+$ e homogeneizou-se em vortex. Realizou-se a leitura (734 nm) após 6 minutos da mistura e utilizou-se o álcool metílico, como branco, para calibrar o espectrofotômetro.

4.2.1.3 Determinação de Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos foram realizados através da avaliação da atividade antioxidante pelo método de Folin-Ciocalteu, seguindo a metodologia descrita por Vignoli (2009). 100 μL das amostras de extrato foram

adicionadas à 7,5 mL de água destilada e 300 µL do reagente de Folin-Ciocalteu 0,9N. Agitou-se, misturou-se e após foi acrescida de 1 mL de solução Na₂CO₃ a uma concentração de 20% e 1,1 mL de água destilada e foi misturada então com o auxílio de um vortex.

A reação será mantida à temperatura ambiente por 1 hora. A leitura será realizada a 765 nm. Após esse procedimento, fez-se uma curva de calibração utilizando ácido gálico como padrão nas concentrações de ácido gálico e metanol descritas na tabela 2. (SINGLETON, 1995).

Tabela 2. Valores de concentração de ácido gálico e metanol para a construção da curva de calibração

Ensaio	Ácido Gálico (µL)	Metanol (µL)
1	10	90
2	20	80
3	30	70
4	40	60
5	50	50
6	60	40
7	70	30
8	80	20

4.2.2 Processamento e caracterização dos filés de tilápia *in natura* e defumados

4.2.2.1 Adição de salga dos filés

Os filés foram imersos em salmoura a 10% de sal por 30 minutos, em concentração igual de sal para todos os tratamentos. O cálculo para a concentração de sal, que foi adicionado e a quantidade de água que foi completado, foi o seguinte:

Peso total de filés = 8000 g

Peso de cada tratamento = 8 kg / 6 tratamentos = 1300 g para cada tratamento

Quantidade de sal = 10% ----- x

100% ----- (peso dos filés x2)

Quantidade de água = Foi o dobro do peso de cada tratamento, ou seja:

1300 g (cada tratamento) x 2 = 2600 mL de H₂O

Na tabela 3, encontram-se os valores de água, sal e o peso dos filés para todos os tratamentos (T1, T2, T3, T4, T5 e T6).

Tabela 3 – Valores de sal, água e peso dos filés para todos os tratamentos

Sal (g)	H ₂ O (mL)	Peso filés (g)
260	2600	1300

4.2.2 Adição de extrato aos filés

O extrato foi diluído em água destilada para facilitar a imersão dos filés à solução. Foram realizados seis tratamentos, onde os tratamentos T1 e T2 foram o branco; T3 e T5 foram realizados pelo método de imersão e os tratamentos T4 e T6 foram realizados pelo método de aspersão, conforme a tabela 4. Os filés de tilápia do Nilo foram imersos nessa solução com o extrato e foram mantidos por 30 minutos, para posterior defumação.

Tabela 4. Valores de extrato e seus respectivos métodos

Tratamentos	Extrato (g)	Método
T1	0	-
T2	0	-
T3	0,39 (150 ppm)	Imersão
T4	0,39 (150 ppm)	Aspersão
T5	0,19 (300 ppm)	Imersão
T6	0,19 (300 ppm)	Aspersão

4.2.3 Defumação dos filés

Após a adição de salmoura e de extrato, os filés foram colocados dentro da câmara de defumação, para secagem parcial e defumação (aquecido em câmara de cozimento).

A temperatura do processamento iniciou-se a 40°C e atingiu 80°C no máximo, após a adição da fumaça, com um aumento de 10°C a cada tempo, conforme a Tabela 5. Os filés receberam fumaça por um período de 4 horas. O produto defumado foi embalado e estocado sob refrigeração (5°C), para posterior análise sensorial.

O combustível que foi utilizado para produzir a fumaça foi madeira de guabiroba e, para manutenção da temperatura, o gás de cozinha com controle elétrico da manutenção de temperatura.

Tabela 5. Tempo, temperatura e variação de temperatura no processo de defumação dos filés de tilápia do Nilo

Tempo (min)	Temperatura (°C)	Varição de temperatura (°C)
90	40	10
60	50	10
30	60	10
30	70	10
30	80	10

4.2.4 Determinação de Lipídios

A determinação de lipídios foi realizada pelo método de Bligh-Dyer (1959). Utilizou-se uma mistura de 3 solventes: clorofórmio, metanol e água. Uma amostra dos filés foi misturada com metanol e clorofórmio que estavam numa proporção que formou uma fase só com a amostra. Após adicionou-se mais clorofórmio e água de maneira a formar duas fases distintas, uma de clorofórmio, contendo lipídios, e outra de metanol e água, contendo substâncias não lipídicas. A fase de clorofórmio com gordura foi isolada e, após a evaporação do clorofórmio, obteve-se a quantidade de gordura por pesagem. A matéria graxa total foi extraída com uma mistura de clorofórmio-metanol (2:1 v/v).

