

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**GUSTAVO GALL KLUGE  
RAFAEL DE OLIVEIRA FRANCISCO**

**APLICAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO-DA-ÍNDIA COMO  
CONSERVANTE NATURAL EM PRODUTO CÁRNEO**

**MEDIANEIRA**

**2022**

**GUSTAVO GALL KLUGE**  
**RAFAEL DE OLIVEIRA FRANCISCO**

**APLICAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO-DA-ÍNDIA COMO  
CONSERVANTE NATURAL EM PRODUTO CÁRNEO**

**Application of clove essential oil as a natural antioxidant in meat product**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para a obtenção do título de Bacharel do curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador(a): Prof.<sup>a</sup> Dra. Marinês Paula Corso.

Coorientador(a): Prof. Dr. Flávio Dias Ferreira.

**MEDIANEIRA**

**2022**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite que outros remixem, adaptem e criem a partir do seu trabalho para fins não comerciais, desde que atribuam o devido crédito e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

**GUSTAVO GALL KLUGE**  
**RAFAEL DE OLIVEIRA FRANCISCO**

**APLICAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO-DA-ÍNDIA COMO  
CONSERVANTE NATURAL EM PRODUTO CÁRNEO**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação  
apresentado como requisito para obtenção do título  
de bacharel em Engenharia de Alimentos da  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
(UTFPR).

Data de aprovação: **23 de novembro de 2022**

---

Marinês Paula Corso  
Titulação (Doutorado)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Medianeira

---

Flávio Dias Ferreira  
Titulação (Doutorado)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Medianeira

---

Rosana Aparecida da Silva Buzanello  
Titulação (Doutorado)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Medianeira

---

Carolina Castilho Garcia  
Titulação (Doutorado)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Medianeira

**MEDIANEIRA**  
**2022**

## **AGRADECIMENTOS**

A Profa. Dra. Marinês P. Corso e Prof. Dr. Flavio Dias Ferreira, pela valiosa orientação, obrigado pela dedicação e todo conhecimento compartilhado.

A Prof. Rosana Buzanello por todo o auxílio e conhecimento compartilhado.

A todos os professores do Programa de Graduação da UTFPR, pela dedicação e conhecimento transmitidos.

A todos os colegas e companheiros de laboratório que compartilharam conhecimento e experiência.

A Conditec, pelo fornecimento de insumos para realização do trabalho.

A Frimesa Cooperativa Central pelo fornecimento da matéria-prima carne para a realização do trabalho.

Ao Laboratório do Campus Medianeira (CEANMED), da Universidade Tecnológica Federal do Paraná pelo suporte.

Aos membros participantes da banca pelo tempo empregado na análise, críticas e sugestões para aperfeiçoamento deste trabalho.

Aos mestrandos Sthepany e Rangel, e a bolsista Mariane pela ajuda na realização da parte experimental.

A meus pais e toda minha família, agradeço pelo apoio e suporte.

Aos meus amigos por toda ajuda prestada, e todos os que sempre estiveram ao meu lado, me apoiando e tornando este período mais leve e alegre, muito obrigado.

## RESUMO

Com a carne sendo um produto altamente consumido no mundo na atualidade e com fácil degradação, necessita da adição de conservantes para aumento de sua vida útil e a segurança do produto. Paralelamente, a tendência atual se volta ao consumo de alimentos mais naturais e a busca por produtos sem conservantes sintéticos. O óleo essencial (OE) de cravo-da-Índia apresenta um grande potencial antioxidante e antimicrobiano por possuir muitos compostos fenólicos em especial o eugenol, conseguindo romper a membrana citoplasmática das bactérias e causando a morte das mesmas. Além da ação bio sanitizante, possui atividade antioxidante pois consegue impedir a peroxidação dos radicais livres utilizando o dieugenol. Portanto, este estudo objetivou aplicar óleo essencial de cravo-da-Índia como substituto ao antioxidante sintético em linguiça toscana, visando a obtenção de um produto mais natural. Inicialmente, avaliou-se a atividade antioxidante do óleo essencial de cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum*), através das análises de Folin Ciocalteau e ABTS+, para determinar a concentração equivalente de OEs em relação a um antioxidante sintético a base de eritorbato de sódio, a ser utilizado na formulação do produto linguiça toscana. Após, foram elaboradas duas formulações de linguiça toscana com 0,25 e 0,5% de OEs de cravo-da-Índia e uma formulação padrão com eritorbato de sódio para comparação. As formulações foram avaliadas quanto a estabilidade oxidativa pela análise TBARS e formação de metamioglobina durante os tempos 0, 15 e 30 dias da fabricação, além das análises microbiológicas e físico-químicas conforme requerido pela legislação vigente. Os resultados foram analisados por análise de variância e teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Pode-se observar que o óleo essencial apresentou atividade redutora equivalente ao ácido gálico de aproximadamente 55,9% quando comparado ao eritorbato de sódio, conforme literatura e com relação a capacidade doadora de íons hidrogênio pelo método ABTS, demonstrou resposta semelhante ao antioxidante sintético, correspondendo a 97,5%, estabelecendo-se a faixa de estudo de 0,25% (T1) e 0,5% (T2) de concentração do óleo essencial para aplicação em formulação da linguiça Toscana. Pela análise de composição química observou-se que a formulação base usada na elaboração das linguiças resultou em produtos dentro dos padrões legais vigentes, com teor de gordura próximo a 24%. Os resultados microbiológicos das formulações apresentaram-se dentro dos parâmetros da legislação vigente com resultados menores ( $p < 0,05$ ) para contagem de mesófilos na formulação com 0,5% de OE de cravo, durante os 30 dias de armazenamento para as linguiças utilizando o OE de cravo. Em relação a estabilidade oxidativa, para TBARS as formulações demonstraram de maneira semelhante suas respostas ( $p < 0,05$ ) e na determinação de metamioglobina observou-se efeito similar ( $p > 0,05$ ) ao antioxidante sintético, constatando-se que o OE de cravo-da-Índia é um ótimo substituto aos antioxidantes sintéticos, como antioxidante natural para a linguiça toscana e possivelmente para outros produtos cárneos. Além de indicar possível ação sinérgica aos sais de cura melhorando a qualidade microbiológica do produto. Estudo sensoriais para avaliar a aceitação do consumidor, bem como o estudo da substituição do nitrito e ou nitrato de sódio ou potássio, são sugeridos na continuidade do presente trabalho.

Palavras-chaves: *Syzygium aromaticum*; atividade antimicrobiana; atividade antioxidante; linguiça toscana; antioxidantes.

## ABSTRACT

With meat being a highly consumed product in the world today and with easy degradation, it needs the addition of preservatives to increase its shelf life and product safety. At the same time, the current trend is towards the consumption of more natural foods and the search for products without synthetic preservatives. Clove essential oil (EO) has a great antioxidant and antimicrobial potential because it has many phenolic compounds, especially eugenol, managing to break the cytoplasmic membrane of bacteria and causing their death. In addition to the biosanitizing action, it has antioxidant activity as it can prevent the peroxidation of free radicals using dieugenol. Therefore, this study aimed to apply clove essential oil as a substitute for the synthetic antioxidant in Tuscan sausage, aiming to obtain a more natural product. Initially, the antioxidant activity of clove essential oil (*Syzygium aromaticum*) was evaluated through Folin Ciocalteu and ABTS+• analyses, to determine the equivalent concentration of EO in relation to a synthetic antioxidant based on erythorbate of sodium, to be used in the formulation of the Tuscan sausage product. Afterwards, two Tuscan sausage formulations with 0.25 and 0.5% clove EO and a standard formulation with sodium erythorbate were prepared for comparison. The formulations were evaluated for oxidative stability by TBARS analysis and metmyoglobin formation during times 0, 15 and 30 days of manufacture, in addition to microbiological and physico-chemical analyzes as required by current legislation. The results were analyzed by analysis of variance and Tukey's test ( $p \leq 0.05$ ). It can be observed that the essential oil showed a reducing activity equivalent to gallic acid of approximately 55.9% when compared to sodium erythorbate, according to the literature and in relation to the hydrogen ion donor capacity by the ABTS method, it showed a similar response to the synthetic antioxidant, corresponding to 97.5%, establishing the study range of 0.25% (t1) and 0.5% (t2) of essential oil concentration for application in the formulation of Tuscan sausage. By analyzing the chemical composition, it was observed that the base formulation used in the preparation of sausages resulted in products within the current legal standards, with a fat content of approximately 24%. Regarding the microbiological results of the formulations, they were within the parameters of the current legislation with better results ( $p < 0.05$ ) for counting mesophiles in the formulation with 0.5% clove EO, during the 30 days of storage for sausages using clove EO. Regarding oxidative stability, for TBARS the t1 formulation (0.25% essential oil) showed a better response ( $p < 0.05$ ) and in the determination of metmyoglobin a similar effect ( $p > 0.05$ ) was observed for the synthetic antioxidant, noting that clove EO is a great substitute for synthetic antioxidants, as a natural antioxidant for Tuscan sausage and possibly other meat products. In addition to indicating a possible synergistic action to the curing salts, improving the microbiological quality of the product. Sensory studies to assess consumer acceptance, as well as the study of the substitution of nitrite and/or sodium or potassium nitrate, are suggested in the continuation of this work.

