

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL E PASTAGENS

AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E
TRATAMENTOS TÉRMICOS DA CARNE OVINA DE
ANIMAIS SUBMETIDOS À DIETA COM O SUBPRODUTO
DO URUCUM (*Bixa orellana* L.)

Autora: Eldânia Soares Ferreira
Orientador: Prof. Dr. Omer Cavalcanti Almeida

GARANHUNS
Estado de Pernambuco
Novembro-2015

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL E PASTAGENS

AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E
TRATAMENTOS TÉRMICOS DA CARNE OVINA DE
ANIMAIS SUBMETIDOS À DIETA COM O SUBPRODUTO
DO URUCUM (*Bixa orellana* L.)

Autora: Eldânia Soares Ferreira
Orientador: Prof. Dr. Omer Cavalcanti Almeida

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIA ANIMAL E PASTAGENS, no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Pastagens da Universidade Federal Rural de Pernambuco - Área de Concentração: Produção Animal.

GARANHUNS
Estado de Pernambuco
Novembro-2015

Ficha catalográfica
Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Setorial UFRPE/UAG

F383a Ferreira, Eldânia Soares

Avaliação da composição química e tratamentos
térmicos da carne ovina de animais submetidos à
dieta com o subproduto do urucum (*Bixa orellana* L.)
/ Eldânia Soares Ferreira. - Garanhuns, 2015.
f.54

Orientador: Omer Cavalcanti Almeida
Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) -
Universidade Federal Rural de Pernambuco - Unidade
Acadêmica de Garanhuns, 2015.

Inclui anexo e bibliografias

CDD: 636.3

1. Antioxidante
2. Ovino
3. Carotenoides
- I. Almeida, Omer Cavalcanti
- II. Título

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL E PASTAGENS

AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E
TRATAMENTOS TÉRMICOS DA CARNE OVINA DE
ANIMAIS SUBMETIDOS À DIETA COM O SUBPRODUTO
DO URUCUM (*Bixa orellana* L.)

Autora: Eldânia Soares Ferreira
Orientador: Prof. Dr. Omer Cavalcanti Almeida

TITULAÇÃO: Mestre em Ciência Animal e Pastagem
Área de Concentração: Produção Animal

APROVADO em 30 de Novembro de 2015.

Prof. Dr.

Prof. Dr. Rinaldo José Souto maior Júnior

Prof. Dr. Willian Gonçalves do Nascimento
PPGCAP/UFRPE
(Presidente)

Prof. Dr. Omer Cavalcanti Almeida
PPGCAP/UFRPE
(Orientador)

“Alegro-me grandemente no Senhor, por terdes finalmente renovado o vosso cuidado para comigo, sobre o qual, na verdade, estáveis atentos, mas vos faltava ocasião apropriada.

Não vos declaro isso por estar necessitado, por quanto aprendi a viver satisfeito sob toda e qualquer circunstância.

Sei bem o que é passar necessidade e sei o que é andar com fartura.

Aprendi o mistério de viver feliz em todo lugar e em qualquer situação, esteja bem alimentado, ou mesmo com fome, possuindo fartura, ou passando privações.

Tudo posso naquele que me fortalece.”

Ao

Meu pai Carlos e minha mãe Francisca, pelo carinho e amor incondicional, o meu muito obrigado pelos conselhos, e por nunca me deixar desistir.

Às

Minhas irmãs Carla e Sabrina, pelo carinho, e estímulo ao longo da minha jornada.

À

Todos os meus familiares e amigos pelo carinho e apoio ao longo desta caminhada.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus, divino ser em quem creio e confio, por ter me concedido vida, entendimento para saber aproveitar as oportunidades oferecidas por ele, e pela força para não deixar desanimar ao longo desta caminhada, que é longa, porém promissora.

Aos meus pais que amo tanto, que são os principais responsáveis por minha existência, e por me concederem a oportunidade de estar realizando um grande sonho.

As minhas irmãs Carla e Sabrina por fazerem parte da minha vida, agradeço o amor infinito.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), em especial ao Programa de pós-graduação Ciência Animal e Pastagem, por tornar possível a realização deste trabalho de dissertação, em especial aos professores por fazerem parte da minha formação, oferecendo todos os seus conhecimentos.

Ao Professor Dr. Omer Cavalcanti Almeida por me orientar e acompanhar ao longo desses dois anos, pela dedicação, ensinamentos, perseverança, paciência e amizade.

Agradeço à CAPES pela concessão da bolsa e à FACEPE pelo apoio financeiro.

Aos professores Álvaro Bicudo, Kleber Santoro, Cibele Castro, André Magalhães, Willian Nascimento, Alberício Andrade, Rinaldo Souto e Ana Lucia Teodoro pela ajuda concedida em momentos oportunos.

Aos meus familiares, em especial ao meu primo Edimar Soares que sempre esteve comigo, sempre me incentivou, e aos familiares que pediram a Deus proteção e serenidade para que eu pudesse seguir firme nesta caminhada.

A todos os meus amigos e colegas do mestrado, Rayane, Gláucia, Marco, Natalia, Cláudio. Em especial aos mais íntimos, Bel, Jailson, Renato, Wellington, Géssica Solanna, Italvan, Lívia, Jorge, Nielly, Hélio Arcanjo, Dauri Souza, Paulo Ferreira, Antonio Robis, Edimar Barbosa, Heloíne Grella.

A todos aqueles que fizeram parte do fechamento desta pesquisa principalmente, aos bolsistas Marciano, Antunino, Willian, que não faziam parte do meu projeto, mas estavam sempre dispostos a me ajudar, agradeço a consideração e a amizade ao laboratório de análises de alimentos LANA/UAG, às técnicas do laboratório Milla e Maria Rita, aos funcionários Sr. Cláudio, Rose, Edvânia e Tarcísio, pela ajuda quando

necessária. Diana que sempre me ajudou nos momentos mais difíceis, com sua calma, dedicação e amizade.

Aos meus amigos Ribamar e Janiere, pessoas maravilhosas que me receberam de braços abertos em sua casa, agradeço de coração pela recepção, hospedagem e amizade nos momentos difíceis.

Agradeço a Professora, Neura, pela oportunidade de aprendizado, pelo carinho e dedicação concedida nos três meses em que passei em seu laboratório. A todos do laboratório de Química de Alimentos em especial a, Lilian pela enorme dedicação e confiança, as minhas amigas Fabi, Dani, Wanessa, Marcela, Ana, pelo apoio fundamental durante a minha estadia em Campinas.

Agradeço aos membros da banca de qualificação (Prof. Kleber, Prof. Willian e Prof^a. Elizabete) e aos membros da banca de defesa (Prof. Willian, Prof. Rinaldo e a Dr. Lorena) que gentilmente contribuíram para o enriquecimento deste trabalho.

Aos demais amigos e familiares não citados, mas igualmente merecedores da minha gratidão.

A todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para o término dessa jornada.

Muito Obrigada a Todos!!!

BIOGRAFIA

Eldânia Soares Ferreira, filha de Carlos Martins Soares e Francisca Ferreira Soares, nasceu no município de Jauru, Mato Grosso, no dia 04 de Maio no ano de 1990.

Em agosto de 2008 ingressou no curso de Bacharelado em Zootecnia na Universidade Estadual do Estado de Mato Grosso (UNEMAT) – Campos universitário de Pontes e Lacerda, onde em agosto de 2013, obteve o título de bacharelado em Zootecnia. No mesmo ano, ingressou no mestrado em Ciência Animal e Pastagens, com área de concentração em Produção Animal, na Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) – Unidade Acadêmica de Garanhuns. No dia 30 de Novembro de 2015, submeteu-se a banca para defesa da dissertação para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal e pastagens.