4.2.5 Determinação do pH

Foram pesadas 10 g de amostra em um béquer que foi homogeneizado com auxílio de 100 mL de água. Após isso, o conteúdo foi agitado até que as partículas ficassem uniformemente suspensas. Então o aparelho de medição de pH foi calibrado e posteriormente utilizado para medição de pH da amostra (IAL, 2005).

4.2.6 Avaliação da Oxidação Lipídica dos filés defumados pelo método TBARS

Foram pesadas 10 g da amostra final do filé de tilápia do Nilo defumado, em duplicata, homogeneizou-se e acrescentou-se 97,5 mL de água destilada, 2,5 mL de ácido clorídrico 4N, e 5 gotas de antiespumante (8 partes de Span 80 e 1,3 partes de Tween 20) em um erlenmeyer de 500 mL com algumas pérolas de vidro.

Em seguida essa solução foi destilada durante 10 minutos e foi coletado 50 mL dessa solução. Homogeneizou-se o destilado e transferiu-se uma alíquota de 5 um tubo de ensaio com tampa rosqueável. Adicionou-se 5 mL de

TBARS 0,02 M e os tubos foram colocados em banho maria a uma temperatura de 85°C durante 35 minutos.

Os tubos foram resfriados a temperatura ambiente realizou-se as leituras das absorvâncias em espectrofotômetro a 530 nm seguindo a metodologia descrita por Tarladgis *et al.* (1964) e modificado por Crackel *et al.* (1988).

4.3.1 Análises Microbiológicas

4.3.1.1 Preparo e diluição da amostra

Primeiramente pesou-se assepticamente 25 g da amostra diretamente no frasco shot contendo água peptonada 0,1% já estéril e homogeneizou-se. Posteriormente foram preparadas as diluições sucessivas 10^{-2} e 10^{-3} a partir da diluição inicial (10^{-1}), utilizando 1 mL da diluição anterior e acrescentando em um tubo contendo 9 mL de água peptonada. Estas diluições foram utilizadas nas análises descritas a seguir (SILVA, 2007).

4.3.1.2 Contagem de Coliformes Totais – Coliformes Termotolerantes pelo NMP

Pesou-se 25 g de amostra para cada tratamento (T1, T2, T3, T4, T5 e T6) e colocou-se em um frasco shot, 225 mL de Água Peptonada 0,1% e homogeneizou-se. O frasco shot foi considerado a diluição 10^{-1} onde transferiu-se uma alíquota de 1 mL desta diluição para um tubo contendo 9 mL de Água Peptonada 0,1%, tornando-se a diluição 10^{-2} . Por fim transferiu-se uma alíquota de 1 mL da diluição 10^{-2} para outro tubo contendo 9 mL de Água Peptonada 0,1%, sendo esta a diluição 10^{-3} . Fez-se, então, uma triplicata para cada tratamento transferindo-se 1 mL das diluições respectivas para cada tubo correspondente e então incubou-se em estufa em uma temperatura de 35°C por 24-48 horas (SILVA, 2007).

4.3.1.3 Contagem de *Estafilococcus coagulase positiva*

Para realizar a contagem de *Estafilococcus coagulase positiva* inoculou-se 0,1 mL de cada uma das diluições (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) em placas de petri respectivamente identificadas contendo Ágar Baird-Parker enriquecido com gema de ovo e telurito, começando pela maior diluição. Posteriormente o inóculo foi espalhado com alça de Drigalski e incubado em estufa bacteriológica a temperatura de 35° C por 48 horas (SILVA, 2007).

4.3.1.4 Análise de *Salmonella spp.*

Após a preparação da diluição 10-1 incubou-se a 37±1°C por 18±2 horas. A segunda fase da análise, deu-se pela passagem de 0,1mL da primeira fase para um tubo contendo 10mL de Caldo Rappaport Vassiliadis Soja (RVS). E também a inoculação de 0,1mL da primeira fase para o Caldo Selenito Cistina. Os tubos foram incubados em 41,5±1°C por 24±3 horas para o primeiro e 37±1°C por 24±3 horas para o segundo.

