

SIMEALI

II Simpósio de Engenharia
de Alimentos da UFMG

Sustentabilidade



Uma nova perspectiva na
produção de alimentos

Aplicação dos óleos essenciais de cravo-da-índia e pimenta-da-jamaica como antioxidantes naturais em linguiça frescal de frango

Francielly Soares Oliveira*¹; Renatta Soares Souza¹; Luana Lemos Leão¹; Priscila Silva Cunha²;
Patrícia Alves Vasconcelos³; Francine Souza Alves da Fonseca⁴; Rogério Marcos de Souza⁵;
Ernane Ronie Martins⁵

¹Mestranda em Produção Animal, Universidade Federal de Minas Gerais

²Engenheira de Alimentos, Universidade Federal de Minas Gerais

³Graduanda em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Minas Gerais

⁴Técnica-administrativa, Laboratório de Plantas Medicinais, Universidade Federal de Minas Gerais

⁵Professor, Universidade Federal de Minas Gerais

*Autor para correspondência: fran.soaresoli@hotmail.com

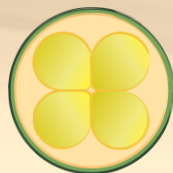
RESUMO: Diante dos possíveis riscos e do crescente número de consumidores que têm exigido a adoção de políticas que visem à segurança alimentar, várias pesquisas têm sido desenvolvidas com óleos essenciais (OEs) como alternativa aos antioxidantes sintéticos nos produtos cárneos. Objetivou-se avaliar a composição química e atividade antioxidante dos OEs de pimenta-da-jamaica e cravo-da-índia e a estabilidade oxidativa de linguiça frescal de frango adicionado de OEs. Os OEs foram extraídos por hidrodestilação, a composição química realizada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) e a atividade antioxidante dos óleos determinada pelo método de DPPH. Os OEs de pimenta-da-jamaica e cravo foram adicionados à linguiça frescal de frango nas concentrações de 10 $\mu\text{l g}^{-1}$ e 40 $\mu\text{l g}^{-1}$ e a combinação dos dois OEs na concentração de 10 $\mu\text{l g}^{-1}$. A linguiça de frango foi avaliada nos dias 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento quanto a oxidação lipídica pelo método de TBARS. Os OEs apresentaram forte atividade antioxidante tendo como composto majoritário o eugenol. Os OEs foram capazes de retardar a oxidação lipídica na linguiça frescal de frango durante os 21 dias de armazenamento, podendo ser utilizados como fonte antioxidante natural em produtos cárneos.

Palavras-chave: Oxidação lipídica. TBARS. *Eugenia caryophyllata*. *Pimenta dioica*.

INTRODUÇÃO

Os produtos cárneos podem se deteriorar rapidamente devido a processos oxidativos e o crescimento microbiano durante as etapas de processamento e armazenamento. Estes processos podem gerar grandes perdas para a indústria devido à formação de compostos que degradam o alimento, diminuem a vida de prateleira e qualidade nutricional (KRISHNAN et al., 2014).

A oxidação lipídica é a principal causa de deterioração dos ácidos graxos insaturados, e conduz a alterações de cor, sabor e a formação de odores desagradáveis nos produtos cárneos, além da formação de compostos potencialmente tóxicos, como o malonaldeído (JAYASENA; JO, 2014). Para minimizar esse processo e aumentar a vida útil dos produtos cárneos, a indústria recorre ao emprego de antioxidantes sintéticos, tais como hidroxianisol butilato (BHA), hidroxibutil tolueno (BHT), propil galato (PG) e terqbutil hidroquinona, TBHQ (RAMALHO; JORGE, 2006). No entanto, estudos toxicológicos em animais mostraram que altas concentrações e o uso contínuo de alguns antioxidantes podem apresentar efeitos tóxicos e carcinogênicos (GHARAVI et al., 2007).



SIMEALI

II Simpósio de Engenharia
de Alimentos da UFMG

Sustentabilidade



Uma nova perspectiva na
produção de alimentos

Diante dos possíveis riscos e pelo crescente número de consumidores que têm exigido a adoção de políticas que visem à segurança alimentar, nos últimos anos, diversas pesquisas têm sido desenvolvidas com compostos naturais, visando a utilização destes como antioxidantes. Dentre os compostos estudados, os óleos essenciais (OEs) têm se mostrado promissores e passíveis de utilização nos alimentos. Os OEs de plantas condimentares têm sido alvo de várias pesquisas, pois além de conferir características sensoriais próprias aos alimentos, podem reduzir os processos oxidativos (JAYASENA; JO, 2014).