ÍNDICE

| | Página |
|---|--------|
| LISTA DE TABELAS | 12ix |
| LISTA DE FIGURAS | 13x |
| RESUMO GERAL..... | 14xi |
| ABSTRACT | 16xii |
| I-INTRODUÇÃO GERAL | 17 |
| II-REVISÃO BIBLIOGRAFICA..... | 18 |
| 1. Potencial antioxidante dos carotenoides | 18 |
| 2. Formações de óxidos de colesterol em produtos cárneos | 21 |
| 3. Oxidação lipídica | 23 |
| 4. Efeito dos tratamentos térmicos sobre a composição da carne | 25 |
| Referências Bibliográfica..... | 27 |
| III-CAPÍTULO I | 31 |
| EFEITO DOS TRATAMENTOS TÉRMICOS NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ESTABILIDADE OXIDATIVA DA CARNE DE OVINOS ALIMENTADOS COM SUBPRODUTO DO URUCUM..... | 31 |
| RESUMO | 32 |
| ABSTRACT..... | 33 |

| | |
|---|-----|
| 1. INTRODUÇÃO | 34 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS | 35 |
| 2.1 Animais e tratamentos..... | 35 |
| 2.2 Tratamentos térmicos e preparo das amostras | 37 |
| 2.3 Determinação da composição química da carne | 37 |
| 2.4 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)..... | 38 |
| 2.5 Colesterol e Óxidos de colesterol..... | 38 |
| 2.5.1 Preparo das amostras | 38 |
| 2.5.2 Padrões utilizados | 38 |
| 2.5.3 Análise do colesterol e COPs por CLAE..... | 39 |
| 2.5.4 Análise do colesterol e dos COPs por CLAE-MS/MS | 39 |
| 2.6 Análise estatística..... | 40 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 41 |
| 3.1 Composição química da carne versus tratamentos térmicos..... | 41 |
| 3.2 Estabilidade oxidativa da carne ovina submetida a tratamentos térmicos | 44 |
| 3.3 Concentração de Colesterol e óxidos de colesterol (COPs) na carne ovina | 46 |
| 4. CONCLUSÕES..... | 49 |
| REFERÊNCIAS | 50 |
| Anexo | 544 |

LISTA DE TABELAS

| | Páginas |
|--|---------|
| TABELA 1. Composição química dos ingredientes da dieta dos ovinos. | 35 |
| TABELA 2. Proporção dos ingredientes e composição química (g/kg de MS na dieta) das dietas. | 36 |
| TABELA 3. Perfil de ácidos graxos (mg/100g) de alguns ingredientes da dieta. | 36 |
| TABELA 4. Comparação múltipla das médias para a composição química da carne ovina por tratamentos térmicos e por concentração de bixina. | 41 |
| TABELA 5. Comparação múltipla das médias para a composição química da carne ovina submetida a diferentes tratamentos térmicos e concentrações de bixina. | 42 |
| TABELA 6. Comparação múltipla de médias para substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBRAS; mg/MDA/kg de carne) na carne ovina com diferentes concentrações de bixina, após tratamentos térmicos. | 44 |
| TABELA 7. Comparações múltiplas das médias para o colesterol (mg/100g), o 7-cetocolesterol (µg/100g) e o 5,6 α -epoxicolesterol (µg/100g) na carne ovina com diferentes concentrações de bixina, após tratamento térmico. | 47 |

LISTA DE FIGURAS

| | Páginas |
|--|---------|
| FIGURA 1. Esquema dos principais óxidos de colesterol encontrados nos alimentos processados. | 22 |
| FIGURA 2. Cromatogramas obtidos por meio de HPLC-MS/MS de padrões dos óxidos de colesterol. Na figura A se encontra os seguintes picos 22R (1), 22S (2), 20 α -OH (3), 25-OH (4), 7 α -OH (5), 7 β -OH (7), 5,6 β -epox (8), 5,6 α -epox (9),na figura B o 7-ceto (6)..... | 39 |

RESUMO GERAL

Os produtos cárneos são passíveis de processos oxidativos que promovem o aparecimento de compostos prejudiciais à saúde do consumidor, tais como os óxidos de colesterol e o malonaldeído, os quais estão intimamente relacionados com o aparecimento de doenças cardiovasculares e cânceres, além de serem responsáveis pela deterioração do produto. Para minimizar tais processos a indústria tem utilizado antioxidantes sintéticos, como o butilhidroxitolueno-BHT e o butilhidroxianisol-BHA, porém esses compostos apresentam o inconveniente de estarem relacionados à promoção de cânceres, em especial o de pulmão. Assim, a indústria vem procurando alternativas que confirmem proteção aos produtos sem ocasionar danos à saúde humana, e os carotenoides se destacam pois são antioxidantes naturais que podem garantir a proteção ao produto, além de possibilitar atividades benéficas à saúde, em especial proteção contra a ação dos radicais livres, os quais participam dos processos de inicialização e desenvolvimento de diversas patologias. Com este estudo objetivou-se avaliar a termoestabilidade da carne de ovinos que receberam dietas contendo subproduto do urucum submetida a diferentes tratamentos térmicos. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x4 (quatro tratamentos térmicos e quatro concentrações de bixina na carne). Os tratamentos térmicos foram: *in natura*, cozimento, forno e fritura, e foram utilizados níveis de inclusão do subproduto do urucum as dietas que proporcionaram as seguintes concentrações de bixina: (1) sem inclusão, (2) com inclusão de 0,056 mg, (3) de 0,113 mg e (4) de 0,169 mg de bixina/kg de ração (base na matéria seca). As amostras foram obtidas a partir da secção transversal do corte comercial denominado de lombo. Para a determinação da composição química e estabilidade térmica, foram realizadas as seguintes análises: matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), colesterol e óxidos de colesterol (COPs) na carne. Os tratamentos térmicos promoveram alterações na composição química da carne e a formação de substâncias reativas ao ácido barbitúrico (TBARS) ($P < 0,05$). A bixina conferiu estabilidade oxidativa à carne *in natura* ($P < 0,05$), indicando a efetividade de seu uso no aumento da vida útil. Porém, o carotenoide não foi eficiente em inibir a oxidação durante tratamentos térmicos ($P > 0,05$). A concentração dos COPs foi elevada pelos tratamentos térmicos ($P < 0,05$). Os teores de 0,109 e 0,164 mg de bixina inibiram a formação dos COPs ($P < 0,05$). Conclui-se que a bixina não altera a composição

química da carne ovina, e que os tratamentos térmicos contribuem para elevação dos constituintes da carne. A bixina foi capaz de retardar os processos oxidativos da carne ovina *in natura*. Porém não atribui o mesmo efeito na carne processa. Os tratamentos térmicos em combinação com a bixina promoveram redução do colesterol na carne.

Palavras chave: Antioxidante, carotenoides, malonaldeído, óxidos de colesterol.

ABSTRACT

The meat products are subject to oxidative processes that promote the appearance of compounds harmful to consumer health such as cholesterol oxides and malondialdehyde, which are closely related to the onset of cardiovascular diseases and cancers, and are responsible for the deterioration of product. To minimize these processes the industry has used synthetic antioxidants such as butylhydroxytoluene, butylhydroxyanisole, BHT and BHA, however, these compounds have the disadvantage of being related to the promotion of cancer, in special lung. So the industry is looking for alternatives that provides protection to products without causing harm to human health, and carotenoids stand out because they are natural antioxidants that can guarantee protection to the product, in addition to enabling activities beneficial to health, especially protection from the action of free radicals, which participate in the startup process and development of various diseases. This study aimed to evaluate the thermal stability of the sheep meat fed the byproduct of annatto subjected to different thermal treatments. The experimental design was completely randomized in a 4x4 factorial scheme (four thermal treatments and four bixin concentrations in the flesh). The thermal treatments were: fresh, cooking, oven and frying, and were used for inclusion levels of the byproduct of annatto the diets provided the following concentrations of bixin: (1) no addition, (2) with addition of 0.056 mg (3) mg and 0.113 (4) 0.169 mg of bixin / kg of feed (dry matter basis). Samples were obtained from the cross section of the named commercial cut tenderloin. To determine the chemical and thermal stability, the following analyzes were performed: dry matter, crude protein, ether extract, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), cholesterol and cholesterol oxides (COPs) in the meat. The heat treatment caused changes in the chemical composition of meat and the formation of reactive substances barbiturate acid (TBARS) ($P < 0.05$). The bixin gave oxidative stability of fresh beef ($P < 0.05$), indicating the effectiveness of its use in increasing life. However, the carotenoid was not effective to inhibit oxidation during heat treatments ($P > 0.05$). The concentration of COPs was high by heat treatment ($P < 0.05$). The contents of 0.109 and 0.164 mg of bixin inhibit the formation of COPs ($P < 0.05$). It is concluded that bixin does not alter the chemical composition of the lamb meat, and that heat treatments contribute to elevation of the meat constituents. The bixin was able to slow down the oxidative processes of sheep meat in natura. But does not give the same effect on handling meat. The heat treatments in combination with bixin promoted reduction of cholesterol in meat.