Estriou-se uma alçada de cada um dos meios (RVS e Selenito Cistina) em Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD). Incubou-se as placas invertidas a 37±1°C por 24±3 horas. As colônias típicas para *Salmonella*, para o ágar XLD são colônias rosa escuras, com centro preto e zona avermelhada ao redor. Havendo colônias típicas, continua-se então com as análises de confirmação bioquímica (BRASIL, 2003; SILVA, 2007).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análises físico-químicas dos filés *in natura*

Os resultados obtidos nas avaliações físico-químicas dos filés de tilápia do Nilo *in natura* estão apresentados na tabela 6.

Tabela 6. Avaliações físico-químicas dos filés de tilápia do Nilo *in natura*

Parâmetros	Média
Lipídeos (g.100g ⁻¹)	15,256 % ± 0,264
pH	6,100± 0,100
Atividade de Água	0,741 ± 0,00327

Para valores de pH (em triplicata) observou-se que o pH do lote encontrou-se próximo a neutralidade (6,1), dando condições necessárias à rápida ação de enzimas autolíticas, mostrando-se susceptível à reações de oxidação lipídica (MÁRSICO et al., 2006)

Para valores de lipídeos, o teor encontrado foi de 15,25%, valores próximos encontrados por Pigott & Tucker (1990) que foi de 16%. OGAWA & MAIA (1999) citam que o músculo do pescado pode conter de 0,6 a 36% de lipídios. Citam também que os lipídeos apresentam uma maior variação em função do tipo de músculo corporal em uma mesma espécie, por exemplo, em atum a carne dorsal apresenta teores de 1 a 2% de lipídeos, enquanto que a carne abdominal pode alcançar até 20%, onde sexo, idade, época do ano, habitat e dieta, influenciam na quantidade desse componente.

Uma forma de definir a classificação de peixes com alto teor de lipídeos está baseada em uma relação de conteúdo de lipídeos, por exemplo, um pescado com taxa de lipídeos menor que 2% é um pescado com baixo conteúdo de gordura; uma taxa de lipídeos entre 2 e 5% é um pescado moderado e uma taxa maior do que 5% é considerado um pescado com alto conteúdo de lipídeo (PIGOTT & TUCKER, 1990). Neste caso a taxa de lipídeos mostrou-se presente em 15,25% do conteúdo total do pescado, conforme a

classificação de Pigott & Tucker (1990), este lote é considerado como um pescado com alto teor de lipídeos, o que pode ser susceptível à reações oxidativas no alimento.

A atividade de água encontrada foi de 0,741, que foi inferior ao encontrado por SIMÕES (2007) para tilápia do Nilo, sendo, portanto classificado ainda como um alimento de alto teor de umidade.

5.2 Análise de Compostos Fenólicos do extrato de alecrim

Segundo Silva (2012), o alecrim é conhecido como uma fonte de compostos fenólicos, destacando três grupos: ácidos fenólicos, flavonoides e diterpenos fenólicos. Para a realização da análise de compostos fenólicos, preparou-se diferentes concentrações de extrato, necessárias para se avaliar uma quantidade significativa de compostos fenólicos presentes no extrato. O extrato aquoso obtido a partir de 0,0106 g de extrato com 106 µL de metanol, foi de 123,59 mg de AGE/100 g de extrato seco, mostrando-se uma boa fonte de compostos fenólicos, visto que este valor foi superior aos citados pela literatura, que citam valores de 43,22 mg de AGE/100 g de extrato seco para amostras de pimenta malagueta (OLIVEIRA, 2011)

Teixeira (2011) afirma que o conteúdo de compostos fenólicos é determinado pelo processamento de extração, solvente utilizado e também pelo modo e tempo em que o extrato será aplicado no alimento. Sendo assim, o valor de compostos fenólicos encontrado foi devido às características de processamento em que o extrato sofreu durante o fluxograma de fabricação do filé de tilápia defumado.

O conteúdo final de compostos fenólicos em vegetais pode ser influenciado também por fatores como: maturação, espécie, práticas de cultivo, origem geográfica, estágio de crescimento, condições de colheita e processo de armazenamento (DONOVAN et al., 1998; KALT et al., 1999). Deste modo o valor encontrado para fenólicos em extrato de alecrim, pode ser atribuído às diferenças entre folhas oriundas de diferentes condições e locais de cultivo, bem como variações entre os métodos de extração e nas análises realizadas (DONOVAN et al., 1998; KALT et al., 1999).