Dessa forma, objetivou-se avaliar a composição química e atividade antioxidante dos OEs de pimenta-da-jamaica e cravo-da-índia e a estabilidade oxidativa de linguiça frescal de frango adicionada desses OEs.

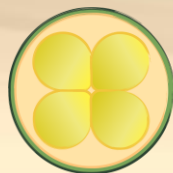
MATERIAL E MÉTODOS

As folhas de pimenta-da-jamaica (*Pimenta dioica* Lindl.) foram coletadas no Horto de Plantas Medicinais do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (ICA/UFMG), Montes Claros, MG. O cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.) foi adquirido diretamente de produtores rurais da região de Itabuna, BA. Os OEs foram extraídos pelo processo de hidrodestilação, utilizando o aparelho *Clevenger* durante 4 horas e armazenados em vidros âmbar sob refrigeração a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$.

A composição química dos OEs foi determinada no Laboratório de Química Instrumental do ICA/UFMG em um cromatógrafo a gás da Agilent Technologies (GC 7890A) acoplado a detector espectrômetro de massas (MS 5975C). Os dados gerados foram analisados utilizando-se o software MSD Chemstation juntamente com a biblioteca NIST 2009 (*National Institute of Standards and Technology*). A identificação dos compostos dos OEs foi realizada por comparação dos espectros de massa com dados da biblioteca NIST 2.0, 2009. O índice de retenção relativo das substâncias (IR) foi calculado aplicando a equação Van den Dool e Kratz (1963) e comparado com os dados obtidos da literatura (ADAMS, 2007).

A atividade antioxidante dos OEs de pimenta-da-jamaica e cravo-da-índia foi determinada pelo método de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) seguindo metodologia descrita por Singh et al. (2009). Os OEs, em triplicata, foram diluídos em metanol em cinco diferentes concentrações (40, 20, 10, 5 e $1\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$) e, em seguida, 3 mL de cada amostra foi misturada com 1 mL de solução metanólica de DPPH ($40\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$). As amostras foram mantidas no escuro por 60 minutos e a leitura da absorbância realizada em espectrofotômetro (Shimadzu UV-160 1 PC) a 515 nm. O controle negativo continha metanol (3,0 mL) e DPPH (1 mL , $40\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$) e o controle positivo (BHT, butil hidroxitolueno) foi testado nas mesmas concentrações utilizadas para os OEs. A porcentagem de sequestro de radical livre (%SRL) DPPH foi calculada pela equação: %SRL = $((\text{Abs. Controle negativo} - \text{Abs. Amostra}) / \text{Abs. Controle negativo}) \times 100$. A concentração efetiva (CE_{50}), concentração da amostra que inibe 50% do radical livre DPPH, foi determinada a partir da regressão linear obtida do gráfico da concentração das amostras *versus* % SRL em cada amostra de óleo testado.

A elaboração das linguiças frescas de frango foi realizada no Laboratório de Tecnologia de alimentos do ICA/UFMG. Os ingredientes utilizados na formulação das linguiças foram: peito de frango (88,5%), toucinho (10%) e sal (1,5%). Os tratamentos foram adicionados dos OEs de pimenta-da-jamaica e cravo, conforme seguinte descrição: T1 – adição $10\text{ }\mu\text{L g}^{-1}$ de OE de pimenta-da-jamaica; T2 - adição $40\text{ }\mu\text{L g}^{-1}$ de OE de pimenta-da-jamaica; T3 - adição $10\text{ }\mu\text{L g}^{-1}$ de OE de cravo; T4 - adição $40\text{ }\mu\text{L g}^{-1}$ de OE de cravo; T5 - adição $10\text{ }\mu\text{L g}^{-1}$ de OE de cravo combinado com



SIMEALI

II Simpósio de Engenharia
de Alimentos da UFMG

Sustentabilidade



Uma nova perspectiva na
produção de alimentos

o OE de pimenta-da-jamaica. O controle foi realizado sem adição dos OEs. A carne e o toucinho foram triturados em moedor de carne inox (marca SKYMSSEN / modelo PSEE-98THD) utilizando-se disco de 8 mm de diâmetro e, após essa etapa, a massa cárnea foi dividida em seis porções de 900 g e foram misturados manualmente ao óleo essencial e o sal da formulação. A massa cárnea resultante foi embutida em tripa natural suína, em embutideira manual, e as linguiças foram acondicionadas em sacos plásticos de policloreto de vinila (PVC), identificadas e armazenadas sob refrigeração a 7 °C por período de 21 dias.