Keywords: Antioxidant, carotenoids, cholesterol oxides malonaldehyde.

I-INTRODUÇÃO GERAL

O consumo dos produtos de origem animal aumentou nos últimos anos, em especial, o da carne, devido ao seu alto valor nutricional, sabor e textura atraente. Nas últimas duas décadas o mercado passou por grandes transformações, especialmente em decorrência da elevação da demanda mundial e por alterações nos padrões do consumidor. Neste contexto, as exigências dos consumidores por alimentos de qualidade e que proporcionem benefícios à saúde tem pressionado a cadeia de produção animal, em especial a da carne de animais ruminantes, ao buscar técnicas que atendam a nova realidade, uma vez que o consumo destes produtos esta associados ao aparecimento de várias doença.

Dada à complexidade da cadeia produtiva da carne, os cuidados devem ser iniciados durante a produção da matéria-prima, uma vez que, via manejo nutricional, pode-se proporcionar características desejáveis ao produto, como, melhor qualidade nutricional e maior durabilidade, embora, alterações posteriores à obtenção da carne sejam responsáveis pela maior perda da qualidade, especialmente quando há falhas nos processos de preservação e manipulação.

Dentre os processos utilizados para garantir a preservação da qualidade organoléptica dos cárneos, o congelamento se destaca por retardar os processos enzimáticos que culminam com o aparecimento de características indesejáveis decorrentes das reações oxidativas da fração lipídica. A ocorrência dessas reações promove a aceleração dos processos oxidativos tanto durante a conservação dos

produtos, quanto durante o tratamento térmico, promovendo alterações na composição, sabor, valor nutricional, e reduzindo a durabilidade do produto.

Os efeitos negativos ocasionados por processos oxidativos em carnes são decorrentes dos produtos gerados nestas reações, especialmente aldeídos e óxidos de colesterol, que além da depreciação da qualidade do produto, apresentam um risco à saúde do consumidor, por estarem ligados ao aparecimento de cânceres e doenças cardiovasculares.

Antioxidantes sintéticos são utilizados com a finalidade de inibir a deterioração oxidativa de produtos cárneos, porém alguns países, como da união Europeia restringem o uso desordenado desses aditivos, devido a apresentarem risco a saúde. Devido a esse inconveniente, algumas alternativas têm sido avaliadas, em especial compostos naturais que possuem atividade antioxidante, como o caso do urucum (*Bixa orellana* L.), que possui em sua composição o carotenoide bixina, que devido a sua atividade antioxidante, pode melhorar a estabilidade oxidativa e como consequência, aumentar a durabilidade do produto, sem promover os efeitos negativos-à saúde.

Portanto, objetivou-se avaliar a composição química, a estabilidade oxidativa, a concentração de colesterol, e dos óxidos de colesterol na carne de ovinos que receberam dietas com diferentes níveis de subproduto do urucum 0,000; 0,100; 0,200; 0,300 g/kg de ração que proporcionaram as seguintes concentrações de bixina: 0,000; 0,048; 0,109; 0,164 mg de bixina/kg na matéria seca da dieta submetidas posteriormente a diferentes tratamentos térmicos: *in natura*, cozimento, forno e fritura.

II-REVISÃO BIBLIOGRAFICA

1. Potencial antioxidante dos carotenoides

Compostos que apresentam atividade antioxidante são aqueles capazes de neutralizar formas reativas do oxigênio (ERO) e do nitrogênio (ERN), denominados genericamente de radicais livres (Halliwell, 2006).

As formas reativas são produzidas por processos metabólicos, em especial os ligados à produção de energia, e em decorrência de estímulos externos e são responsáveis por vários danos celulares que podem comprometer o bom funcionamento

da célula, em especial promover a inicialização de processos que culminam em doenças metabólicas, como cânceres e patologias do sistema circulatório, dentre outras. Tais processos são decorrentes da interação com componentes celulares de alta reatividade, dessa forma é normal o aparecimento de elétrons desemparelhados em sua estrutura (Halliwell, 2006).

Com o intuito de se defender dos efeitos negativos promovidos pelos radicais livres, as células desenvolveram diversos mecanismos de neutralização que têm como finalidade retardar ou inibir danos celulares que se baseiam em compostos que têm a capacidade de compartilhar elétrons (Shami & Moreira, 2004).

Segundo Cerqueira, Medeiros, & Augusto, (2007), o sistema celular de proteção à agentes oxidantes apresenta limitada capacidade de defesa, o que levaria a uma dependência de fontes externas, especialmente quando submetidas a estados de elevado estresse oxidativo, como inflamações, poluição e radiações.

Para minimizar os processos oxidativos nos alimentos, diversos compostos têm sido utilizados pela indústria de alimentos, especialmente agentes sintéticos, como o TBHQ (butilhidroquinona terciária), o BHT (butil hidroxitolueno) e o BHA (butil hidroxianiso) (Bozkurt, 2006). No início da década de 90 alguns destes princípios foram associados ao desenvolvimento de diversas patologias, em especial o câncer de pulmão e danos hepáticos (Durán & Padilla, 1993).

A partir da elucidação das atividades negativas ocasionadas pelos antioxidantes de origem sintética presentes nos alimentos, a indústria de alimentos tem procurado alternativas que garantem o mesmo padrão de proteção, sem que apresentem os mesmos inconvenientes.

Dentre as alternativas viáveis que mais atendem a essa nova demanda, os carotenoides têm se mostrado bastante eficientes em conferir proteção aos alimentos, por atribuir atividade antioxidante ao produto, o que beneficiaria o consumidor devido à sua atividade nutracêutica (Ahn et al., 2002; Mattea, Martín, & Cocero, 2009). A intensidade com que os carotenoides protegem as células contra o ataque de agentes oxidativos é variável, sendo consequência, em especial, do sistema de duplas ligações conjugadas que torna possível a captação dos radicais livres, principalmente o radical alquilperoxila (ROO^{\bullet}) (Cerqueira, Medeiros, & Augusto, 2007).

Os carotenoides compõem um grupo de pigmentos naturais com mais de 600 compostos (Prache, Priolo, & Grolier, 2003; Nozière et al., 2006), distribuídos nas

plantas, bactérias, fungos (Mattea, Martín, & Cocero, 2009), e participam de diversas funções vitais no metabolismo celular destes e são classificados como: metabólitos primários, que são os essenciais ao processo fotossintético, entre eles estão o β -caroteno e a luteína; enquanto os metabólitos secundários estão diretamente envolvidos na sobrevivência da planta, como por exemplo, o α -caroteno, o licopeno e a capsantina (Mattea, Martín, & Cocero, 2009).

Como os animais são incapazes de sintetizá-los, estes devem ser ingeridos via dieta, uma vez que participam de importantes processos metabólicos, em especial como precursores da vitamina A e como protetores contra a atividade dos radicais livres (Rodrigues-Amaya, 2001).