5.3 Atividade Antioxidante Total do extrato de Alecrim

O teste de FRAP mostra a habilidade de um composto em produzir Fe^{2+} a partir de Fe^{3+} , no qual define a sua força antioxidante (GOULART et al., 2007; PRIOR; WU; SCHAICH, 2005). Neste caso, para a construção da curva de calibração utilizou-se solução padrão de Trolox.

De acordo com o resultado do teste de FRAP, nesse experimento, o extrato alcoólico de alecrim apresentou um poder redutor de 36,73 μM Trolox equivalente/g, valor muito próximo ao encontrado por Milani (2012) (cerca de 23 μMol Trolox equivalente/g) e também por outros autores na literatura.

Pulido, Bravo e Saura-Calixto (2000), observaram que a utilização de diferentes solventes influencia o poder redutor do extrato analisado. Afirmaram também que a determinação do potencial antioxidante determinado pelo FRAP depende do potencial redox dos compostos analisados, que são caracterizados pela complexidade de suas moléculas.

Embora amplamente utilizado na triagem de compostos antioxidantes, o FRAP é realizado em condições que não são encontradas em alimentos ou no organismo humano (pH, radicais livres sintéticos, entre outros fatores (HIRSCH, 2011)

Para análise de ABTS⁺ o valor obtido foi de 12,85 μM Trolox Eq/g, valor muito próximo ao encontrado por Rockenbach (2008) 17,2 μM Trolox equivalente/g.

Zheng e Wang (2001) destacaram também que, devido à diversidade e complexidade das misturas naturais de compostos fenólicos nos extratos herbáceos, é difícil a caracterização e comparação de suas atividades antioxidantes.

Silveira (2012) cita que diversos trabalhos de avaliação de atividade antioxidante utilizam a planta, o óleo ou o extrato, e é difícil se ter uma comparação com outras literaturas, já que a atividade antioxidante pode ser expressa de diversas formas. Confirma também que outro fator que pode

contribuir para essa dificuldade são as modificações introduzidas nas metodologias, tais como os volumes adicionadas das soluções de extrato e/ou de radicais livres.

Essa diferença encontrada nos valores de antioxidante para a amostra analisada também pode ser explicada devido à concentração de fenóis individuais contidos na amostra em diferentes pontos do extrato. As propriedades antioxidantes de compostos fenólicos individuais podem variar de maneira que os mesmos compostos não correspondam às mesmas atividades antioxidantes (TSAO et al., 2005).

5.4 Atividade Antioxidante Total dos filés de tilápia do Nilo defumados acrescidos de alecrim pelo método TBARS

Para a avaliação de atividade antioxidante total pelo método de TBARS, plotou-se os resultados, onde foi avaliada a diferença significativa de inibição oxidativa entre os tratamentos nas seguintes variáveis: aplicação do extrato de alecrim e concentração de extrato de alecrim.

A partir destes dados, obtiveram-se os valores de efeito antioxidante nos filés de tilápia defumados com extrato de alecrim, apresentados em ordem crescente conforme a tabela 7. Observou-se que nos diferentes tratamentos, a oxidação lipídica mostrou-se presente em diferentes níveis, onde os maiores valores para oxidação lipídica foram encontrados nos tratamentos com maior teor de extrato, mostrando a ineficiência dos ensaios.

Isso pode ter sido influenciado por diversos fatores, tais como: quantidade de compostos fenólicos presente no extrato (LAROSA, 2011), alta quantidade de lipídeos presentes na matéria prima *in natura* (PIGOTT; TUCKER, 1990), tempo e temperatura de cozimento, meio de transferência de calor, composição do alimento, por exemplo, a presença de ferro no alimento aumenta a formação de malonaldeído (NEWBURG; CONCON, 1980), cortes na carne e o tipo de produto cárneo a ser analisado (SHAMBERGER, SHAMBERGER; WILLIS, 1977).

Newburg, Concon (1980) e Shamberger, Shamberger, Willis (1977) citam que o emprego de calor na carne resulta em um aumento nos teores de

malonaldeído, sendo assim, o processo de defumação a quente, que foi utilizado durante o processamento dos filés, pode ter influenciado na quantidade de malonaldeído presente, determinando uma maior oxidação lipídica do produto. Os menores níveis de malonaldeído estão relacionados à produtos submetidos a temperaturas mais elevadas de cocção, portanto o produto poderia ter sido defumado à temperaturas maiores (NEWBURG & CONCON, 1980), mas também esse processo poderia levar à diminuição de propriedades sensoriais e nutricionais presentes no pescado, como por exemplo a mudança de textura. Em amostras de pescado de procedências distintas, há uma variação bem marcante nos valores de malonaldeído pelos diferentes métodos de manuseio, condições de armazenamento, idade e procedência das amostras (SIU & DRAPER, 1978).