**Keywords:** *Syzygium aromaticum*; antimicrobial activity; antioxidant activity; Tuscan sausage; antioxidants.



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> –_Formulações base para 10 kg de linguiça toscana crua .....	24
<b>Tabela 2</b> - Comparação entre Óleo Essencial de cravo-da-Índia e eritorbato de sódio. .....	28
<b>Tabela 3</b> - Padrões Microbiológicos para linguiça toscana_ .....	29
<b>Tabela 4</b> – Contagem de Aeróbios Mesófilos em amostras de linguiça frescal suína controle e adicionada de óleo essencial durante o período de armazenamento a 2°C .....	30
<b>Tabela 5</b> - Composição centesimal das amostras_ .....	31
<b>Tabela 6</b> - Resultados de formação de metamioglobina (%) para as linguiças toscanas com extrato de café e com Eritorbato de sódio durante a vida útil de 30 dias. ....	32
<b>Tabela 7</b> - Resultado da análise de TBARS (mg de TBARS kg <sup>-1</sup> de amostra) para as amostras de linguiça toscana com Óleo essencial de cravo-da-Índia como antioxidante e com eritorbato de sódio durante a vida útil de 30 dias_ .....	33

## LISTA DE SIGLAS E ACRÔNIMOS

A525	Absorbância a 525 nm
A572	Absorbância a 572 nm
A700	Absorbância a 700 nm
ABTS	2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico
ANOVA	Análise de variância
b.u.	base úmida
BHA	Butil-hidroxianisol
BHT	Hidroxitolueno butilado
Controle	Formulação de linguiça padrão com eritorbato de sódio
DCCR	Delineamento Composto Central Rotacional
EAG	Equivalente ao Ácido Gálico
EqTrolox	Equivalente ao Trolox
MetMb	Metamioglobina
MetMb	Metamioglobina
OxyMb	Oximioglobina
PG	Propil Galato
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
ROS	Substâncias Reativas ao Oxigênio
RPM	Rotação por minuto
RTIQ	Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade
T1	Linguiça toscana com 0,25% de Óleo Essencial de cravo-da-Índia
T2	Linguiça toscana com 0,5% de Óleo Essencial de cravo-da-Índia
TBA	Ácido Tiobarbitúrico

TBARS	Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
TBHQ	Terc-butilhidroquinona
TEP	1,1,3,3-tetraetoxipropano
UV	Ultra Violeta

## LISTA DE SÍMBOLOS

$R^2$	Coeficiente de determinação
g	Gramma
$^{\circ}\text{C}$	Graus celsius
h	Hora
L	Litro
$\text{m v}^{-1}$	Massa por volume
m	Metro
$\mu$	Micro
mg	Miligramma
mL	Mililitro
mM	Micromol
min	Minuto
M	Mol
nm	Nanômetro
$\text{O}_2$	Oxigênio
Kg	Quilogramma
RPM	Rotação por minuto
v	Volume

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>13</b>
<b>2.1 Objetivo Geral</b> .....	<b>13</b>
<b>2.2 Objetivos Específicos</b> .....	<b>13</b>
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>14</b>
<b>3.1 Importância mercadológica da carne suína e seus derivados</b> .....	<b>14</b>
<b>3.2 Linguiça suína frescal</b> .....	<b>14</b>
<b>3.3. Oxidação da carne e derivados</b> .....	<b>15</b>
<b>3.4. Uso de antioxidantes pela indústria cárnea</b> .....	<b>17</b>
<b>3.5 Conservantes Naturais</b> .....	<b>18</b>
<b>3.6 Cravo-Da-Índia</b> .....	<b>18</b>
3.6.1 Origem e história do Cravo-da-Índia .....	19
3.6.2 Características botânicas .....	19
3.6.3 Caracterização química do cravo-da-Índia .....	20
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>22</b>
<b>4.2 Determinação da atividade antioxidante do óleo essencial de cravo-da-Índia</b> .....	<b>22</b>
4.2.1 Fenólicos totais .....	<b>22</b>
4.2.2 ABTS+• .....	<b>23</b>
<b>4.3 Desenvolvimento do produto</b> .....	<b>23</b>
<b>4.4 Caracterização físico-química das amostras</b> .....	<b>24</b>
<b>4.5 Avaliação da Estabilidade microbiológica do produto</b> .....	<b>25</b>
<b>4.6 Avaliação da estabilidade oxidativa das amostras</b> .....	<b>25</b>
4.6.1 TBARS .....	<b>25</b>
4.6.2 Formação de metamioglobina .....	<b>26</b>
<b>4.7 Análise estatística dos dados</b> .....	<b>26</b>
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>28</b>
<b>5.1 Atividade antioxidante do óleo essencial de cravo-da-Índia</b> .....	<b>28</b>
<b>5.2 Análises Microbiológicas</b> .....	<b>29</b>
<b>5.3 Composição Centesimal</b> .....	<b>31</b>
<b>5.4 Porcentagem de Formação de Metamioglobina</b> .....	<b>31</b>
<b>5.5 Medida de oxidação lipídica</b> .....	<b>32</b>
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	<b>35</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>36</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A carne suína e seus derivados estão entre as principais fontes de proteína animal no mundo. Segundo Brasil (2021) no segundo trimestre de 2021 foram abatidos aproximadamente 13,04 milhões de suínos, tendo um aumento de 2,9% quando comparado com o primeiro trimestre do mesmo ano e 7,6% quando comparado com o mesmo trimestre de 2020.

Nutricionalmente, a carne suína é considerada uma excelente fonte de aminoácidos e ácidos graxos essenciais, além de apresentar alguns minerais e vitaminas, como as vitaminas A e B12 (BURIN *et al.*, 2016). Rica em nutrientes é um dos alimentos mais consumidos, porém, devido a sua composição e ao seu processamento, se torna favorável à oxidação, o que pode ocasionar queda na sua qualidade, através de modificações sensoriais no produto, e conseqüentemente falta de aceitação na hora da compra, trazendo também riscos à saúde do consumidor, pois a formação de produtos da oxidação pode ocasionar danos no organismo do consumidor (ROSA; MATUMOTO-PINTRO, 2021).

Para evitar a oxidação dos produtos cárneos a indústria faz uso de antioxidantes sintéticos, tais como o Butil-hidroxianisol (BHA), Butilhidroxitolueno (BHT), Terc-butilhidroquinona (TBHQ) e o Propil Galato (PG) (HUANG *et al.*, 2011). No entanto busca por ingredientes mais naturais, que substituam os sintéticos tradicionais, devido a problemas que estes podem causar à saúde do consumidor (ROSA; MATUMOTO-PINTRO, 2021; VENCATO, 2020).

De acordo com Busatta *et al.* (2007) os óleos essenciais (OEs) se apresentam como líquidos oleosos aromáticos que podem ser extraídos de diferentes partes da planta, sendo estas as flores, sementes, folhas, raiz, frutos, madeiras, ervas, botões, galhos e cascas, sendo uma mistura complexa de hidrocarbonetos, álcoois, ésteres, aldeídos, compostos carboxílicos e, em alguns casos, fenilpropanóides. E se destacam por sua ação bio sanitizante (MOLINARI *et al.*, 2021), com atividades antimicrobianas semelhantes ao tratamento químico, mesmo sendo um produto natural, apresentam potencial de uso no controle microbiano seguro e viável no produto (DIAS *et al.*, 2021).

Atualmente, a utilização de OEs para aumentar o tempo de vida útil da carne e derivados vem sendo tema de muitas pesquisas, comprovando a possibilidade do

uso dos mesmos nesse tipo de alimento (GAIO *et al.*, 2015; SHARAFATI-CHALESHTORI *et al.*, 2015; ZENGIN; BAYSAL, 2015). A Comissão Europeia aprovou muitos compostos presentes nos OEs para aplicação nos alimentos, pois não mostraram nenhum risco à saúde do consumidor. Alguns exemplos são o carvacrol, carvona, cinamaldeído, citral, *p*-cimeno, eugenol, mentol, limoneno e timol. A *Food Drug and Administration* (FDA) rotulou os mesmos como substâncias seguras, *Generally Recognized As Safe* (GRAS), assim como aditivo alimentar aprovado (BURT, 2004). A alteração nas características sensoriais se torna um dos principais problemas no emprego dos OEs nos alimentos pois apresentam aroma intensificado, como o eugenol, carvacrol e timol dificultando a utilização de grandes concentrações nos alimentos (MADSEN; BERTELSEN; SKIBSTED, 1997). No entanto, para determinados casos a utilização de grandes concentrações do óleo se torna necessária para que o resultado antimicrobiano e antioxidante seja o alcançado (SMITH *et al.*, 2005).

A *Syzygium aromaticum*, popularmente conhecido como cravo-da-Índia, é uma especiaria amplamente consumida em todo o mundo. Seu óleo essencial é composto por diversos compostos, entretanto, o eugenol ganha destaque devido inúmeras atividades biológicas, sendo um composto aromático e grandemente utilizado nas áreas industriais médica e de alimentos, possuindo ação antimicrobiana (CASTRO *et al.*, 2016), tendo também atividade antioxidante, sendo que o eugenol aparece de forma majoritária em sua composição. Sua atividade antimicrobiana se deve ao fato de o mesmo conseguir adentrar na membrana citoplasmática das bactérias e rompê-la causando a morte das mesmas. Em testes feitos, o mesmo mostrou eficiência contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* (RADÜNZ, 2017), e sua atividade antioxidante devido utilizar o O<sub>2</sub> ativo e formar o dieugenol que impede a peroxidação dos radicais livres (AFFONSO; RENNÓ; SLANA, 2012).

Portanto, avaliar a viabilidade do uso de óleo de cravo como substituto à conservantes, tais como os antioxidantes sintéticos em produtos cárneos, pode ser uma alternativa para a obtenção de produtos estáveis durante a vida útil e mais naturais, atendendo a demanda dos consumidores por produtos mais saudáveis.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar o efeito conservante do óleo essencial de cravo-da-Índia em linguiça frescal suína toscana em substituição ao antioxidante sintético.

### **2.2 Objetivos Específicos**

Avaliar a atividade antioxidante do óleo essencial de cravo-da-Índia pelos métodos ABTS e Folin Ciocalteau.

Determinar a atividade antioxidante equivalente a um antioxidante comercial para produtos cárneos.

Aplicar óleo essencial de cravo-da-Índia em um produto cárneo cru curado (linguiça frescal tipo toscana) em substituição total aos antioxidantes sintéticos.

Efetuar a caracterização físico-química das amostras de linguiça toscana desenvolvidas.

Analisar a influência do óleo essencial de cravo-da-Índia na estabilidade microbiológica do produto cárneo, conforme exigido na legislação.

Avaliar a influência do óleo essencial de cravo-da-Índia na estabilidade oxidativa do produto desenvolvido pelo método de TBARS e percentual de metamioglobina.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Importância mercadológica da carne suína e seus derivados

Segundo a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) a carne suína é a fonte de proteína animal mais consumida em todo o mundo, tendo um sabor diferenciado e marcante. A cadeia produtiva do Brasil tem sua produção voltada para a qualidade da carne, com o objetivo de que a produção seja suficiente para que possa alimentar a todos os brasileiros e conseguir exportar para outros continentes. O Brasil conta com uma cadeia produtiva organizada e voltada para a qualidade da carne. Nos meses de abril e junho deste ano no Brasil se abateu 14,07 milhões de suínos, em comparação com o ano passado teve um acréscimo de 7,2% e em relação ao primeiro trimestre de 2022 um aumento de 3% (BRASIL, 2022).

A Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA), destaca no Relatório anual referente ao ano de 2021 que o Brasil ainda ocupa a 4ª posição no *ranking* de produção mundial de carne suína (108.949 mil toneladas), sendo que 75,8% da produção permaneceu no mercado interno, com consumo *per capita* de 16,7 Kg, sendo consumida principalmente na forma de produtos industrializados, enquanto 24,2% foi destinado às exportações, principalmente na forma de cortes (aproximadamente 90%) (ABPA, 2022). Entre os produtos cárneos processados as linguiças frescas estão as mais comuns em todo o mundo (SILVEIRA *et al.*, 2014).

#### 3.2 Linguiça suína frescal

De acordo com a legislação vigente entende-se como linguiça “o produto cárneo industrializado, obtido de carnes de animais de açougue, adicionados ou não de tecidos adiposos, ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial”. São ingredientes obrigatórios carnes de diferentes espécies de animais de açougue e sal, podendo possuir ingredientes opcionais tais como: gordura, água, proteína vegetal e/ou animal; açúcares, plasma, aditivos, aromas, especiarias e condimentos. Suas características sensoriais são de textura, cor, sabor e odor característicos, e as características físico-químicas da linguiça frescal são: umidade máxima de 70%,

gordura máxima de 30%, proteína mínima de 12% e cálcio em base seca de no máximo 0,1% (BRASIL, 2000). Sua definição é de acordo com sua caracterização, nesse trabalho consistindo de linguiça de carne suína frescal.

Os desafios enfrentados no processamento de linguiça frescal, tendo em vista que em sua fabricação a matéria-prima é moída, consistem no aumento da superfície de contato favorecendo crescimento microbiano e oxidação, outro fator importante é que a mesma não é submetida a nenhum tratamento térmico para diminuir a microbiota, além de apresentar altos níveis de atividade de água, conseqüentemente esses fatores acarretam em uma vida útil curta do produto (MILANI *et al.*, 2003). As buscas por aplicações tecnológicas para o aumento da durabilidade das características durante o tempo de vida útil, vem se intensificando para amenizar esses fatores que colocam em risco a qualidade e durabilidade do produto.

### **3.3. Oxidação da carne e derivados**

A deterioração por oxidação lipídica é uma das principais causas de deterioração dos alimentos, podendo provocar alterações que não afetam apenas o sabor e odor desagradável, podendo resultar na formação de substâncias no produto, comprometendo a integridade e segurança do mesmo (OSAWA *et al.*, 2005). Sua ocorrência pode ser resultado de diferentes processos sendo estas reações hidrolíticas, oxidação enzimática, fotoxidação e auto-oxidação, sendo a auto-oxidação o maior responsável pela oxidação lipídica em carnes e derivados, por sua da composição ter grandes quantidades de ácidos graxos insaturados e íons ferro, de processamentos utilizados como cocção e moagem, além do uso de cloreto de sódio, reconhecido catalisador desta reação (ROCHA GARCIA *et al.*, 2002). Tendo associação à reação do oxigênio com os ácidos graxos insaturados e ocorre em três etapas gerais: iniciação, propagação e terminação (PERUMALLA; HETTIARACHCHY, 2011). Iniciando-se quando um átomo de hidrogênio é retirado da instauração da molécula de ácido graxo (R-H), ocasionando na formação de um radical livre, R•. Os radicais livres formados acabam interagindo com o oxigênio atmosférico, sendo convertidos em outros radicais (ROO•), atraindo átomos de hidrogênio a partir de outra molécula lipídica ocasionado na formação de outro radical livre (ocasionado na formação dos peróxidos e hidroperóxidos). Esta reação é chamada de propagação de cadeia, com a mesma terminando quando dois radicais

livres se combinam, formando produtos estáveis (ROOR) (VENKATARAMAN; SCHAFER; BUETTNER, 19 2004; RAMALHO; JORGE, 2006). Além de outras substâncias que podem ser geradas durante o processo como hidrocarbonetos, ácidos, álcoois e cetonas (ARAÚJO, 1999). Alternativas como embalagens a vácuo, atmosfera modificada e os antioxidantes vem sendo utilizados e desenvolvidos para reduzir ou retardar a oxidação lipídica e assim aumentar a vida de prateleira de produtos cárneos (LIMA JR. *et al*, 2013).

O processo de oxidação das proteínas e lipídios se inicia de forma semelhante, onde os radicais livres ou substâncias reativas ao oxigênio (ROS) reagem com a molécula alvo, ocasionando a reação em cadeia de oxidação, o que sugere uma interação entre esses processos (ESTÉVEZ, 2011; FALOWO; FAYEMI; MUCHENJE, 2014; FAUSTMAN *et al.*, 2010).

A oxidação proteica se dá em início quando uma ROS subtrai um átomo de hidrogênio da molécula de proteína produzindo um radical centrado no carbono (C•) o qual na presença de oxigênio acaba sendo em um radical peróxido de alquil (COO•). Subseqüencialmente a forma reduzida de ferro (Fe<sup>2+</sup>) tem-se a inclinação de produzir peróxido de alquila (COOH). Diferentes reações levam a geração do radical alcoxi (CO•) e seu decorrente hidroxila (COH). Na ausência de oxigênio, dois carbonos reagem entre eles para gerar reticulados carbono-carbono. Além dessas rotas, o peróxido de alquil e os derivados de radicais alquila podem sofrer reação de clivagem por via de diamida ou de amidação. A propagação da oxidação proteica é devida a dependência do agente oxidante e do seu alvo, e finaliza com múltiplos mecanismos (CUNHA *et al.*, 2018; SOLADOYE *et al.*, 2015).

As consequências da oxidação de proteica na carne são a produção de carbonilas de proteínas, perda de grupos sulfidril e formação de redes de proteínas, os quais resultam na mudanças das características do produto sendo pela alteração da cor e textura, perda de qualidade nutricional, incluindo digestibilidade de aminoácidos e proteínas e perda de funcionalidade das proteínas (CUNHA *et al.*, 2018).

A oxidação de proteínas tem como resultado a conversão da mioglobina em metamioglobina. Sendo a mioglobina a proteína heme que resulta a cor natural da carne. Esse pigmento pode existir em três estados químicos, mioglobina reduzida, de cor vermelho púrpura, mioglobina oxigenada ou oximioglobina (OxyMb), de coloração vermelho brilhante e mioglobina oxidada ou metamioglobina (MetMb), de coloração

marrom. Através da oxidação do átomo central de ferro no grupo heme ocorre a conversão da cor vermelha OxyMb para o marrom MetMb, quando o ferro heme ferroso oxida para sua forma férrica, o oxigênio é liberado e substituído por uma molécula de água (FAUSTMAN *et al.*, 2010). O ferro que foi liberado pode atuar como catalisador da oxidação lipídica e, assim, uma maior concentração de ferro e mioglobina costumam estar interligadas a maiores taxas de oxidação lipídica, além de a formação de metamioglobina ocasiona na produção de produtos intermediários, como ânion superóxido e peróxido de hidrogênio, o que aumenta a taxa de oxidação de ácidos graxos insaturados (CUNHA *et al.*, 2018; FAUSTMAN *et al.*, 2010).

### **3.4. Uso de antioxidantes pela indústria cárnea**

Os antioxidantes podem ser descritos como compostos que, em baixas concentrações, podem retardar ou inibir a oxidação dos lipídios, proteínas e nucleotídeos, por suprimir a iniciação de reações em cadeia de oxidação (GUPTA; SHARMA, 2006; TACHAKITTIRUNGROD; OKONOJI; CHOWWANAPHOONPOHN, 2007). Compostos antioxidantes tem sua utilização em larga escala sendo utilizados nas indústrias alimentícias, medicina e cosméticos, por sua ação de defesa contra os radicais livres (BIANCHI; ANTUNES, 1999). Podendo o antioxidante ser classificado em sintéticos ou natural. Os antioxidantes sintéticos atualmente mais utilizados são o Butil-hidroxianisol (BHA), Butilhidroxitolueno (BHT), Terc-butilhidroquinona (TBHQ) e o Propil Galato (PG) (HUANG *et al.*, 2011). Os antioxidantes naturais são substâncias bioativas que podem ser extraídas de plantas e vegetais, e que em relação aos antioxidantes sintéticos demonstram baixa toxicidade (SADGHI *et al.*, 2015). Os antioxidantes sintéticos são utilizados em larga escala na produção industrial de alimentos, com o intuito de prolongar a vida desses produtos. No Brasil, a Resolução nº 272 de 14 de março de 2019 regula a utilização de aditivos como antioxidantes nos produtos cárneos (BRASIL, 2019). Porém, uma das preocupações na utilização dos antioxidantes sintéticos se dá graças aos aspectos toxicológicos e efeitos carcinogênicos que eles apresentam (GHARAVI *et al.*, 2007; HONORATO *et al.*, 2013). Atualmente, o número de consumidores que rejeitam o consumo de produtos com aditivos alimentares sintéticos tem crescido. Ocasionalmente maior quantidade de estudos que procuram a utilização de compostos naturais eficazes, com atividade

antioxidante e não tóxicos (CUNHA *et al.*, 2018; MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2007), eritorbato de sódio é utilizado na produção de cárneos com a função principal de acelerar a formação da cor. e apresentar uma forte ação antioxidante, prevenindo o desenvolvimento de rancidez oxidativa (COUNSELL; HORNIG, 1981).

### **3.5 Conservantes Naturais**

Antioxidantes são utilizados pela indústria de alimentos visando a preservação do produto e o prolongamento de seu tempo de vida. Os conservantes convencionais comumente utilizados tem riscos à saúde humana, o que ocasionou uma busca por novas alternativas para conservação dos alimentos, visando a saudabilidade. Uma alternativa é o uso de conservantes que tenham origem vegetal, seus condimentos, óleos essenciais e extratos obtidos deles (MARTELLI, 2021; ROSA; MATUMOTO-PINTRO; 2021; VENCATO, 2020). Consideradas as principais fontes de antioxidantes e tendo ação conservante, as plantas e ervas mostram a existência de componentes antioxidantes e antimicrobianos em suas composições, com seus efeitos protetores que fazem crer-se que seus benefícios à saúde estejam relacionados aos mesmos, abordando as espécies reativas de oxigênio que desempenham um papel importante em vários patógenos, envelhecimento prematuro, doenças crônicas e degradação oxidativa de cosméticos, alimentos e produtos farmacêuticos (ALDOSARY *et al.*, 2021).