Algumas décadas atrás a indústria animal, só considerava de importância nutricional os 50 carotenoides com atividade pro-vitamina A (Mangels, Holden, Beecher, Forman, & Lanza, 1993). Enquanto os demais eram considerados elementos inertes, porém, mais recentemente, vários dos compostos não precursores da vitamina A têm despertado a atenção, especialmente por promoverem melhorias na qualidade nutricional e na durabilidade dos produtos quando fornecidos na dieta dos animais de produção ou acrescentados antes do processamento térmico (Castro, Mariutti, & Bragagnolo, 2011; Figueirêdo, Trad, Mariutti, & Bragagnolo, 2014).

No processo de fabricação dos embutidos são utilizados vários condimentos com atividade antioxidante e dentre eles temos: o urucum, o alecrim, a sálvia, o eritorbato de sódio, além dos antioxidantes sintéticos. Estes são adicionados ao alimento para minimizar o efeito da oxidação lipídica durante o armazenamento (Mariutti & Bragagnolo, 2009).

Além da possibilidade do prolongamento da durabilidade dos cárneos, alguns desses princípios ativos podem modificar o perfil dos ácidos graxos depositados nos tecidos animais, favorecendo o acúmulo dos ácidos graxos de interesse, como os poli-insaturados (Kamari et al., 2011) e reduzindo aqueles com potencial causador de danos à saúde humana, conforme observou Rocha (2014), quando forneceu a ovinos dietas contendo bixina, principal carotenoide do urucum (*Bixa orellana* L.).

O potencial promissor da bixina como aditivo para assegurar a estabilidade oxidativa de produtos alimentícios foi ratificado por Scotter (1995), que concluiu que a proteção oxidativa conferida pelo extrato de urucum foi superior àquela proporcionada pelos principais antioxidantes sintéticos utilizados atualmente pela indústria, o BHT e o

BHA, especialmente por proteger a desoxirribose de danos oxidativos e promover a neutralização dos peróxidos.

Segundo Mercadante e Pfander (2001), a bixina possui configuração *cis* no C9, e clivagem na dupla ligação entre o 5' e 6', a princípio acredita-se que a bixina é formada a partir da degradação oxidativa dos carotenoides com 40C, Apesar de terem encontrado dados parecidos com os de Bovier et al. (2003), acreditava-se que a síntese de bixina ainda não estava totalmente detalhada, assim, existindo apenas suposições.

2. Formações de óxidos de colesterol em produtos cárneos

O colesterol é o principal esteroide encontrado em animais superiores, nos quais participa ativamente do metabolismo agindo como precursor da síntese de sais biliares, pró-vitamina D e hormônios esteroides. Entretanto, o colesterol tende a ser facilmente oxidado quando exposto as espécies reativas do oxigênio (ERO), radiação, luz, calor, íons metálicos, entre outros fatores; originando, por sua vez, os óxidos de colesterol (COPs) (Morales-Aizpurúa & Tenuta-Filho, 2002).

Os COPs são originados durante os processos oxidativos que acontecem por via não-enzimática que comumente são conhecidas como auto oxidação, peroxidação lipídica e oxidação fotoquímica (Laguerre, Lecomte, & Villeneuve, 2007; Smith, 1996). A formação dos COPs se assemelha à oxidação lipídica e como esta, pode ser iniciada através da exposição à luz, oxigênio singlete e radicais livres (Mariutti, Nogueira, & Bragagnolo, 2008).

Apesar da grande importância do colesterol no metabolismo animal, suas formas oxidadas são citotóxicas, mutagênicas e carcinogênicas e estão intimamente ligadas ao aparecimento de doenças cardiovasculares, como a aterosclerose (Soto-Rodríguez et al., 2008). Portanto, a formação dos óxidos de colesterol é motivo de preocupação, devendo-se minimizar sua formação endógena, e evitar o consumo de alimentos ricos nestes compostos, conforme alertou Addis (1986).

A oxidação do colesterol pode gerar mais de 80 tipos de óxidos, entretanto, os mais encontrados nos alimentos são o 7-cetocolesterol (7-Ceto), 25-hidroxicolesterol (25-OH), 7 α -hidroxicolesterol (7 α -OH), 7 β -hidroxicolesterol (7 β -OH), 5,6 α -epoxicolesterol (5,6 α -epóxido), 5,6 β -epoxicolesterol (5,6 β -epóxido) e o colestanoetriol

(Triol), conforme a Fig. 1 (Chen, 1994; Tenuta-Filho, Morales-Aizpurúa, Moura, & Kitahara, 2003).

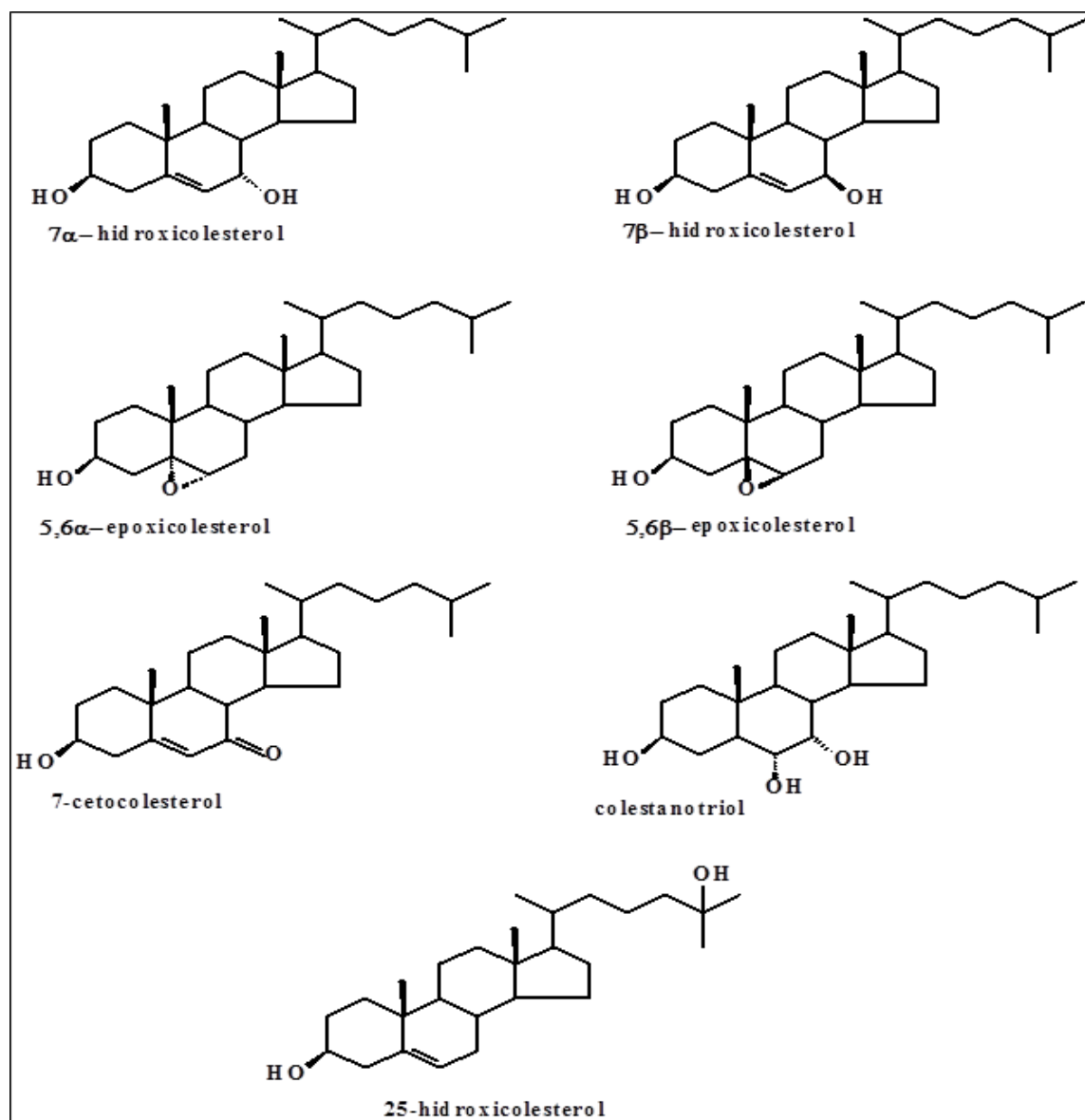


Fig 1. Esquema dos principais óxidos de colesterol encontrados nos alimentos processados.