Em relação a tecidos de pescados, os cortes na região anterior ao tecido ventral são mais vulneráveis à oxidação, sendo assim, possuem uma formação maior de malonaldeído, quando em contato com superfícies contendo ferro em sua composição (LEE & TOLEDO, 1977)

Tabela 7. Apresentação dos dados de oxidação lipídica dos filés de tilápia defumados com extrato de alecrim em mg malonaldeído/kg.

Ensaio	Aplicação do extrato de alecrim	Concentração de extrato de alecrim (ppm)	Oxidação lipídica (após 15 dias de fabricação)* (mg malonaldeído/kg)
T1	Branco	Branco	5,42 ± 0,215 ^a
T6	Aspersão	150	5,66 ± 12,688 ^a
T5	Imersão	150	7,99 ± 0,008 ^a
T4	Aspersão	300	10,09 ± 0,005 ^a
T3	Imersão	300	15,63 ± 0,001 ^a

* média ± desvio padrão

^a letras referentes à amostras iguais (p = 0,05%) letras iguais na mesma coluna não são significativamente diferentes ao nível de 95% de confiança.

Considerando os valores de presença de malonaldeído apresentados na tabela 7, o extrato de alecrim não apresentou influência na inibição da oxidação lipídica, o que mostra que as escolhas dos valores das variáveis para inibição

apresentaram-se insignificantes, mas pode se observar que possivelmente o método de aspersão se faz mais eficiente do que o método de imersão.

5.5 Análises microbiológicas

Para contagem de coliformes totais e coliformes termotolerantes pelo método de NMP (número mais provável), não houve produção de gás nos tubos de duhran, sendo assim não havia contaminação por estes microrganismos.

Das análises microbiológicas para *Estafilococcus coagulase positiva*, não houve crescimento de colônias típicas nas placas contendo Ágar BP enriquecido com emulsão de ovo e sim, houve crescimento de leveduras, mostrando que esse crescimento é devido às questões de higiene na manipulação do produto tanto na matéria-prima, quanto no processamento de salga, adição dos extratos e defumação. Nas análises microbiológicas para *Salmonella spp.*, constatou-se que as amostras estavam isentas de contaminação por este microrganismo.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo foi possível a avaliação físico-química nos parâmetros de pH, lipídeos e atividade de água, obtendo resultados satisfatórios. As determinações realizadas nos files de tilapia do Nilo *in natura* e defumados permitiram obtenção de resultados importantes em relação ao comportamento dos antioxidantes naturais adicionados. A adição do alecrim aos filés mostrou-se eficiente e satisfatória ao que se refere à capacidade antioxidante do mesmo em pequenas proporções, sendo assim o alecrim apresenta uma ótima fonte de compostos fenólicos e antioxidantes que poderão ser incorporados aos alimentos com facilidade.

Os filés *in natura* estavam dentro dos padrões descritos pela literatura, sendo 15,25% de lipídeos, 6,1 para pH e 0,741 para atividade de água. Quanto às atividades antioxidantes, os extratos se mostraram eficientes quando ao quesito antioxidante, porém um valor muito baixo comparando à outros autores (ABTS = 12,85 μM Trolox Eq/g; FRAP = 36,73 μM Trolox equivalente/g compostos fenólicos = 123,59 mg de AGE/100 g de extrato seco. Para oxidação lipídica dos filés defumados (TBARS) em 15 dias, os valores mostraram-se altos (T1 = 5,42 \pm 0,215^a; T6 = 5,66 \pm 12,688^a; T5 = 7,99 \pm 0,008^a; T4 = 10,09 \pm 0,005^a; T3 = 15,63 \pm 0,001^a), sendo assim obteve-se um produto final bastante oxidado, não podendo mais ser consumido.

REFERÊNCIAS

ADITIVOS E ALIMENTOS. **Conservação de Alimentos por aditivos químicos**. Conservação de Alimentos. 2013.

Almela L, Sánchez-Munoz B, Fernández-López JA, Roca MJ, Rabe V. **Liquid chromatographic-mass spectrometric analysis of phenolics and free radical scavenging activity of rosemary extract from different raw material**. J Chromatograph A. 2006; 1120(1):221-9.