Os objetivos para a pesquisa de derivados de vegetais consistem em além do entendimento das estruturas biológicas e o isolamento de seus compostos, também a utilização na indústria, com grande ênfase na área de alimentos, com o interesse de conservação do produto durante o tempo de vida útil, mantendo tanto suas características nutricionais como as sensoriais. A busca dessa aplicação tem crescido nos últimos anos (TONET; ZARA; TIUMAN; 2019).

### **3.6 Cravo-Da-Índia**

### 3.6.1 Origem e história do Cravo-da-Índia

O Cravo-da-Índia é oriundo das ilhas Molucas no Arquipélago de Molucas localizado no país da Indonésia. O mesmo está na família das Myrtaceae, seu nome científico já foi *Eugenia caryophyllata* Tumb. No Brasil, é reconhecido por vários nomes sendo eles o cravo, cravinho, cravo-de-cabecinha, cravina-de-túnes e rosa-da-Índia (OLIVEIRA, 2017). Atualmente seu nome científico é *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry (AFFONSO; RENNÓ; SLANA; 2012).

A sua utilização vem sendo feita desde a antiguidade, os chineses o utilizavam de diversas maneiras a dois mil anos atrás, sendo elas como condimento, medicamentos, para a elaboração de perfumes e como incenso. Há histórias de que era utilizado pelos chineses quando iam conversar com o imperador para disfarçar seu hálito. Os egípcios antigamente faziam uso do cravo como um fortificante para trabalhadores homens que estavam construindo as pirâmides (RODELLA, 2015).

Segundo RADÜNZ (2017) seu cultivo dentro do país é feito na região Nordeste do Brasil, sendo a Bahia o principal estado a cultivá-lo, com uma produção de dois mil e quinhentas toneladas colhidas todos os anos

### 3.6.2 Características botânicas

A árvore craveiro-da-Índia tem seu ciclo perene (não necessita ser replantada após sua colheita), crescendo a uma altura que pode variar entre 10 e 12 metros. Possui grandes folhas ovais e suas flores de cor vermelha apresentam um grande número de grupos de cachos terminais. O tempo de vida do craveiro-da-Índia pode chegar a 100 anos e em alguns casos raros atingir até 150 anos (GOMES *et al.*, 2018). Com uma copa alongada característica, sua principal utilização é a extração industrial do óleo essencial a partir de seus botões florais, folhas entre outras partes da planta. O chá dos botões florais tem uso difundido entre a população em função de sua ação estimulante das funções digestivas. Tem utilização na Índia de forma medicinal para tratar de problemas respiratórios e transtornos alimentares, com propriedades antissépticas e antibióticas, para criação caseira de enxaguantes bucais e também durante a escovação para limpeza dental (COSTA, 2011).

### 3.6.3 Caracterização química do cravo-da-Índia

O cravo-da-Índia é uma rica fonte de compostos fenólicos sendo estes o eugenol, acetato de eugenol e ácido gálico. Seu óleo essencial é reconhecido pela atividade antimicrobiana e poder antioxidante, com grande potencial nas industriais de alimentos, farmacêuticas, agrícolas e outras (FARIAS, 2019).

Seu botão tem a concentração de 17% de óleo essencial e o talo pode variar entre 4,5 a 6,0%. O óleo de cravo contém como principal componente o eugenol, em um percentual aproximado de 84%, em seguida o  $\beta$ -cariofileno, com um total de aproximadamente 11%, e o  $\alpha$ -humuleno (1%). Além destes, alguns outros compostos estão presentes em quantidades menores, sendo um deles o álcool benzílico, porém suas proporções podem acabar tendo variações grandes (SCHERER, 2009; GOMES *et al.*, 2018).

A atividade antioxidante se deve ao  $\alpha$ -tocoferol um antioxidante endógeno que atua contra a peroxidação lipídica protegendo a membrana celular, o eugenol tem ação tanto antioxidante como antimicrobiana, conseguindo inibir a peroxidação lipídica utilizando o  $O_2$  ativo para formar o dieugenol que juntamente com o  $\alpha$ -tocoferol impedem a propagação da peroxidação dos radicais livres, enquanto sua ação bactericida, é devido a capacidade de romper a membrana citoplasmática, em razão da sua facilidade na infiltração da mesma, o que acaba gerando a morte da bactéria (AFFONSO; RENNÓ; SLANA; 2012).

O óleo essencial tem a atividade bactericida analisada através de testes para a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*. (RADÜNZ, 2017).

## **3.7 Aplicação de óleo essencial como antioxidante e antimicrobiano em alimentos e produtos cárneos**

A conservação de alimentos vem sendo um desafio, em relação a criação de novos alimentos no mercado, que necessitam de estabilidade na estocagem e proteção contra microrganismos (MARINO *et al.*, 2001; BURT, 2004). A conservação da carne envolve a aplicação de medidas para retardar ou prevenir alterações microbiológicas, químicas ou físicas que a tornam imprópria para o consumo ou que

reduzem alguns aspectos da sua qualidade (KINSMAN *et al.*, 1994). Tem-se exigência do consumidor por produtos com a presença de baixas concentrações de aditivos sintéticos ou a ausência dos mesmos nos alimentos e que tenham um pequeno impacto no ambiente (BURT, 2004).

Nessa conjuntura, as atenções estão voltadas para o uso de conservantes naturais, extraído de plantas, pois os mesmos apresentam em sua composição propriedades funcionais. Entre os antioxidantes naturais mais estudados, se apresentam os óleos essenciais (BAKKALI *et al.*, 2008; BURT, 2004). Tendo a capacidade de sobreviver a temperatura de refrigeração e congelamento a *Listeria Monocytogenes* se torna um grande desafio da indústria alimentícia em produtos cárneos prontos para o controle de sua contaminação (MYTLE *et al.*, 2006). De acordo com Menon e Garg (2001) os trabalhos voltados ao óleo essencial de cravo evidenciaram a atividade antilistérica do mesmo, mas com ressalvas que em altas concentrações pode alterar as características sensoriais do produto. Para López *et al.* (2005), para a atividade antimicrobiana dos OEs observou-se resultados que apresentaram uma eficiente ação antibacteriana e antifúngica. Esses autores também observaram que os óleos tiveram uma potência maior para os fungos, seguido das bactérias gram positivas, sendo *Pseudomonas aeruginosa* a bactéria que apresentou maior resistência ao óleo essencial. Travassos (2021) estudou o uso de óleo de cravo-da-Índia e orégano em mortadela mista demonstrou que as formulações com antioxidantes naturais tiveram uma resposta na estabilidade oxidativa melhor que a formulação com BHT. Oliveira (2017) estudou o óleo de cravo-da-Índia e pimenta-da-Jamaica em linguiça frescal de frango, os resultados encontrados, demonstraram um potencial na utilização como uma fonte antioxidante natural na indústria alimentícia para o controle da oxidação lipídica em produtos cárneos.

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Material**

O óleo essencial de cravo-da-Índia utilizado neste trabalho foi obtido no comércio local. Para a elaboração de formulação de linguiça suína frescal toscana foram utilizados retalhos de carne suína resfriados e toucinho doados pela Cooperativa Frimesa de Medianeira-PR. Os demais ingredientes e aditivos foram fornecidos pela IBRAC (São Paulo-SP) e Conditec (Medianeira-PR). Para as análises foram utilizados reagentes e meios de cultura de padrão analítico.

### **4.2 Determinação da atividade antioxidante do óleo essencial de cravo-da-Índia**

O óleo essencial de cravo-da-Índia foi avaliado quanto a sua atividade antioxidante pela determinação de fenólicos totais e ABTS. Os resultados foram comparados aos resultados obtidos por Fetsch (2021) para uma amostra de antioxidante comercial composta por eritobato de sódio.

#### **4.2.1 Fenólicos totais**

Para determinação teor de fenólicos totais empregou-se o método de Folin-Ciocalteu conforme Vignoli, Bassoli e Benassi (2011). As amostras (0,1 mL) de óleo de cravo com concentração de 6 mg mL<sup>-1</sup> de etanol foram adicionadas de 7,5 mL de água deionizada e seguidamente de 0,3 mL do reagente de Folin Ciocalteu 0,9 mol L<sup>-1</sup>. Após realizado uma agitação, adicionou-se 1 mL de solução de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20% e 1,1 mL de água destilada. A solução foi armazenada em temperatura ambiente por 60 minutos, após esse período realizou-se leitura em espectrofotômetro a 760 nm. Soluções com cinco concentrações conhecidas de ácido gálico com uma faixa de 0,5 mmol L<sup>-1</sup> a 7 mmol L<sup>-1</sup> foram utilizadas para fazer a calibração. Os resultados obtidos foram expressos como g de ácido gálico (EAG) 100 g<sup>-1</sup> de amostra.

#### 4.2.2 ABTS+•

Em relação a determinação da atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS+•, a atividade antioxidante do OEs teve sua determinação feita através da descrição de Sánchez-González, Jiménez-Escrig e Saura-Calixto (2005). A reação entre a solução estoque de ABTS 7 mmol L<sup>-1</sup> com solução de persulfato de potássio 2,45 mmol L<sup>-1</sup> resulta na produção do cátion ABTS+•. Após elaborado o cátion ABTS+• foi armazenado em um frasco escuro a temperatura ambiente em um intervalo de tempo de 16 horas antes da utilização. Após o período diluiu-se com tampão fosfato (pH 7,4) para obter uma absorbância de 0,7 a 730 nm. Após foi adicionado 10 µL da amostra ou de padrão Trolox para 4 mL da solução ABTS+• diluída, para a realização das leituras da absorbância a 730 nm após 6 minutos de reação. Para a realização da calibração empregou-se soluções de Trolox em etanol com concentrações conhecidas (2,5; 5,0; 7,5; 12,5 e 20,0 µmol L<sup>-1</sup>). Os resultados foram expressos como capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (CAET) 100 g<sup>-1</sup> de amostra.

#### 4.3 Desenvolvimento do produto

A formulação base a ser utilizada, consistiu de forma majoritária de carne suína (paleta/retalhos), seguido da gordura, aditivos e condimentos, seguido pela mistura dos mesmos, em quantidades definidas através de testes. Os produtos foram elaborados de acordo com a RDC nº 272 (BRASIL, 2019a) e Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (BRASIL, 2000).

Os teores de óleo essencial de cravo-da-Índia foram aplicados em uma formulação convencional de linguiça toscana (Tabela 1). Foram estabelecidas duas concentrações a serem utilizadas, sendo baseada a partir da comparação entre a atividade antioxidante do eritorbato de sódio (FETSCH, 2021) e do OE.