Dentre estes, os que têm merecido especial destaque pela comunidade científica são: o 7-ceto, o β -epóxido e o α -epóxido, que são amplamente conhecidos por seus efeitos deletérios à saúde humana, pois estão diretamente relacionados ao desenvolvimento da aterosclerose, doenças coronárias, alterações de sabores e odores durante o tempo do armazenamento dos alimentos (Hur, Park, & Joo, 2007a).

Conforme constatação de Savage, Dutta, & Rodriguez-Estrada (2002), os níveis dos óxidos de colesterol encontrados em produtos de origem animal *in natura* são baixos, porém quando estes passam por algum tipo de processamento principalmente térmico, sua concentração se eleva significativamente. Os resultados obtidos por Lercker & Rodrigues-Estrada (2000), para 7-ceto, ratificaram o efeito do processamento sobre a geração desses óxidos, uma vez que encontraram concentração de 3,5 µg/100g para a carne bovina *in natura* e 5,0 µg/100g para produtos com a carne bovina processada.

Portanto, dado aos efeitos deletérios à saúde ocasionados pelo consumo de produtos ricos em óxidos de colesterol, Savage, Dutta, & Rodriguez-Estrada, (2002), salientaram os pontos positivos da utilização de antioxidantes na dieta animal e no processamento da carne como prática para reduzir sua formação.

3. Oxidação lipídica

A oxidação lipídica representa um dos passos iniciais da deterioração de carnes, quando compostos como os aldeídos são gerados. E estes são responsáveis pelas alterações deletérias no sabor, na textura, qualidade e na durabilidade, gerando substâncias tóxicas (Waraho, McClements, & Decker, 2011). Durante o processamento térmico as duplas ligações dos ácidos graxos insaturados são clivadas, enquanto é incorporado o oxigênio à molécula, via atividade dos radicais livres e, em menor intensidade, reações catalisadas pelas enzimas peroxidase, lipoxigenases e cicloxigenases (Min, Nam, & Cordray, 2008; Morrissey, Sheehy, Galvin, Kerry, & Buckley, 1998).

Assim como os alimentos, todas as células vivas são passíveis de danos causados pelos produtos da oxidação lipídica e, para isso, os organismos vivos desenvolveram mecanismos para neutralizá-los, em que estão envolvidas enzimas e vitaminas antioxidantes. Apesar do aparato de proteção, em condições de elevado estresse oxidativo, o mecanismo não confere total defesa, uma vez que a elevação na formação das espécies reativas de oxigênio (EROS) e de nitrogênio superam a sua capacidade de neutralização, portanto, nesses casos, há necessidade de um aporte externo de antioxidantes, o que é conseguido via dieta humana ou a incorporação nos produtos de origem animal (Cerqueira, Medeiros, & Augusto, 2007; Wang et al., 2011).

As principais EROS originadas durante a oxidação lipídica, são: o superóxido, a alcóxila, a peróxila, a hidroxila, o óxido nítrico, o peróxido de hidrogênio, o ácido hipocloroso, o oxigênio singlete e o peroxinitrito.

Em geral, os produtos de origem animal são susceptíveis a oxidação lipídica devido à elevada quantidade de ácidos graxos insaturados e colesterol presentes nestes produtos (Castro, Mariutti, & Bragagnolo, 2011). No entanto, os ruminantes apresentam uma elevada quantidade de ferro na mioglobina (Kiliç, Simsek, Claus, & Atilgan, 2014), que funciona como catalizador dessas reações, o que justificaria a maior predisposição aos processos oxidativos nos produtos cárneos (Apte & Morrissey, 1987; Hur, Park, & Joo, 2007a).

O ferro presente no grupo heme participa do processo de oxidação lipídica devido a seu estado de valência (Faustman, Sun, Mancini, & Suman, 2010), esse processo é chamado de reação de Fenton (Min, Nam, & Cordray, 2008). O ferro livre também atua no processo de oxidação, além de ressaltar que com o processamento térmico dos alimentos o ferro muda de valência ocasionando a chamada metoximioglobina, que caracteriza a mudança de cor dos alimentos processados (Apte & Morrissey, 1987). No entanto, não é só o ferro que contribui para a oxidação lipídica, de acordo com Cheng et al. (2011) a suplementação a base de cobre também aumenta a lipólise no tecido adiposo e do fígado dos animais, e assim contribui para o início da oxidação endógena.

Com a finalidade de elevar a estabilidade oxidativa dos produtos desses animais, é utilizada a prática da suplementação nutricional com compostos que desempenham atividade antioxidante, como elevadas doses de vitamina E, ácido ascórbico e carotenoides, ou também retirada da suplementação dos microminerais como o ferro e cobre, já que os mesmos são pró-oxidativos (Morrissey et al., 1998).

Além do aumento da durabilidade do produto, a utilização de técnicas que inibam os processos oxidativos também podem proporcionar ganhos à saúde do consumidor, uma vez que, produtos gerados durante o processo de fabricação apresentam risco à saúde, como é o caso do malonaldeído, o 4 hidroxinonal e os óxidos de colesterol que apresentam ação carcinogênica, pró-desenvolvimento de doenças cardiovasculares, envelhecimento precoce (Botsoglou, Fletouris, & Papageorgiou, 1994; Shamberger,

Barbara, & Willis, 1977;), e também doenças como Alzheimer e Parkinson (Bruce-keller et al., 1998; Fusco, Colloca, Lo Monaco, & Cesari, 2007).

Portanto, a utilização de antioxidantes naturais, como os carotenoides, a vitamina E, a vitamina C podem ser uma importante ferramenta para elevar a estabilidade oxidativa dos alimentos, e assim aumentar a durabilidade do mesmo, além de conferir propriedades nutracêuticas ao produto.

4. Efeito dos tratamentos térmicos sobre a composição da carne

Entre os constituintes dos cárneos, a fração lipídica é considerada a mais termossensível, pois quando submetida a altas temperaturas, partes de seus constituintes são degradados originando compostos que irão favorecer alterações indesejáveis, tais como o aparecimento de produtos como os COPs e o malonaldeído (Rodriguez-Estrada, Penazzi, Caboni, Bertacco, & Lercker, 1997).

A intensidade com que a fração lipídica é degradada quando submetida a processamentos térmicos está diretamente relacionada ao seu perfil de ácidos graxos, pois gorduras ricas em ácidos graxos insaturados tenderão a se degradarem mais intensamente e, como consequência, terão sua perda de qualidade mais pronunciada (Ansorena et al., 2013; Nogueira, Costa, Crotti, & Bragagnolo, 2010; Souza & Bragagnolo, 2014).

A maior sensibilidade dos ácidos graxos insaturados dos alimentos ao processamento térmico tem sido um desafio para a cadeia produtiva animal, uma vez que a incorporação de compostos, como o ômega 3, têm sido intensificada para atender a demanda por produtos com características benéficas à saúde (Santé-Lhoutellier, Engel, & Gatellier, 2008).

A preocupação em minimizar os efeitos deletérios do tratamento térmico sobre a fração insaturada dos lipídeos em cárneos pode está associada a preservação do grupo dos ácidos graxos conhecidos genericamente como CLA (ácido linoleico conjugado) os quais, são benéficos á saúde. Com isso, vários trabalhos recentes têm como objetivo reduzir a concentração dos ácidos graxos saturados e elevar as concentrações dos insaturados nos produtos de origem animal (Almeida et al., 2013; Bhattacharya et al., 2005; Corl et al., 2008; Hur, Park, & Joo, 2007b; Molquentin, 2000).