ANDERSEN, U. B.; THOMASSEN, M. S.; RØRA, A. M.B. Texture properties of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Effects of diet, muscle fat content and time of storage on ice. **Journal of the Science Food Agriculture**, Chichester, v. 74, nº. 3, p. 347-353, 1997.

ANTOLOVICH, M. et al. Methods for testing antioxidant activity. **The Analyst**, v. 127, p. 183-198, 2001.

ARTS, M. J.; HAENEN, G. R.; VOSS, H. P.; BAST, A.; **Food Chemistry Toxicological** 2004, 42, 45.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. A.O.A.C. **Official methods of analysis**, 16 ed, rev e cum. Washington. D.L. 1997. 1117p

ASSIS, M. F.; FRANCO M. L. R. S.; STÉFANI, M. V.; FRANCO, N. P.; GODOY, L. C.; OLIVEIRA, A. C.; VISENTAINER, J. V.; SILVA, A. F.; HOCH, A. L. V. Efeito do alecrim na defumação da carne de rã (*Rana catesbeiana*): características sensoriais, composição e rendimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. ISSN 0101-2061. Campinas, julho/setembro. 2009.

AWIKA, J. M. et al. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 51, n.23, p.6657-6662, 2003.

BELTRAN, A.; MORAL, A. Changes in fatty acid composition of fresh and frozen sardine (*Sardina pilchardus* W.) during smoking. **Food Chemistry**, Barking, v. 42, p. 99-109, 1991.

BENZIE, I.F.F.; STRAIN, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70-76, 1996.

BERAQUET, N. J. & MORI, E.E.M. Influência de diferentes métodos de defumação na aceitabilidade de cavalinha *Scomber japonicus* Houtt defumada. *Coetânea do ITAL*, v. 14, p. 1-25, 1984.

BONDET, V. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. **Lebensm. Wiss. Technology**, v. 30, p.609, 615, 1997.

BUEGE, J.A.; AUST, S.D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods Enzimology**, v. 52, p. 302 – 310, 1978.

CECCHI, H. M.; Fundamentos Teóricos e Práticos em Análise de Alimentos, Ed. da Unicamp: Campinas, 1999.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2 ed. Lavras: UFLA, 2005.

CHERYAN, M. Phytic acid interaction in food systems. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. 13, 297. 1980.

CUNHA, A. P., SILVA, A. P., ROQUE, O. R. **Plantas e Produtos Vegetais em Fitoterapia**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian. 2003.

DEGASPARI, C.H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades Antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5, n. 1, p.33-40, 2004.

DONOVAN, J. L.; MEYER, A. S.; WATERHOUSE, A. L; Phenolic composition na antioxidante activity of prunes and prune juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, n.4, p.1247-1252, 1998.

ESTERBAUER et al. Detection of malonaldehyde high performance liquid chromatography. **Methods Enzimology**, v. 105, p. 319-328, 1984.

FITZSIMMONS, K. Tilapia: the most important aquaculture species of the 21st century. In: INTERNACIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA AQUACULTURE, 5, 2000, Rio de Janeiro. **Proceedings**. Rio de Janeiro: DPA/MA, 2000. p. 3-8.

FRANKEL, E. N.; MEYER, A. S. The problem of using onedimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.80, p.1925-1941, 2000.

FLICK, G. J. Smoked, cured, and dried fish. In: MARTIN, R. E.; FLICK, G. J. **The sea food industry**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1990. capítulo. 22, p. 381-406.

GIRARD, J. P. Ahumado. In: GIRARD, J. L (Ed.). **Tecnologia de la carne y de los productos cárnicos**. Zaragoza: Acribia, 1991. p.183-229.
Gray, J. I.; J. Am. **Oil Chem. Soc.** 1978, 55, 539.

GOULART, M. O. F.; VASCONCELOS, S. M. L.; MOURA, J. B. F.; BENFATO, M. S.; MANFREDINI, V.; KUBOTA, L. T. Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, antioxidants e marcadores de dano oxidative em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, n.30, v.5, p. 1323-1338, 2007).

HAARD, N. F. Review: control of composition and food quality attributes of cultured fish. **Food Research International**, New York, v. 25, n. 4, p. 289-307, 1992.