A avaliação da oxidação lipídica foi realizada no Laboratório de Plantas medicinais do ICA/UFMG pelo método de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) nos tempos de 1, 7, 14 e 21 dias de fabricação do produto, seguindo metodologia descrita por Raharjo, Sofos e Schmidt (1992), com modificações. Foram pesados 5 g de cada tratamento, em triplicata e, estes foram transferidos para béqueres contendo 18 mL de solução de ácido tricloroacético (TCA) a 5%, 0,5 mL de solução alcoólica de BHT e 2,0 mL de sulfanilamida a 1,5%. A mistura foi homogeneizada durante um minuto e mantida em repouso e, após 10 minutos foi filtrada com auxílio de papel filtro em balão volumétrico de 25 mL, completando-se o volume com TCA (5%). Uma alíquota de 2,0 mL desta solução foi transferida para um tubo de ensaio e, posteriormente, foi adicionado 2,0 mL da solução de TBARS (0,08 M) em ácido acético (50%) e os tubos foram mantidos em banho-maria a temperatura de 80 °C por 30 minutos. Os tubos foram resfriados e a absorbância medida em espectrofotômetro (Shimadzu UV-160 1 PC) a 531 nm. Para o cálculo dos valores de TBARS foi utilizado o fator de conversão de 7,8 e os resultados expressos em mg de malonaldeído (MDA) / kg de amostra. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as diferenças entre médias determinadas pelo teste de Tukey, ao nível de significância de 5%, utilizando-se o programa estatístico R, versão 2.12.2.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos resultados obtidos da análise cromatográfica (CG-EM) dos OEs, os principais componentes encontrados no OE de cravo foram o eugenol (85,5%), acetato de eugenila (8,9%) e o β -cariofileno (3,1%). Já no OE de pimenta-da-jamaica os principais componentes detectados foram o eugenol (44,9%), β -pineno (21,0%), limoneno (10,1%) e o chavicol (7,5%).

A atividade antioxidante dos OEs está apresentada nas Tabelas 1 e 2 em termos de percentagem de sequestro de radicais livres (%SRL) e Concentração efetiva (CE_{50}), respectivamente. A CE_{50} está diretamente relacionado à percentagem de sequestro do DPPH, sendo inversamente proporcional, ou seja, quanto maior o índice de sequestro de DPPH, menor será o CE_{50} e maior será a atividade antioxidante (SOUSA et al., 2007).

O OE de pimenta-da-jamaica apresentou alta capacidade de eliminação dos radicais livres DPPH ($CE_{50} = 1,53 \mu\text{g mL}^{-1}$) quando comparado ao padrão BHT ($CE_{50} = 12,01 \mu\text{g mL}^{-1}$). Essa atividade pode ser atribuída ao eugenol, composto majoritário presente no OE, o qual possui atividade antioxidante reconhecida (LEE et al., 2005). O OE de cravo apresentou ação antioxidante muito forte, pois mesmo na menor concentração de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Tabela 1), foi observada inibição de 53,95% da atividade sequestradora de radicais livres, provavelmente devido ao elevado teor de eugenol na sua composição (85,5%). Assim, o valor gerado pelo método da regressão linear para a CE_{50} seria negativo, incoerente, considerando a definição de concentração, sendo necessária assim a aplicação de concentrações mais baixas do OE para definir valores de CE_{50} .

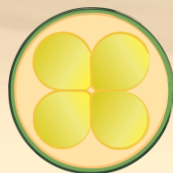


Tabela 1. Percentagem de sequestro dos radicais livres dos óleos essenciais de pimenta-da-jamaica e cravo-da-índia.

Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	%SRL		
	Pimenta-da-jamaica	Cravo-da-índia	BHT
40	89,16	90,63	88,84
20	86,08	90,50	85,34
10	78,18	90,63	66,20
5	57,56	81,26	28,61
1	26,91	53,95	10,96

%SRL: percentagem de sequestro de radicais livres.

Tabela 2. Concentração efetiva dos óleos essenciais de pimenta-da-jamaica e cravo-da-índia.