O interesse em elevar a concentração de CLA na carne é decorrente de diversas atividades benéficas aos seres humanos, em especial a redução da gordura corpórea e ao aparecimento de doenças como câncer (Gutgesell et al., 2009; Salgado et al., 2012; Von Soosten, Meyer, Piechotta, Flachowsky, & Dänicke, 2012). Os malefícios estão diretamente ligados a sua estrutura química que é caracterizada por números de saturações e configuração *cis* ou *trans*, embora, a bioatividade é exclusiva das que apresentam configuração *trans* (Jenkins, 1993).

Além das características intrínsecas dos alimentos estarem relacionadas à uma maior sensibilidade, ao tipo de processamento que influencia na composição, como constatado por Gerber, Scheeder, & Wenk, (2009) quando estudaram o efeito do tratamento térmico (cozimento a vapor, grelhado e frito) sobre diferentes cortes (peito, costela e bisteca) de carne bovina e suína concluíram que, independente do corte e espécie, todos os tratamentos ocasionaram alterações na composição das carnes.

Dentre os métodos utilizados para o preparo de cárneos, a fritura é considerada um dos mais prejudiciais à saúde, pois é responsável pelas maiores alterações ocorrente na composição, e com isso, promovem um aumento na quantidade de gordura saturadas e de compostos maléficicos a saúde.

Com o intuito de avaliar o efeito do método de cocção menos prejudicial à saúde humana, vários trabalhos foram realizados, diversos deles analisando a influência da fritura e o tipo de óleo utilizado (Cuesta, Romero, & Sánchez-Muniz, 2001; Garcia-Arias et al., 2003; Naseri, Abedi, Mohammadzadeh, & Afsharnaderi, 2013). Estes autores constataram que a fritura elevou os teores de gordura independentemente do tipo de óleo utilizado, pois o óleo utilizado penetra no alimento após a perda parcial da água por evaporação.

Contudo, independente do tratamento térmico, mudanças na composição, estabilidade oxidativa e no perfil dos ácidos graxos irão ocorrer (Gerber et al., 2009; Weber et al., 2008), devido a oxidação não-enzimática mediada pelos radicais livres (Laguerre et al., 2007).

Como as alterações na composição são inerentes ao processamento de cárneos, alguns trabalhos têm avaliado a utilização do urucum, da bixina, da norbixina e do eritorbato de sódio que se mostraram eficientes em reduzir a formação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e a oxidação do colesterol durante o tratamento térmico

(Castro, Mariutti, Bragagnolo, 2011; Figueirêdo, Trad, Mariutti, & Bragagnolo, 2014; Kiokias & Gordon, 2003).

Portanto, como a elevação da qualidade nutricional dos cárneos se dá especialmente pela elevação do grau de insaturação de sua fração lipídica, torna-se de fundamental importância desenvolver técnicas que garantam a sua integridade durante o processamento térmico, uma vez que a grande maioria destes produtos são consumidos após algum processamento térmico.

Dentre as técnicas disponíveis, a utilização de compostos naturais com atividade antioxidantes na dieta de animais de produção, como os carotenoides, tem se mostrado uma alternativa muito promissora.

Referências Bibliográfica

- Addis, P. B. (1986). Occurrence of lipid oxidation products in foods. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 24, 1021-1030.
- Ahn, H. S., Jeon, T., Lee, J. Y., Hwang, S. G., Lim, Y., & Park, D. K. (2002). Antioxidative activity of persimmon and grape seed extract: In vitro and in vivo. *Nutrition Research*, 22, 1265–1273.
- Almeida, O. C., Pires, A. V., Susin, I., Gentil, R. S., Mendes, C. Q., Queiroz, M. A. A., Eastridge, M. L. (2013). Milk fatty acids profile and arterial blood milk fat precursors concentration of dairy goats fed increasing doses of soybean oil. *Small Ruminant Research*, 114(1), 152–160.
- Ansorena, D., Barriuso, B., Cardenia, V., Astiasarán, I., Lercker, G., & Rodriguez-Estrada, M. T. (2013). Thermo-oxidation of cholesterol: Effect of the unsaturation degree of the lipid matrix. *Food Chemistry*, 141(3), 2757–2764.
- Apte, S., & Morrissey, P. (1987). Effect of water-soluble haem and non-haem iron complexes on lipid oxidation of heated muscle systems. *Food Chemistry*, 26, 213-222.
- Bhattacharya, A., Rahman, M., Sun, D., Lawrence, R., Mejia, W., Mccarter, R., Fernandes, G. (2005). The Combination of Dietary Conjugated Linoleic Acid and Treadmill Exercise Lowers Gain in Body Fat Mass and Enhances Lean Body Mass in High Fat – Fed Male Balb / C Mice 1, (December 2004), 1124–1130.
- Botsoglou, N. a, Fletouris, D. J., & Papageorgiou, G. E. (1994). Rapid , sensitive , and specific thiobarbituric scid sethod for measuring lipid peroxidation in animal tissue , food , and feedstuff samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 1931–1937.
- Bozkurt, H. (2006). Utilization of natural antioxidants: Green tea extract and *Thymbra spicata* oil in Turkish dry-fermented sausage. *Meat Science*, 73, 442–450.
- Bruce-Keller, A. J., Li, Y. J., Lovell, M. A., Kraemer, P. J., Gary, D. S., Brown, R. R., ... Mattson, M. P. (1998). 4-Hydroxynonenal, a product of lipid peroxidation, damages cholinergic neurons and impairs visuospatial memory in rats. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 19, 33-36.

- Castro, W. F., Mariutti, L. R. B., & Bragagnolo, N. (2011). The effects of colorifico on lipid oxidation, colour and vitamin E in raw and grilled chicken patties during frozen storage. *Food Chemistry*, *124*, 126–131.
- Cerqueira, F. M., De Medeiros, M. H. G., & Augusto, O. (2007). Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. *Química Nova*, *30*, 441–449.
- Chen, Y. C. (1994). Evaluation of the analysis of cholesterol liquid chromatography, *661*, 127–136.
- Cheng, J., Ma, H., Fan, C., Zhang, Z., Jia, Z., Zhu, X., & Wang, L. (2011). Effects of different copper sources and levels on plasma superoxide dismutase, lipid peroxidation, and copper status of lambs. *Biological Trace Element Research*, *144*, 570–579.
- Corl, B. A., Oliver, S. A. M., Lin, X., Oliver, W. T., Ma, Y., Harrell, R. J., & Odle, J. (2008). Conjugated Linoleic Acid Reduces Body Fat Accretion and Lipogenic Gene Expression in Neonatal Pigs Fed Low- or High-Fat Formulas 1 – 3, (December 2007), 449–454.
- Cuesta, C., Romero, a., & Sánchez-Muniz, F. J. (2001). Fatty Acid Changes in High Oleic Acid Sunflower Oil during Successive Deep-Fat Fryings of Frozen Foods. *Food Science & Technology International*, *7*, 317–328.
- Durán, M. R., & Padilla, B. R. (1993). Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. *Grasas Y Aceites*, *44*, 101–106.
- Faustman, C., Sun, Q., Mancini, R., & Suman, S. P. (2010). Myoglobin and lipid oxidation interactions: Mechanistic bases and control. *Meat Science*, *86*, 86–94.
- Figueirêdo, B. C., Trad, I. J., Mariutti, L. R. B., & Bragagnolo, N. (2014). Effect of annatto powder and sodium erythorbate on lipid oxidation in pork loin during frozen storage. *Food Research International*, *65*, 137–143.
- Fusco, D., Colloca, G., Lo Monaco, M. R., & Cesari, M. (2007). Effects of antioxidant supplementation on the aging process. *Clinical Interventions in Aging*, *2*, 377–387.
- García-Arias, M. T., Álvarez Pontes, E., García-Linares, M. C., García-Fernández, M. C., & Sánchez-Muniz, F. J. (2003). Cooking-freezing-reheating (CFR) of sardine (*Sardina pilchardus*) fillets. Effect of different cooking and reheating procedures on the proximate and fatty acid compositions. *Food Chemistry*, *83*, 349–356.
- Gerber, N., Scheeder, M. R. L., & Wenk, C. (2009). The influence of cooking and fat trimming on the actual nutrient intake from meat. *Meat Science*, *81*, 148–154.
- Gutgesell, A., Ringseis, R., Schmidt, E., Brandsch, C., Stangl, G. I., & Eder, K. (2009). Downregulation of peroxisome proliferator-activated receptor α and its coactivators in liver and skeletal muscle mediates the metabolic adaptations during lactation in mice, 241–250.
- Halliwell, B. (2006). Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology*, *141*, 312–322.
- Hur, S. J., Park, G. B., & Joo, S. T. (2007a). Formation of cholesterol oxidation products (COPs) in animal products. *Food Control*, *18*, 939–947.
- Hur, S. J., Park, G. B., & Joo, S. T. (2007b). Biological activities of conjugated linoleic acid (CLA) and effects of CLA on animal products, *110*, 221–229.
- Jenkins, T. C. (n.d.). Lipid Metabolism In the Rumen. *Journal of Dairy Science*, *76*, 3851–3863.
- Kiliç, B., Şimşek, a., Claus, J. R., & Atilgan, E. (2014). Encapsulated phosphates reduce lipid oxidation in both ground chicken and ground beef during raw and cooked meat storage with some influence on color, pH, and cooking loss. *Meat Science*, *97*, 93–103.
- Kiokias, S., & Gordon, M. H. (2003). Antioxidant properties of annatto carotenoids. *Food Chemistry*, *83*, 523–529.