HIRSCH, Gabriela Elisa. **Valor nutricional e capacidade antioxidante de diferentes genótipos de amora-prata (Rubus sp.)**. 2011. 100p. Dissertação (pós-graduação em Ciência e Tecnologia em Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina. Santa Maria, RS, 2011.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. **Free Radicals in Biology and Medicine**. Oxford: Oxford University Press, 2007.

HORNER, B. Fish smoking: ancient and modern. **Food Science and Techno-logy Today**, v. 6, n. 3, p.166-171, 1992.

HOMER, W. F. A. Preservation of fish by curing (drying, salting and smoking). In: Hall, G.M. **Fish Processing Technology**. New York: VCH

Publishers, p. 31-71, 1992.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estatística para a pesca de tilápia em 2010. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br/home/default.php>>. Acessado em 24 de fevereiro de 2013.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**. 3.ed. São Paulo: IAL, 2008.

KAPPUS, H. Lipid peroxidation: mechanisms, analysis, enzymology and biological relevance. In: **Sies H, editor. Oxidative stress**. London: Academic Press, 1985. p. 273-310.

LEE, C. M.; TOLEDO, R. T.; *Journal of Food Science*. **1977**, *42*, 1646.

MACEDO-VIEGAS, E.M.; SOUZA, R.M.L.; BACCARIN, A.E. Aspectos mercadológicos de pescados e derivados em algumas cidades das regiões sul e sudeste do Brasil. **Infopesca internacional**, v.6, p.13-22, 2000.

MAGA, J. A. The flavor chemistry of wood smoke. **Food Reviews International**, New York, v. 3, nº. 1-2, p.139-183, 1987.

MÁRSICO, E. T.; MANO, S. B. Tópicos em Controle Físico-Químico de Produtos de Origem Animal (Apostila). **Controle Físico-Químico de Pescado Fresco, Resfriado ou Congelado**, Cap. XII, p. 77-85, 2008.

MILER, K,B.M. & SIKORSKI, Z.E. Smoking. In: Sikorski, Z.E. **Seafood: Resources, Nutritional Composition and Preservation**. Boca Raton: CRC Press, chap. 10, 1990.

MORAIS, C. Princípios da defumação de pescado. In: Simpósio e Workshop: "Tecnologia de salga e defumação de pescado". Guarujá: ITAL, p. 21-2w8, 1994.

NACZK, M., SHAHIDI, F. **Extraction and analysis of phenolics in food**. *Journal Chrom. A*, v. 1054, p. 95-111, 2004.

NEWBURG, D. S.; CONCON, J. M.; *J. Food Sci.* **1980**, *45*, 1681.

OGAWA, M.; MAIA, E. L.; Manual de Pesca., Ciência e Tecnologia do Pescado. São Paulo, Varela, 1999, v. 1, 453 p.

PADRE, R. G. Ácido linoléico conjugado (cla) no músculo *Longissimus dorsi* de bovinos terminados em pastagem. Centro de ciências exatas. UEM, **Dissertação de Pós-Graduação em Química**. 2006.

PANORAMA DA AQUICULTURA. **Tilápias do Nilo ou tilápias vermelhas?** Revista nº 61. p. 13-16. Novembro/dezembro 2000.

PARDI, Miguel Cione; SANTOS, Iacir Francisco dos; SOUZA, Elmo Rampini de; PARDI, Henrique Silva. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. 2.ed. rev. e amp. Goiânia: UFG, c2006-2007. 2 v. : ISBN 85-7274-171-2 (v.1).

PIGOT, G; TUCKER, B. **Sea food effects of technology on nutrition**, 1st edit, Edit Marcel Dekker, INC, New York, USA, 1990.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. **Antioxidant activity of dietary as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay**. Journal Agriculture and Food Chemistry, v. 48, p. 3396-3402, 2000.

PRIOR, R. L. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL) of plasma and biological and food samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 3273-3279, 2003.

PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.10, p. 4290-4302, 2005.

ROCHA, J. **Antioxidantes e suas funcionalidades**. Kemin do Brasil Ltda. 2013.

ROSA, A.; DEIANA, M.; CASU, V.; PACCAGNINI, S.; APPENDINO, G.; BALLERO, M.; DESSIA, M. A. **Antioxidant Activity of Capsainoids**. Journal Agriculture. Food Chemistry, 50, 7396-7401. 2002.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C.; **Free Radical Biology Medicine**. 1999, 26, 1231.

RUFINO, M. S . M; ALVES, R. E.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; JIMÉNEZ, J. P.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Total em Frutas pelo Mértodo de Redução do Ferro (FRAP)**. ISSN 1679-6535, Fortaleza, CE. Dezembro, 2006.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chemistry**, v. 92, p. 235-254, 2005.