O preparo das amostras foi realizado no laboratório de industrialização de carnes da UTFPR Campus Medianeira, consistindo nas seguintes etapas, inicialmente pesou-se a matéria-prima e os insumos a serem utilizados, na sequência foi realizada a moagem da carne em um *cutter* (MADO, Garant MTK 661, Alemanha), após a moagem, a carne foi adicionada dos demais ingredientes, exceto do antioxidante, e

homogeneizada. Em seguida, a massa de carne foi dividida em 3 partes e em cada uma delas foi adicionada a quantidade necessária de antioxidante, de acordo com a Tabela 1, a massa foi novamente homogeneizada e em seguida embutida em tripa natural em embutideira (IV20, série V195001, RB engineering, Italy). Após embutidas as amostras foram divididas, de acordo com as análises a serem realizadas, e então, embaladas em embaladora a vácuo (Microvac CV8, Selovac, São Paulo, Brasil). As amostras foram na sequência avaliadas por análises microbiológicas, índices de oxidação e composição centesimal. Para avaliação da estabilidade oxidativa e microbiológica ao longo de 30 dias (nos tempos 1, 15 e 30 dias), foram armazenadas sob resfriamento a  $(2 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C})$ . Foram produzidos um total de 9 kg de amostra, divididos em 3 kg para cada formulação avaliada.

**Tabela 1 - Formulações de linguiça toscana desenvolvidas**

Ingredientes	Tratamentos (F)		
	Controle	T1	T2
Carne suína	90,50	90,50	90,50
Água gelada	3,00	3,00	3,00
Gelo	3,00	3,00	3,00
Sal	2,00	2,00	2,00
Cura rápida	0,25	0,25	0,25
Eritorbato de sódio	0,5	-	-
Óleo essencial de cravo-da-Índia	-	0,25	0,5
Condimento para linguiça Toscana	0,50	0,50	0,50
Alho em pó	0,20	0,20	0,20
Pimenta branca	0,02	0,02	0,02
Glutamato monossódico	0,40	0,40	0,40
Orégano	0,02	0,02	0,02
Tempero verde	0,02	0,02	0,02

Fonte: Autoria própria (2022)

#### 4.4 Caracterização físico-química das amostras

As análises físico-químicas de proteína, umidade, lipídios e cinzas foram realizadas segundo os métodos descritos pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), para a formulação base. Para a determinação da análise de proteínas realizou-se através da metodologia de Kjeldahl clássico, sendo o teor de nitrogênio total convertido em proteína multiplicando-se pelo fator 6,25. O teor de lipídios foi determinado usando a extração direta em Soxhlet com éter de petróleo. A umidade foi determinada por secagem em estufa a  $105 \text{ }^\circ\text{C}$ , até peso constante. E o teor de cinzas por incineração

em mufla a 550 °C, até alcançar peso constante. A determinação de carboidratos foi feita somando os demais constituintes e subtraído o total obtido de 100 (Carboidratos totais % = 100 – (Umidade+ Proteínas + Lipídios + cinzas)).

A determinação de cálcio foi efetuada pelo processo de calcinação seguido de análise de volumetria utilizando-se o EDTA conforme descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2005).

Todas as análises citadas foram efetuadas em triplicata, após a fabricação (tempo 1 dia).

#### **4.5 Avaliação da estabilidade microbiológica do produto**

As análises da estabilidade microbiológica do produto desenvolvido foram feitas conforme exigido pela legislação, Instrução Normativa nº 60 de 23 de setembro de 2019 (BRASIL, 2019) para linguiça frescal, para a contagem total de mesófilos, *Salmonella* sp e *Escherichia coli*/g. As análises tiveram sua realização em triplicata e foram executadas no tempo de 1, 15 e 30 dias de elaboração do produto. As metodologias de análises seguiram conforme descrito no Manual de Métodos e de Análise Microbiológica em Alimentos e Água (SILVA *et al.*, 2017).

#### **4.6 Avaliação da estabilidade oxidativa das amostras**

A estabilidade oxidativa das amostras quanto a oxidação de gorduras e proteínas foi determinada conforme descrito na sequência, nos tempos 1, 15 e 30 dias após elaboração dos produtos, sendo as análises realizadas em triplicata.

##### **4.6.1 TBARS**

Para determinação de oxidação lipídica utilizou-se o índice de TBARS (*Thiobarbituric Acid Reactive Substances*), segundo a metodologia descrita por Tarladgis, Pearson e Jun (1964) e modificado por Crackel *et al.* (1988) usando 10 g

de amostra e feito hidrólise utilizando 98 mL de água deionizada, 2,5 mL de ácido clorídrico 4 mol L<sup>-1</sup> e 2 gotas de antiespumante (8 partes de Span 80 + 1,3 partes de Tween 20), em erlenmeyer de 500 mL. Seguidamente houve a destilação da solução por 10 min e coletados 50 mL de destilado, o mesmo sendo homogeneizado e em triplicata, alíquotas de 5 mL transferidas para um tubo de ensaio com tampa rosqueável. Após adicionado 5 mL de solução de TBA 0,02 mol L<sup>-1</sup> colocados em banho-maria a 85 °C por 35 minutos, resfriados a temperatura ambiente e feito a leitura em espectrofotômetro UV - Visível (modelo Libra S22, Marca Biochrom) a 530 nm. Preparou-se uma curva padrão utilizando solução de 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) em água deionizada nas concentrações de 0,004 a 1,0 mol L<sup>-1</sup> de TEP. Para verificação da exatidão do método foi feito uma recuperação do mesmo a partir da comparação de absorbâncias da solução padrão, da solução padrão adicionada de amostra, e da amostra. Os resultados em triplicata foram expressos em mg de malonaldeído kg<sup>-1</sup> de amostra.

#### 4.6.2 Formação de metamioglobina

A oxidação proteica teve a determinação estimada de forma indireta, analisando-se a oxidação do grupo heme da mioglobina. O percentual de formação de metamioglobina foi avaliado segundo Krzywicki (1982). A amostra (5 g) foi solubilizada em 25 mL de tampão fosfato (40 mmol L<sup>-1</sup>) a pH 6,8. Homogenizou-se essa mistura com o auxílio de um Ultra-Turrax a 6500 RPM por 30 min a 4 °C. Logo após realizou-se a centrifugação do homogenato a 5000 g por 30 min a 4 °C. O sobrenadante foi após filtrado com papel de filtro Whatman n. 1. A absorbância foi lida em espectrofotômetro a 525, 572 e 700 nm e os valores percentuais de metamioglobina estimados conforme Equação 1 abaixo.

$$MetMb = \left\{ 1,395 - \frac{(A_{572} - A_{700})}{(A_{525} - A_{700})} \right\} \times 100 \quad (1)$$

#### 4.7 Análise estatística dos dados

Os dados coletados foram avaliados estatisticamente através de análise de variância, ANOVA e comparação de médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão da média (DPM). As análises estatísticas foram desenvolvidas com o suporte do software Statistica 8.0 (Statsoft Inc.).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 Atividade antioxidante do óleo essencial de cravo-da-Índia

Os resultados encontrados nas análises antioxidantes pelos métodos ABTS e fenólicos totais para óleo essencial de cravo-da-Índia em comparação com o eritorbato de sódio estão dispostos na Tabela 2.

**Tabela 2 - Comparação da atividade antioxidante do óleo essencial de cravo-da-Índia e eritorbato de sódio**

<b>Antioxidante</b>	<b>Fenólicos totais (g EAG 100 g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS<sup>••</sup> (g Eq Trolox 100 g<sup>-1</sup>)</b>
Óleo Essencial de cravo-da-Índia*	44,77 ± 7,00	121,61 ± 4,57
Eritorbato de sódio**	80,01 ± 0,46	124,70 ± 0,92

**Fonte: \*Autoria própria (2022); \*\* Fetsch (2021)**

Os resultados observados (Tabela 2) demonstram que o óleo essencial de cravo-da-Índia apresentou teor de fenólicos totais pela determinação da atividade redutora equivalente ao ácido gálico de aproximadamente 55,9% quando comparado ao eritorbato de sódio, conforme determinado por Fetsch (2021). Já com relação a capacidade doadora de íons hidrogênio pelo método ABTS, demonstrou resposta semelhante ao antioxidante sintético, correspondendo a 97,5% da atividade aproximadamente. Portanto, considerando os resultados equivalentes ao antioxidante comercial comumente utilizado pela indústria cárnea cujas concentrações aplicadas são de aproximadamente 0,5%, conforme recomendação do fabricante, e as características sensoriais do óleo essencial do cravo-da-Índia, definiu-se duas concentrações (0,25 e 0,5%) a serem aplicadas no produto linguiça tipo toscana, a fim de avaliar a estabilidade microbiológica e principalmente a estabilidade oxidativa do produto.

Travassos (2021) encontrou um valor de compostos fenólicos de 0,344g/ 100 g EAG se mostrando abaixo do encontrado neste trabalho. Radünz (2017) teve resposta de 0,009 g/ 100 g EAG, Wang *et al.* (2009) encontrou valor de 0,480 g/ 100 g EAG se mostrando um resultado abaixo do encontrado, os valores para compostos

fenólicos que são responsáveis em atuar no radical para evitar a oxidação, podem ter variado pela concentração de eugenol presente na amostra de óleo pois a concentração do mesmo pode variar dependendo das condições onde é colhido ou da parte da planta que é retirado sendo que sua composição química pode variar de 45 à 90% (ZHENG *et al.*, 1992).

Segundo trabalho feito por Teixeira (2017), que trabalhou com veiculação de óleo de *Syzygium aromaticum* L. em sistema microemulsionado e suas derivatizações, os extratos de cravo demonstraram uma atividade de eliminação ABTS com variação entre 49,4% a 99,4%, enquanto a neste trabalho realizado encontrou-se uma atividade de eliminação de 97,7%, em equivalência ao eritorbato de sódio. Barakat (2014) encontrou para o estudo do ABTS de cravo-da-Índia um valor de 17 g/ 100 g em equivalência de Trolox, valor inferior ao encontrado no presente trabalho, porém como a atividade foi medida através do óleo essencial de cravo-da-Índia extraído dos botões da planta pode ter modificado a concentração do eugenol.

## 5.2 Análises microbiológicas

A Tabela 3 demonstra os padrões microbiológicos especificados para linguiça toscana pela Instrução Normativa nº 60, BRASIL (2019).