- Laguerre, M., Lecomte, J., & Villeneuve, P. (2007). Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Progress in Lipid Research*, 46, 244-82.
- Lercker, G., & Rodriguez-Estrada, M. T. (2000). Cholesterol Oxidation: Presence of 7-ketocholesterol in Different Food Products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13, 625-631.
- Mangels, A. R., Holden, J. M., Beecher, G. R., Forman, M. R., & Lanza, E. (1993). Carotenoid content of fruits and vegetables: an evaluation of analytic data. *Journal of the American Dietetic Association*, 93, 1-13.
- Mariutti, L. R. B., & Bragagnolo, N. (2009). A oxidação lipídica em carne de frango e o impacto da adição de sálvia (*Salvia officinalis* , L .) e de alho (*Allium sativum* , L .) como antioxidantes naturais Lipid oxidation of chicken meat and the impact of the addition of sage (*Salvia officinalis* ,. *Revista Do Instituto Adolfo Lutz*, 68, 1–11.
- Mariutti, L. R. B., Nogueira, G. C., & Bragagnolo, N. (2008). Optimization and validation of analytical conditions for cholesterol and cholesterol oxides extraction in chicken meat using response surface methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 2913–2918.
- Mattea, F., Martín, Á., & Cocero, M. J. (2009). Carotenoid processing with supercritical fluids. *Journal of Food Engineering*, v.93, p.255-263.
- Min, B. R., Nam, K. C., & Cordray, J. C. (2008). Factors Affecting Oxidative Stability of Pork , Beef , and Chicken Meat, 654.
- Molkentin, J. (2000). Occurrence and biochemical characteristics of natural bioactive substances in bovine milk lipids. *The British Journal of Nutrition*, 84 Suppl 1, S47–S53.
- Morales-Aizpurúa, I. C., & Tenuta-Filho, A. (2002). Óxidos de colesterol: ocorrência em alimentos, formação e efeitos biológicos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 38(4).
- Morrissey, P. A., Sheehy, P. J. A., Galvin, K., Kerry, J. P., & Buckley, D. J. (1998). Lipid stability in meat and meat products. *Meat Science*, 49, 73-86.
- Naseri, M., Abedi, E., Mohammadzadeh, B., & Afsharnaderi, A. (2013). Effect of frying in different culinary fats on the fatty acid composition of silver carp. *Food Science & Nutrition*, 1, 292–7.
- Nogueira, G. C., Costa, B. Z., Crotti, A. E. M., & Bragagnolo, N. (2010). Synthesis of 7-hydroperoxycholesterol and its separation, identification, and quantification in cholesterol heated model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 26-30.
- Nozière, P., Grolier, P., Durand, D., Ferlay, a, Pradel, P., & Martin, B. (2006). Variations in carotenoids, fat-soluble micronutrients, and color in cows' plasma and milk following changes in forage and feeding level. *Journal of Dairy Science*, 89, 2634–2648.
- Prache, S., Priolo, A., & Grolier, P. (2003). Persistence of carotenoid pigments in the blood of concentrate-finished grazing sheep: Its significance for the traceability of grass-feeding. *Journal of Animal Science*.81, 360-367.
- Rocha, D.V. (2014). Efeito da ingestão de bixina sobre a estabilidade oxidativa, concentração de colesterol e perfil de ácidos graxos da carne de ovinos. 77p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade acadêmica de Garanhuns, Garanhuns.
- Rodriguez-Amaya, D. (2001). *A Guide to Carotenoid Analysis in Foods. Life Sciences*.
- Rodriguez-Estrada, M. T., Penazzi, G., Caboni, M. F., Bertacco, G., & Lercker, G. (1997). Effect of different cooking methods on some lipid and protein components of hamburgers. *Meat Science*, 45, 365–375.

- Rosa, F. C.; Bressan, M. C.; Bertechini, A. G. (2006). Efeito de métodos de cocção sobre a composição química e colesterol em peito e coxa de frangos de corte. *Ciência Agrotec*, 30, 707-714.
- Salgado, J.M.; Ferreira, T.R.B.; Pestana, C.M.D. (2012). Conjugated linoleic acid combined with physical activity reduces body fat accumulation but does not modify lean body mass in male and female wistar rats. *Journal of medicinal food*, 15, 406-412.
- Santé-Lhoutellier, V., Engel, E., & Gatellier, P. (2008). Assessment of the influence of diet on lamb meat oxidation. *Food Chemistry*, 109, 573-579.
- Savage, G. P., Dutta, P. C., & Rodriguez-Estrada, M. T. (2002). Cholesterol oxides: Their occurrence and methods to prevent their generation in foods. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 11, 72-78.
- Scotter, M.J. (1995). Characterization of the coloured thermal degradation products of bixin from annatto and a revised mechanism for their formation. *Food Chemistry*, 53, 177-185.
- Shamberger, R. J., Barbara, A., & Willis, S. A. E. (1977). Malonaldehyde Content oÃ-Food1, 1404-1409.
- Shami, N. J. I. E., & Moreira, E. a M. (2004). Licopeno como agente antioxidante. *Revista de Nutricao*, 17, 227-236.
- Smith, L. L. (1996). Review of progress in sterol oxidations: 1987-1995. *Lipids*, 31, 453-487.
- Soto-Rodríguez, I., Campillo-Velázquez, P. J., Ortega-Martínez, J., Rodríguez-Estrada, M. T., Lercker, G., & Garcia, H. S. (2008). Cholesterol oxidation in traditional Mexican dried and deep-fried food products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21, 489-495.
- Souza, H. A. L., & Bragagnolo, N. (2014). New method for the extraction of volatile lipid oxidation products from shrimp by headspace-solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry and evaluation of the effect of salting and drying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 590-599.
- Tenuta-Filho, A., Morales-Aizpurúa, I. C., Moura, A. F. P. De, & Kitahara, S. E. (2003). Óxidos De Colesterol Em Alimentos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 39, 319-325.
- Von Soosten, D., Meyer, U., Piechotta, M., Flachowsky, G., & Dänicke, S. (2012). Effect of conjugated linoleic acid supplementation on body composition, body fat mobilization, protein accretion, and energy utilization in early lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 95, 1222-39.
- Wang, J., Guo, Y., Gao, J., Jin, X., Wang, Z., Wang, B., Li, Y. (2011). Ultrasonics Sonochemistry Detection and comparison of reactive oxygen species (ROS) generated by chlorophyllin metal (Fe, Mg and Cu) complexes under ultrasonic and visible-light irradiation. *Ultrasonics - Sonochemistry*, 18, 1028-1034.
- Waraho, T., McClements, D. J., & Decker, E. a. (2011). Mechanisms of lipid oxidation in food dispersions. *Trends in Food Science and Technology*, 22, 3-13.
- Weber, J., Bochi, V. C., Ribeiro, C. P., & Victo, D. M. (2008). Food Chemistry Effect of different cooking methods on the oxidation, proximate and fatty acid composition of silver catfish (*Rhamdia quelen*) filets, 106, 140-146.