SANTOS, L.D.; ZARA, R.F.; VISENTAINER, J.V. et al. Avaliação sensorial e rendimento de filés defumados de tilápia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1757) na presença de alecrim (*Rosmarinus officinalis*). **Ciência Agrotecnica**, v.31, n.2, p.406-412, 2007.

SIGURGISLADOTTIR, S.; SIGURDARDOTTIR, M.S.; TORRISSEN, O. Effects of different salting and smoking processes on the microstructure, the texture and yield of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets. **Food Research International**, v.33, p.847-855, 2000.

SILVA, A. M. O. Efeito dos compostos fenólicos do alecrim na inflamação aguda sobre os marcadores de estresse oxidativo de ratos diabéticos. **Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos**. USP, São Paulo, 2012.

SHAMBERGER, R. J.; SHAMBERGER, B. A.; WILLIS, C. E.; *J. Nutr.* 1977, 107, 1404.

SOUZA, M. L. R.; MACEDO-VIEGAS, E. M. Comparação de quatro métodos de filetagem utilizado para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) sobre o rendimento do processamento. **Infopesca International**, Uruguay, n. 7, p. 26-31, 2001.

SIU, G. M.; DRAPER, H. H.; *Journal of Food Science*. 1978, 43, 1147.

SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS / Editora da UFSC, 819p, 1999.

SIMÕES, M. R.; RIBEIR, C. F. A.; RIBEIRO, S. C. A.; PARK, K. J.; MURR, F. E. X. **Composição físico-química, microbiológica e rendimento do filé de tilápia tailandesa.** Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 27(3): 608-613, jul.-set. 2007.

SILVEIRA, S. M. Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante de extratos vegetais e óleos essenciais e aplicação do óleo essencial de louro (*L. Nobilis*) como agente conservador natural em embutido cárneo fresco. **Programa de graduação em Ciência dos Alimentos.** UFSC, Florianópolis, 2012.

SINGLETON, V. L., ROSSI, J. A. Jr. Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am. **Journal Enology Viticulture**, 16, 144-158. 1965.

SOARES, S. E. **Ácidos fenólicos como antioxidantes.** Revista de Nutrição. Campinas, v. 15, n. 1, 2002.

SUZUKI, T.; IWAI, K. **Constituents of red pepper species: chemistry, biochemistry, pharmacology, and food science of the pungent principle of capsicum species.** In A. Brossi (Ed.). The Alkaloids: Chemistry and Pharmacology (vol. 23, pp. 227–299). Orlando: Academic Press. 1984.

SMET et al. Lipid and protein oxidation of broiler meat as influenced by dietary natural antioxidant supplementation. **Poultry Science**, v. 87, p. 1682–1688, 2008.

TARLADGIS, B.G.; PEARSON, A. M.; DUGAN, L. R. Chemistry of the 2-thiobarbituric acid test for determination of oxidative rancidity in foods – II Formation of the TBA – Malonaldehyde complex without acid-heat treatment. **Journal Science and Food Agriculture**, 15, 602, 1964.

TEIXEIRA, N. C. **Desenvolvimento, caracterização físico-química e avaliação sensorial de suco de jabuticaba.** 2011. 139 f. Dissertação (Graduação em Ciência dos Alimentos). Faculdade de Farmácia da UFMG, Belo Horizonte. 2011.

TSAO, R.; YANG, R.; XIE, S.; SOCKOVIE, E.; KHANIZADEH, S. Which polyphenolic compounds contribute to the total antioxidant activities of apple.

Journal of Agricultural and Food Chemistry, V.53, N.12, P. 4989-4995, 2005.

VASS, Z.; BRECHTELSBAUER, P. B.; NUTTALL, A. L.; MILLER, J. M. **Nitric oxide mediates capsaicin-induced increase in cochlear blood flow.** *Hearing Research*, 100, 114–119. 1996.

VIGNOLI, J. A. **Efeito da matéria-prima e do processamento nos compostos bioativos e na atividade antioxidante do café.** Tese de Pós-graduação em Ciência de Alimentos. UEL. Londrina, 2009.

WARD, A.R. Fish smoking in the tropics: a review. *Tropical Science*, v. 35, n. 1, p. 103-112, 1995.

ZHENG, W.; WANG, S. Y.; **Journal Agriculture Food Chemistry**. 2001, 49, 5165.