**Tabela 3 - Padrões Microbiológicos para linguiça toscana**

Micro-organismo	n	c	m	M
<i>Salmonella</i> /25 g	5	1	Ausência	-
<i>Escherichia coli</i> /g	5	3	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
Aeróbios mesófilos/g	5	3	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>

**m: limite microbiológico que, em um plano de três classes, separa unidades amostrais de "Qualidade Aceitável" daquelas de "Qualidade Intermediária" e que, em um plano de duas classes, separa unidades amostrais de "Qualidade Aceitável" daquelas de "Qualidade Inaceitável"; M: limite microbiológico que, em um plano de três classes, separa unidades amostrais de "Qualidade Intermediária" daquelas de "Qualidade Inaceitável"; n: o número de unidades amostrais a serem coletadas aleatoriamente de um mesmo lote e analisadas individualmente (n); c: número de unidades amostrais toleradas com qualidade intermediária.**

Fonte: Brasil (2019)

Os valores médios de aeróbios mesófilos podem ser visualizados na Tabela 4. As contagens iniciais (dia 1) variaram de  $1,57 \times 10^3$  à  $6,38 \times 10^3$  UFC/g, indicando qualidade aceitável, de acordo com o permitido pela legislação vigente, que estabelece limite de até  $10^6$  UFC/g para aeróbios mesófilos (BRASIL, 2019). A linguiça

frescal suína adicionada de OE de cravo, na concentração de 0,5% (T2), apresentou a menor contagem em todos os tempos, não tendo diferença significativa, no dia 1º, porém nos dias 15º e 30º, demonstrou menor contagem com diferença significativa.

**Tabela 4 - Contagem de Aeróbios Mesófilos em amostras de linguiça frescal suína controle e adicionada de óleo essencial durante o período de armazenamento a 2°C**

<b>Contagem de Aeróbios Mesófilos (UFC/g)</b>			
<b>Tratamentos</b>	<b>Dia 1º</b>	<b>Dia 15º</b>	<b>Dia 30º</b>
Controle	6,83x10 <sup>3</sup> ± 0,02 <sup>ca</sup>	6,00x10 <sup>4</sup> ± 0,00 <sup>ba</sup>	7,52x10 <sup>5</sup> ± 0,14 <sup>aA</sup>
T1	3,37x10 <sup>3</sup> ± 0,05 <sup>ca</sup>	5,00x10 <sup>4</sup> ± 0,00 <sup>ba</sup>	6,27x10 <sup>5</sup> ± 0,12 <sup>aB</sup>
T2	1,57x10 <sup>3</sup> ± 0,05 <sup>ca</sup>	3,20x10 <sup>4</sup> ± 0,04 <sup>bb</sup>	2,00x10 <sup>5</sup> ± 0,35 <sup>aC</sup>

**UFC: Unidade formadora de colônia. T1: Linguiça toscana com 0,25 % de Óleo de cravo-da-Índia; T2: Linguiça toscana com 0,5 % de Óleo de cravo-da-Índia; Controle: linguiça toscana padrão (com eritorbato de sódio); Resultados expressos pela média ± desvio padrão (n=3); Médias com diferentes letras minúsculas sobrescritas entre as colunas e letras maiúsculas entre as linhas indicam diferença significativa entre as amostras pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05).**

**Fonte: Autoria própria (2022)**

Os resultados em relação a adição de OE, mostram-se melhores em relação ao controle (p<0,05), onde o tratamento T2 o qual tem a maior concentração de óleo essencial em sua formulação demonstra do dia 15º até o dia 30º resultados melhores que o controle e tratamento T1, para aeróbios mesófilos, verificando assim maior eficácia do óleo essencial em relação ao eritorbato de sódio. Porém, nota-se também que todos os tratamentos estão com sua qualidade microbiológica aceitável dentro dos padrões exigidos pela legislação.

A contagem de coliformes a 45 °C pela metodologia NMP, mostrou que não houve crescimento do mesmo, e provando sua eficácia para controle de crescimento para coliformes em principal a *Escherichia coli*, demonstrando resultado de <2 NMP/ml, ficando com valores abaixo do permitido pela legislação vigente Brasil (2019), para todas as amostras e em todos os tempos de armazenamento.

O trabalho realizado por Oliveira (2017) com linguiça de frango com adição de OE de cravo, demonstrou crescimento de coliformes nos tratamentos, podendo isso ser possível pela contaminação oriunda da matéria prima.

Para *Salmonella sp.*, um dos principais patógenos presente em produtos de origem avícola e suína, a legislação, Brasil (2019), estabelece a ausência em 25 g de amostra. Neste trabalho, em todos os tratamentos não ocorreu a detecção da presença de *Salmonella sp.* durante os 30 dias de armazenamento a 2 °C.

Um estudo realizado por Zengin e Baysal (2015) com carne picada armazenada a 4 °C por 9 dias, demonstrou que o OE de cravo delimitou o crescimento de coliformes e *Salmonella typhimurium*, demonstrando que o OE tem propriedades bacteriostáticas e inibidoras significativas para a conservação de produtos.

Gomes *et al.* (2018) detectaram a eficiência do OE de cravo-da-Índia em análises *in vitro*, contra as bactérias *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella ssp.*

### 5.3 Composição centesimal

Na Tabela 5 são apresentados os resultados das análises de composição centesimal, cinzas, proteína, carboidratos, umidade e gordura, para a formulação base da linguiça, onde é possível constatar que os padrões físico-químicos de máximo 70% de umidade e de 30% de gordura e mínimo de 12% de proteína, cálcio de 0,1% estabelecidos pelo RTIQ para linguiças (BRASIL, 2000) foram atendidos.

**Tabela 5 - Composição centesimal das amostras**

Constituinte	Percentual (%)
Cinzas	4,94 ± 0,19
Proteína bruta b.u.	12,04 ± 0,03
Carboidratos totais	2,24 ± 0,13
Umidade	56,55 ± 0,12
Lipídios	24,14 ± 0,27
Cálcio	0,09 ± 0,02

b.u.: base úmida; Resultados expressos pela média ± desvio padrão (n=2).

Fonte: Autoria própria (2022)

### 5.4 Porcentagem de formação de metamioglobina

Os resultados obtidos pela análise de formação de metamioglobina são mostrados na Tabela 6.

**Tabela 6 - Resultados de formação de metamioglobina (%) para as linguiças toscanas com óleo essencial de cravo-da-Índia e com eritorbato de sódio durante a vida útil de 30 dias**

Tempo (dias)	Controle	T1	T2
1	75,77 ± 1,73 <sup>aA</sup>	65,46 ± 0,07 <sup>bB</sup>	67,32 ± 0,03 <sup>bB</sup>
15	77,26 ± 0,11 <sup>aA</sup>	79,95 ± 0,20 <sup>aA</sup>	78,28 ± 0,45 <sup>aA</sup>
30	80,62 ± 0,02 <sup>aA</sup>	78,08 ± 0,97 <sup>aA</sup>	82,84 ± 5,42 <sup>aA</sup>

**T1: Linguiça toscana com 0,25 % de Óleo de cravo-da-Índia; T2: Linguiça toscana com 0,5 % de Óleo de cravo-da-Índia; Controle: linguiça toscana padrão (com eritorbato de sódio); Resultados expressos pela média ± desvio padrão (n=3); Médias com diferentes letras minúsculas sobrescritas entre as colunas e letras maiúsculas entre as linhas indicam diferença significativa entre as amostras pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).**

**Fonte: Autoria própria (2022).**

Os resultados de formação de metamioglobina mostram que houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) nos resultados entre as amostras T1 e T2 em comparação a controle, referente ao dia 1, sendo maiores valores obtidos para o controle, sem adição de OE e com eritorbato de sódio. Já ao longo dos 30 dias, não houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) para nenhuma das amostras estudadas, não sendo observada uma formação de metamioglobina significativa capaz de diferir entre as amostras. Sendo assim demonstrado que a oxidação protéica não acarretou em relevância no produto, que tem como uma das consequências a conversão da mioglobina em metamioglobina (FAUSTMAN *et al.*, 2010). Sendo que a formação de metamioglobina acarreta na formação de produtos intermediários, sendo o ânion superóxido e peróxido de hidrogênio, o que ocasiona em um aumento da taxa de oxidação de ácidos graxos insaturados (CUNHA *et al.*, 2018; FAUSTMAN *et al.*, 2010). Conforme observado os resultados encontrados nesse trabalho confirmam a eficiência do OE cravo-da-Índia como antioxidante aplicado a linguiça toscana.

## 5.5 Medida de oxidação lipídica

A análise de oxidação lipídica por meio da metodologia de TBARS quantifica o composto malonaldeído, um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos dos ácidos graxos formados durante o processo de oxidação. Os valores de TBARS das amostras de linguiça toscana com óleo essencial e com eritorbato de sódio estão dispostos na Tabela 7.

**Tabela 7 - Resultado da análise de TBARS (mg de malonaldeído kg<sup>-1</sup> de amostra) para as amostras de linguiça toscana com óleo essencial de cravo-da-Índia como antioxidante e com eritorbato de sódio durante a vida útil de 30 dias**

Tempo (dias)	Controle	T1	T2
1	0,04 ± 0,01 <sup>aB</sup>	0,07 ± 0,00 <sup>aC</sup>	0,06 ± 0,04 <sup>aB</sup>
15	0,12 ± 0,13 <sup>bB</sup>	0,36 ± 0,03 <sup>aA</sup>	0,31 ± 0,09 <sup>aA</sup>
30	0,27 ± 0,11 <sup>aA</sup>	0,19 ± 0,03 <sup>aB</sup>	0,22 ± 0,04 <sup>aA</sup>

Resultados expresso em mg de malonaldeído kg<sup>-1</sup> de amostra; T1: Linguiça toscana com 0,25% de Óleo essencial de cravo-da-Índia; T2: Linguiça toscana com 0,5% de Óleo essencial de cravo-da-Índia; Controle: linguiça toscana padrão (com eritorbato de sódio); Resultados expressos pela média ± desvio padrão (n=5); Médias com diferentes letras minúsculas sobrescritas entre as colunas e letras maiúsculas entre as linhas indicam diferença significativa entre as amostras pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

**Fonte: Autoria própria (2022).**

Esses resultados indicam que a formação de malonaldeído não ocorreu de forma considerável durante o tempo analisado, demonstrando que houve diferença significativa para o 15 dia, entretanto, para os dias 1 e 30 não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ).