	Equações	CE ₅₀ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
Pimenta-da-jamaica	$y = 1,2860x + 48,029$	1,53
Cravo-da-índia	$y = 0,6343x + 71,751$	NA
BHT	$y = 1,8759x + 27,477$	12,01

CE₅₀: concentração efetiva; NA: não se aplica.

Os valores de TBARS, expressos em mg de MDA por kg de amostra podem ser visualizados na Tabela 3.

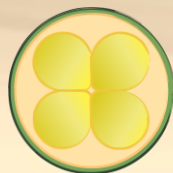
Tabela 3- Valores médios de TBARS na linguiça frescal de frango com óleo essencial de pimenta-da-jamaica e cravo-da-índia durante o período de armazenamento a 7 °C.

	TBARS (mg MDA/kg)*
Controle	1,29±0,25 ^a
T1	0,13±0,04 ^b
T2	0,22±0,05 ^b
T3	0,17±0,02 ^b
T4	0,21±0,07 ^b
T5	0,18±0,02 ^b

*mg de malonaldeído por kg de amostra; ^aMédias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si ($p < 0,05$). Médias \pm desvio padrão de análises em triplicata. T1: pimenta-da-jamaica [$10 \mu\text{g mL}^{-1}$]; T2: pimenta-da-jamaica [$40 \mu\text{g mL}^{-1}$]; T3: cravo [$10 \mu\text{g mL}^{-1}$]; T4: cravo [$40 \mu\text{g mL}^{-1}$]; T5: combinação dos OEs de pimenta-da-jamaica e cravo [$10 \mu\text{g mL}^{-1}$].

Neste estudo, não houve diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores de TBARS entre os dias de análise, para todos os tratamentos. No entanto, houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre o controle e os demais tratamentos (Tabela 3) e, nota-se que os tratamentos adicionados de OEs de pimenta-da-jamaica e cravo-da-índia apresentaram valores de TBARS (0,134 a 0,224) inferiores ao controle (1,291) e com baixo nível de oxidação ($< 0,5$ mg de MDA/kg), o que indica elevada proteção dos OEs contra a oxidação lipídica nas amostras de linguiça frescal de frango.

Segundo Ahmad e Srivastava (2007) a detecção sensorial de degradação lipídica se inicia a partir de valores de TBARS entre 1,0 e 2,0 mg de MDA/kg de amostra (AHMAD; SRIVASTAVA, 2007). Os resultados mostram que os OEs de pimenta-da-jamaica e cravo foram capazes de retardar a oxidação lipídica nas linguiças frescas de frango durante os 21 dias de armazenamento.



SIMEALI

II Simpósio de Engenharia
de Alimentos da UFMG

Sustentabilidade



Uma nova perspectiva na
produção de alimentos

CONCLUSÃO

O componente majoritário encontrado nos OEs de pimenta-da-jamaica e cravo-da-índia foi eugenol. Esses óleos apresentaram alta capacidade de sequestro dos radicais livres DPPH e mostraram-se efetivos sobre a estabilidade oxidativa da linguiça frescal de frango durante o armazenamento. Podendo ser utilizados como barreira adicional na indústria de alimentos para controlar a oxidação lipídica nos produtos cárneos.

AGRADECIMENTOS

À CAPES e a FAPEMIG pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. 4th edition. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, 2007. 803 p.
- AHMAD, S.; SRIVASTAVA, P. K. Quality and shelf life evaluation of fermented sausages of buffalo meat with different levels of heart and fat. **Meat Science**, v. 75, n. 4, p. 603-609, 2007.
- 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.
- JAYASENA, D. D.; JO, C. Potential application of essential oils as natural antioxidants in meat and meat products: a review. **Food Reviews International**, v. 30, n. 1, p. 71-90, 2014.
- KRISHNAN, K. R. et al. Bio protection and preservation of raw beef meat using pungent aromatic plant substances. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 12, p. 2456-2463, 2014.
- LEE, S. J. et al. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 91, n. 1, p. 131-137, 2005.
- RAHARJO, S.; SOFOS, J. N.; SCHMIDT, G. R. Improved speed, specificity, and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid – C18 method for measuring lipid peroxidation in beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 11, p. 2182-2185, 1992.
- RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.
- SINGH, H. P. et al. Characterization and antioxidant activity of essential oils from fresh and decaying leaves of *Eucalyptus tereticornis*. **Journal of Agricultural and Chemistry**, v. 57, n. 15, p. 6962-6966, 2009.
- SOUSA, C. M. de M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355. 2007.