Kim, Cho e Han, (2013) estudaram a aplicação de 0,5% de extratos naturais de folhas verdes (extrato de Chamnamul e extrato de Fatsia), utilizando 0,5% de hidroxitolueno butilado (BHT) como controle positivo em hambúrgueres, sendo armazenados a 4 °C por 12 dias. Seus resultados mostraram respostas superiores para as amostras com extrato naturais e com BHT quando comparados com o trabalho, demonstrando um maior controle do óleo essencial de cravo-da-Índia sobre a oxidação lipídica.

Em sua maioria os estudos utilizando a aplicação de antioxidantes naturais em produtos cárneos resfriados, demonstram um tempo de vida útil de no máximo 18 dias (KIM; CHO; HAN, 2013; PATEIRO *et al.*, 2018; VALENCIA *et al.*, 2008) onde, os resultados encontrados para a formação de malonaldeído, são semelhantes ou superiores aos encontrados neste trabalho, o que mostra que a aplicação de óleo essencial de cravo-da-Índia como antioxidante apresentou resultados satisfatórios de redução do processo de oxidação.

Os limites sugeridos para TBARS (equivalentes MDA), para que ocorra detecção de ranço pelo consumidor, são de 0,5 mg kg<sup>-1</sup> no caso de carnes e 1,0 mg kg<sup>-1</sup> para linguiças (BLOUKAS; PANERAS; FOURNITZIS, 1997) o que indica que a

ação antioxidante do óleo essencial de cravo-da-Índia foi eficiente para controlar a oxidação lipídica nas amostras de linguiça até o 30º dia, assim como o eritorbato de sódio.

## 6. CONCLUSÃO

Foi possível constatar a capacidade antioxidante e efeitos antimicrobianos positivos do óleo essencial de cravo-da-Índia utilizado, comprovando a eficácia em relação a conservantes químicos usualmente utilizados, principalmente em relação ao antioxidante (eritorbato de Sódio) na produção de produtos cárneos (linguiça frescal tipo Toscana).

Os resultados demonstram que o óleo essencial de cravo-da-Índia apresentou atividade antioxidante semelhante, quando comparado à atividade antioxidante do eritorbato de sódio, utilizado como padrão. O óleo essencial de cravo-da-Índia apresentou atividade antioxidante, implicando no potencial protetor contra os radicais livres. A utilização do óleo essencial não impactou a composição centesimal demonstrando um resultado de 24% de lipídios, e sua ação antioxidantes em relação aos aeróbios mesófilos teve resposta de menor contagem em relação ao eritorbato de sódio demonstrando assim maior ação antimicrobiano no produto.

Portanto, pode-se concluir que o óleo essencial de cravo-da-Índia teve ação significativa no controle microbiológico e oxidativo, demonstrando um potencial de uso na substituição dos conservantes sintéticos usualmente utilizados em produtos cárneos.

Trabalhos futuros com estudo sensorial visando avaliar a aceitação sensorial das amostras bem como o estudo da substituição do nitrito e ou nitrato de sódio ou potássio, são sugeridos como continuidade do presente trabalho.

## REFERÊNCIAS

- ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. Relatório Anual 2022. Disponível em: <<https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2022/05/Relatorio-Anual-ABPA-2022-1.pdf>>. Acesso em: 09 nov. 2022.
- AFFONSO R. S, RENNÓ, M.N.; SLANA,, G.B.C.A.; FRANÇA, T.C.C. Aspectos químicos e biológicos do óleo essencial de cravo da Índia. **Revista Virtual de Química**, v. 4, p. 146-161, 2012.
- ALDOSARY, S. K. *et al.* Antioxidant and antimicrobial activities of Thymus vulgaris essential oil contained and synthesis thymus (Vulgaris) silver nanoparticles. **Brazilian Journal of Biology**. 2021, v. 83. Disponível em <https://www.scielo.br/j/bjb/a/FP8RPFGPmBYKcdv9hwtJHJM/> Acesso em: 29 nov 2021.
- ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 2.ed. Viçosa: UFV; 1999.
- BAKKALI, F. *et al.* Biological effects of essential oils – a review. **Food Chemistry Toxicological**. v. 46 p. 446-475, 2008.
- Barakat, H. Composition, Antioxidant, Antibacterial Activities and Mode of Action of Clove (Syzygium aromaticum L.) Buds Essential Oil ( Syzygium aromaticum L.)Buds Essencial Oil. **British Journal of Applied Science & Technology**, v. 4, n13, p. 1934–1951, 2014.
- BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.
- BLOUKAS, J. D.; PANERAS, E.D.; FOURNITZIS G.C. Effect of replacing pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. **Meat Science**, v. 45, n. 2, p. 133–144, 1997.
- BRASIL, I, C. Abate de suínos bate recorde no segundo trimestre, diz IBGE. AgênciaBrasil. 2022. Disponível em: <https://agenciabrasil.ebc.com.br/economia/noticia/2022-09/abate-de-suinos-bate-recorde-no-segundo-trimestre-diz-ibge>. Acesso em: 27 out 2022.
- BRASIL. (MAPA). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 60 de 23 de setembro de 2019. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 26 dez. 2019.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Instituto Adolfo Lutz. **Métodos Físico-químicos para análise de alimentos**. Brasília, 2005.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Linguiça e de Salsicha, em conformidade com os Anexos desta Instrução Normativa.Ministério da Agricultura, Pecuária e

Abastecimento (MAPA), 2000.

BRASIL. RDC Nº 272, DE 14 DE MARÇO DE 2019. Estabelece os aditivos alimentares autorizados para uso em carnes e produtos cárneos. **Diário Oficial da União**, nº 52, Seção 1, p. 194, 18 de março, 2019a.

BURIN, C. P., FUZIKAWA, S. I. H., A, S.K., MENDES, F.A. R., TONISSI, R. H., GOES, B. Características nutracêuticas da carne e sua importância na alimentação humana. REDVET. **Revista Electrónica de Veterinaria**. 2016, v. 17, n. 12, p 1-15.

BURT, S. A.; REINDERS, R. D. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. **Letters in Applied Microbiology**, v. 36, p. 162-167, 2003.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

BUSATTA, C. *et al.* Evaluation of *Origanum vulgare* essential oil as antimicrobial agent in sausage. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 610-616, 2007.

CASTRO, J., ENDO, E. H.; DIAS, B. P. F., ABREU, B. A. F. Atividade antifúngica do óleo essencial de cravo (*Eugenia caryophyllus*) e eugenol contra isolado de *Alternaria alternata*. II CONGRESSO PARANAENSE DE MICROBIOLOGIA E SIMPÓSIO SUL-AMERICANO DE MICROBIOLOGIA AMBIENTAL. Londrina, 2016. **Anais [...]**. Londrina, 2016. Disponível em <https://proceedings.science/cpm/papers/atividade-antifungica-de-oleo-essencial-de-cravo--eugenia-caryophyllus--e-eugenol-contra-isolado-de-alternaria-alternata>. Acesso em: 29 nov 2021.

COSTA, A.R.T *et al.* Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. 2011, v. 13, n. 2, pp. 240-245. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/qnJd5sDFvnHS6yv5nGWRF4g/?lang=pt>. Acesso 23 nov 2021.

COUNSELL, J. N.; HORNIG, D. H. Vitamin C (ascorbic acid). England: Applied Science, 1981. Cap. 7.

CRACKEL, R. H. L. *et al.* Effect of Antioxidants on Lipid Stability in Restructured Beef Steaks. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 2, p. 656–657, 1988.

CUNHA, L. C. M. *et al.* Natural antioxidants in processing and storage stability of sheep and goat meat products. **Food Research International**, v. 111, n. 2017, p. 379–390, 2018.

Dias, F. H. C ., Nunes, M. S. ., da Silva, E. C. ., Silva, E. G. de F., da Silva, H. F. ., & Nascimento, L. C. 2021. Efeito dos óleos essenciais na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho crioulo. **Scientific Electronic Archives**, v. 14, n.9, 2021. Disponível em: <https://sea.ufr.edu.br/SEA/article/view/1349/1479>. Acesso em: 15 out 2021.

ESTÉVEZ, M. Protein carbonyls in meat systems: A review. **Meat Science**, v. 89, n. 3, p. 259–279, 2011.

FALOWO, A. B.; FAYEMI, P. O.; MUCHENJE, V. Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. **Food Research International**, v. 64, p. 171–181, 2014.

FARIAS, P. K. S., *et al.* Atividade antioxidante do óleo essencial de plantas condimentares e efeito sobre culturas lácticas e bactérias patogênicas. **Ciência Rural**. 2019, v. 49, n. 2. Disponível em <https://www.scielo.br/j/cr/a/RKCSxyMsChg36jSyHWXzj3q/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 25 nov 2021.

FAUSTMAN, C. *et al.* Myoglobin and lipid oxidation interactions: Mechanistic bases and control. **Meat Science**, v. 86, n. 1, p. 86–94, 2010.

FETSCH, V, T. **Obtaining coffee extract for application as a natural antioxidant in Tuscan sausage**, 2021. 110f. Project (Master's Degree) - Post-Graduate Program in Food Technology, Federal Technological University of Paraná. Medianeira, 2021.

GAIO, I. *et al.* Antibacterial activity of basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.) in Italian-type sausage. **Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit**, v. 10, n. 4, p. 323- 329, 2015.

GHARAVI, N.; HAGGARTY, S.; EL-KADI, A. O. Chemo protective and carcinogenic effects of tert-butylhydroquinone and its metabolites. **Current Drug Metabolism**, v. 8, n. 1, p. 1-7, 2007.

GOMES, P. R. B., MOUCHREK, V. E. F., RABÊLO, W. F., ALBUQUERQUE, A. N., LOUZEIRO, H. C., LYRA, W. S., FONTENELE, M. A., Antioxidant activity of essential oils from condiment plants and their effect on lactic cultures and pathogenic bacteria, **Revista Colombiana de Ciências Químico Farmacêuticas**, v. 47, n. 1, p 37-52, 2018.

GONZÁLEZ, S. I.; ESCRIG, J, A.; CALIXTO, S, F. In vitro antioxidant activity of coffees brewed using different procedures (Italian, espresso and filter). **Food Chemistry**, v. 90, n. 1–2, p. 133–139, 2005.

GUPTA, V. K.; SHARMA, S. K. Plant as natural antioxidants. **Natural Product Radiance**, v. 5, n. 4, p. 326-334, 2006.

HONORATO, T. C. *et al.* Aditivos alimentares: aplicações e toxicologia. **Revista Verde**, v. 8, n. 5, p. 01 - 11, 2013.

HUANG, B. *et al.* Antioxidant activity of bovine and porcine meat treated with extracts from edible lotus (*Nelumbo nucifera*) rhizome knot and leaf. **Meat Science**, Barking, v. 87, n. 1, p. 43-56, 2011.

IBGE, 2021. Agência IBGE notícias. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/31602-no-2-trimestre-de-2021-abate-de-suinos-e-o-maior-desde-1997>. Acesso em: 27 out. 2021.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, p. 1020, 2008. Disponível em: <https://wp.ufpel.edu.br/nutricaoobromatologia/files/2013/07/NormasADOLFOLUTZ.pdf>. Acesso em: 10 setembro. 2021.

KIM, S. J.; CHO, A. R.; HAN, J. Antioxidant and antimicrobial activities of leafy green vegetable extracts and their applications to meat product preservation. **Food Control**, v. 29, n. 1, p. 112–120, 2013.

KINSMAN *et al.* **Muscle Foods, Meat, Poultry and Seafood Technology**, New York: Chapman & Hall, 1994.

KRZYWICKI, K. THE DETERMINATION OF HAEM PIGMENTS IN MEAT  
Calculation of myoglobin concentration. **Meat science**, v. 7, p. 29–36, 1982.

LIMA JÚNIOR, D. M. *et al.* Oxidação Lipídica e qualidade da carne ovina. **Acta Veterinária Brasileira**, v.7, n.1 p.14-28, 2013.

LÓPEZ, P. *et al.* Solid- and vapor-phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 17, p. 6939-6946, 2005.

MADSEN, H.L.; BERTELSEN, G.; SKIBSTED, L.H. **Antioxidative activity of spices and spice extracts**. In: RISCH, S.J.; HO, S.C.T. (Ed.). *Spices, flavor, chemistry and antioxidant properties*. Washington, USA: American Chemical Society, 1997. v.14, p.176-187.

SILVA, N; JUNQUEIRA, V, C, A; SILVEIRA, N, F, A; TANIWAKI, M, H; GOMES R, A, R; OKAZAKI, M, M,. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. EDITORA EDGARD BLÜCHER LTDA ©, 2017.

MARINO *et al.* Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiacea and Compositae. **International Journal of Food Microbiology**, v. 67, p. 187-195, 2001.

MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. 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, L. R; B.; BRAGAGNOLO, N. Lipid oxidation of chicken meat and the impact of the addition of sage (*Salvia officinalis*, L.) and garlic (*Allium sativum*, L.) as natural antioxidants. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 68, n. 1, p. 1-11, 2009.

MENON, K. V.; GARG, S. R. Inhibitory effect of clove oil on *Listeria monocytogenes* in meat and cheese. **Food Microbiology**, v. 18 p. 647-650, 2001.

MILANI, L. I. G. *et al.* Bioproteção de lingüiça de frango. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, n.2, p. 161-166 , 2003.

MOLINARI, L. V.; MARTINS, K. F.; NUNES, C. F.; MARTINS, E. R.; MEIRA, M. R. **Óleos essenciais e benzilaminopurina (BAP) para o cultivo in vitro de *Dimorphandra mollis***. Pesquisa Florestal Brasileira, [S. l.], v. 41, 2021. DOI: 10.4336/2021.pfb.41e201901926. Disponível em: <https://pfb.cnpf.embrapa.br/pfb/index.php/pfb/article/view/1926>. Acesso em: 23 nov. 2021.

MYTLE, N. *et al.* Antimicrobial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil in inhibiting *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters. **Food Control**, v. 17, p. 102- 107, 2006.

OLIVEIRA, F. S. **Atividade antioxidante e antimicrobiana de óleos essenciais aplicados na conservação de linguiça frescal de frango: um estudo em Montes Claros.** 2017. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2017.

OSAWA, C. C. *et al.* Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 655-663, 2005.

PATEIRO, M. *et al.* Guarana seed extracts as a useful strategy to extend the shelf life of pork patties: UHPLC-ESI/QTOF phenolic profile and impact on microbial inactivation, lipid and protein oxidation and antioxidant capacity. **Food Research International**, v. 114, p. 55–63, 2018.

PATEIRO, M.; BARBA, F. J.; DOMÍNGUEZ, R.; SANT'ANA, A. S.; KHANEGHAH, A. M.; GAVAHIAN, M.; LORENZO, J. M. Essential oils as natural additives to prevent oxidation reactions in meat and meat products: A review. **Food Research International**, v. 113, p. 156-166, 2018.

PATEIRO, M.; MUNEKATA, P. E.; SANT'ANA, A. S.; DOMÍNGUEZ, R.; RODRÍGUEZ-LÁZARO, D.; LORENZO, J. M. Application of essential oils as antimicrobial agents against spoilage and pathogenic microorganisms in meat products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 337, 2021.

PERUMALLA, A. V. S.; HETTIARACHCHY, N. S. Green tea and grape seed extracts - Potential applications in food safety and quality. **Food Research International**, v. 44, n. 4, p. 827–839, 2011.

EMBRAPA. Qualidade da carne suína. 2017. Disponível em: <https://www.embrapa.br/qualidade-da-carne/carne-suina#:~:text=A%20carne%20su%C3%ADna%20%C3%A9%20a,para%20a%20qualidade%20da%20carne..> Acesso em: 27 out 2022.

RADÜNZ, M. **Óleo essencial de cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum*, L.): extração, encapsulação, potencial antimicrobiano e antioxidante.** 2017. 146 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

ROCHA GARCIA, C. E. *et al.* Antioxidantes utilizados na indústria cárnea: quais são os aditivos inibidores da rancidez nos produtos cárneos. **Revista Nacional da Carne**, v. 26, n. 299, p. 36- 51, 2002.

RODELLA, Fernanda Messias. **Extração e atividade antibacteriana do óleo essencial do cravo-da-Índia.** Orientadora: Mary Leiva de Faria. 2015.80 f. TCC (Graduação)- Curso de Química, Fundação Educacional do Município de Assis - FEMA - Assis, 2015.

ROSA, Luana Carolina Martins; MATUMOTO-PINTRO, Paula Toshimi. Antioxidantes naturais aplicados em produtos à base de carne bovina: uma alternativa promissora. **Revista Principia - Divulgação Científica e Tecnológica do IFPB**, [S.l.], ago. 2021. Disponível em:

<https://periodicos.ifpb.edu.br/index.php/principia/article/view/5752>. Acesso em: 13 out 2021.

SADGHI, Z. *et al.* Antioxidant activity and total phenolic content of *Boerhavia elegans* (choisy) grown in Baluchestan, Iran. Avicenna, **Journal of Phytomedicine**, v. 5, n. 1, p. 1-9, 2015.

SADGHI, Z. *et al.* Antioxidant activity and total phenolic content of *Boerhavia elegans* (choisy) grown in Baluchestan, Iran. Avicenna Journal of Phytomedicine, v. 5, n. 1, p. 1-9, 2015.

SCHERER, R.; WAGNER, R.; DUARTE, M. C. T.; GODOY, H. T. Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-Índia, citronela e palmarosa. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n.4, p. 442–449, 2009.

SILVA, F. S. **Uma perspectiva no consumo de produtos clean label a partir do desenvolvimento de uma linguiça frescal suína orgânica com óleo essencial de alecrim: um estudo em São Leopoldo.** 2014. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) - Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, 2014.

SILVA, N.D.; JUNQUEIRA, V.C.A.; TANIW, N.F.D.A.S. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água.** São Paulo: Editora Blucher, 2017.

SILVEIRA, S. M. *et al.* Chemical composition and antibacterial activity of *Laurus nobilis* essential oil towards foodborne pathogens and its application in fresh Tuscan sausage stored at 7°C. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 86–93, 2014.

SMITH, R. L. *et al.* A procedure for the safety evaluation of natural flavor complexes used as ingredients in food; essential oils. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, p. 245-363, 2005.

SOLADOYE, O. P. *et al.* Protein Oxidation in Processed Meat: Mechanisms and Potential Implications on Human Health. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, p. 106–122, 2015.

TACHAKITTIRUNGROD, S.; OKONOGI, S.; CHOWWANAPHOONPOHN, S. Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: Mechanism of antioxidant action of guava leaf extract. **Chemistry**, v. 103, n. 2, p. 381-388, 2007.

TARLADGIS, B. G.; PEARSON, A. M.; JUN, L. R. D. 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 of the Science of Food and Agriculture**, v. 15, n. 9, p. 602–607, 1964.

TEIXEIRA, E, R, F. **Veiculação de óleos obtidos de *Syzygium aromaticum* L. em sistema microemulsionado e suas derivatizações: avaliação da viabilidade celular, atividade antioxidante e antinociceptiva.** 2017. Tese. Doutorado. Programa de Pós Graduação em Química. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal/ RN. 2017.

TONET, A., ZARA, R. F., & TIUMAN, T. S. Biological activity and quantification of bioactive compounds in yerba mate extract and its application in fish

hamburger. 2019, v. 22, **Brazilian Journal of Food Technology**. Disponível em <https://www.scielo.br/j/bjft/a/dMHCp5FxlhwGX4fbhLGTWhg/abstract/?lang=en> . Acesso em 27 nov. 2021.

VALENCIA, I. *et al.* Enhancement of the nutritional status and quality of fresh pork sausages following the addition of linseed oil, fish oil and natural antioxidants. **Meat Science**, v. 80, n. 4, p. 1046–1054, 2008.

VENCATO, A. A. *et al.* Sal e extratos vegetais brutos como conservantes em modelo cárneo (paleta suína moída). **Revista Caatinga**, v. 33 n. 2 p 562 – 570, 2020.

VENKATARAMAN, S.; SCHAFER, R. Q.; BUETTNER, G. R. Detection of lipid radicals using EPR. **Antioxid Redox Signaling**, v. 6, p. 631-638, 2004.

VIGNOLI, J. A.; BASSOLI, D. G.; BENASSI, M. T. Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. **Food Chemistry**, v. 124, n. 3, p. 863–868, 2011.

Wang, H.F., Wang, Y.K., Yih, K.H. DPPH free-radical scavenging ability, total phenolic content, and chemical composition analysis of forty-five kinds of essential oils. **International journal of cosmetic science**, v. 31, p. 475 -476, 2009.

ZENGIN, H.; BAYSAL, A. H. Antioxidant and antimicrobial activities of thyme and clove essential oils and application in minced beef. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 39, n. 6, p. 1261-1271, 2015.

ZHENG, G.Q., KENNEY, P.M., LAM, L.K.T. Sesquiterpenes from clove (*Eugenia caryophyllata*). **Journal of Natural Products**, v. 55, p. 999–1003, 1992.