III-CAPÍTULO I

EFEITO DOS TRATAMENTOS TÉRMICOS NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ESTABILIDADE OXIDATIVA DA CARNE DE OVINOS ALIMENTADOS COM SUBPRODUTO DO URUCUM

(Normas da revista Meat Science)

RESUMO

Efeito dos tratamentos térmicos na composição química e estabilidade oxidativa da carne de ovinos alimentados com subproduto do urucum

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito termoprotetor da bixina na carne de ovinos submetida a diferentes tratamentos térmicos. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x4 (quatro tratamentos térmicos e quatro concentrações de bixina na carne). Os tratamentos térmicos foram: *in natura*, cozimento, forno e fritura, e as concentrações de bixina foram: (1) sem inclusão, (2) com inclusão de 0,048 mg, (3) de 0,109 mg e (4) de 0,164 mg de bixina/kg de carne (base na matéria seca). As amostras foram obtidas a partir da secção transversal do corte comercial denominado de lombo. Para a determinação da composição química e estabilidade térmica da carne, foram realizadas as seguintes análises: matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), colesterol e óxidos de colesterol (COPs). Os tratamentos térmicos promoveram alterações na composição química e aceleraram os processos oxidativos dos componentes da carne ($P < 0,05$). A bixina conferiu maior estabilidade oxidativa à carne *in natura* ($P < 0,05$), indicando a sua efetividade para conservar e aumentar a vida útil dos produtos cárneos industrializados. Porém, não foi eficiente em inibir os processos oxidativos durante os tratamentos térmicos ($P > 0,05$). A concentração COPs foram influenciadas pelos tratamentos térmicos e pela bixina ($P < 0,05$). Os teores de 0.109 e 0.164 mg de bixina inibiram a formação dos COPs ($P < 0,05$). Conclui-se que a bixina não altera a composição química da carne ovina, e que os tratamentos térmicos contribuem para elevação dos constituintes da carne. A bixina foi capaz de retardar os processos oxidativos da carne ovina *in natura*. Porém não atribui o mesmo efeito na carne processa. Os tratamentos térmicos em combinação com a bixina promoveram redução do colesterol na carne.

Palavras-Chaves: Antioxidantes, ácidos graxos, colesterol, óxidos de colesterol, oxidação lipídica.

ABSTRACT

Effect of the heat treatments on the chemical composition and oxidative stability of the sheep fed beef byproduct of annatto

The objective of this study was to evaluate the effect of bixin termostabilizer in the flesh of sheep under different heat treatments. The experimental design was completely randomized in a 4x4 factorial scheme (four thermal treatments and four bixin concentrations in the flesh). The thermal treatments were: fresh, cooking, oven and frying, and the concentrations of bixin were: (1) no addition, (2) with addition of 0.048 mg (3) 0.109 mg and (4) 0.164 mg bixin / kg meat (dry matter basis). Samples were obtained from the cross section of the named commercial cut tenderloin. To determine the chemical composition and thermal stability of the flesh, the following analyzes were performed: dry matter, crude protein, ether extract, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), cholesterol and cholesterol oxides (COPs). The thermal treatment caused changes in the chemical composition and accelerate the oxidative processes of meat components ($P < 0.05$). The bixin has increased the oxidative stability of fresh beef ($P < 0.05$), indicating its effectiveness to conserve and increase the shelf life of processed meat products. However, it was not efficient to inhibit the oxidative processes during thermal treatments ($P > 0.05$). The COPs were influenced by concentration and for bixin heat treatments ($P < 0.05$). The contents of 0.109 and 0.164 mg of bixin inhibit the formation of COPs ($P < 0.05$). It is concluded that bixin does not alter the chemical composition of the lamb meat, and that heat treatments contribute to elevation of the meat constituents. The bixin was able to slow down the oxidative processes of sheep meat in natura. But does not give the same effect on handling meat. The heat treatments in combination with bixin promoted reduction of cholesterol in meat.

Keywords: Antioxidants, cholesterol, cholesterol oxides, fatty acids, lipid oxidation.

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas duas décadas a cadeia produtiva animal tem passado por grandes mudanças impostas pelas novas exigências mercadológicas, especialmente aquelas relacionadas às questões de saúde pública, impulsionadas a partir da criação da União Européia (Giovanella, 2006). A cadeia produtiva da carne de animais ruminantes está inserida neste contexto, uma vez que está diretamente relacionada a alimentos com elevado potencial oxidativo, devido aos seus altos teores de gordura.

Em consonância com essa realidade a cadeia produtiva tem como maior desafio oferecer ao consumidor produtos de qualidade desde a produção até o consumidor final, garantindo um produto com as características organolépticas preservadas.

Atualmente um dos maiores desafios para a manutenção da qualidade dos carnes é a proteção contra processos oxidativos a que sua fração lipídica é submetida, pois esses são responsáveis pelos passos iniciais de deterioração do produto. Além das alterações no aspecto nutricional e visual, os processos oxidativos dão origem a produtos prejudiciais à saúde, como o 4-hidroxinonal, o malonaldeído e os óxidos de colesterol que apresentam atividade pró-mutagênica e promotora de doenças cardiovasculares (Giuliano, Rosati, & Bramley, 2003).

A utilização dos carotenoides nas dietas dos animais de produção vem se destacando como uma ferramenta promissora, devido a sua atividade antioxidante. Entretanto, existem poucos relatos sobre as propriedades antioxidantes da bixina, principal carotenoide do urucum (*Bixa Orellana* L.) que corresponde cerca de até 80% do fruto e é responsável pela cor vermelho-alaranjado (Chisté, Yamashita, Gozzo, & Mercadante, 2011). Segundo Chisté et al. (2011) a bixina é capaz de inativar as espécies reativas de oxigênio, principalmente o radical peroxila (ROO), *in vitro*.

Esse carotenoide também pode estar associado à prevenção contra a degeneração da retina, de doenças cardiovasculares e cânceres (Huang & Prior, 2005), provavelmente pelo fato destas doenças estarem associadas aos produtos oriundos dos processos oxidativos *in vivo* (Chisté et al., 2011).

Portanto, objetivou-se avaliar a composição química, estabilidade oxidativa, colesterol e os óxidos de colesterol na carne de ovinos que obtinham diferentes concentrações bixina (0,000; 0,048; 0,109; 0,164 mg/kg de matéria seca), submetida a diferentes tratamentos térmicos, (*in natura*; cozimento; forno e fritura).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Animais e tratamentos

O experimento foi conduzido no departamento de zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, localizado em Recife. Foram utilizados 32 ovinos sem padrão racial definido (SPRD), machos inteiros, com peso vivo corporal de 23,17 (\pm 1,45) kg e idade média de 8 meses.

O período de confinamento foi de 78 dias, nos quais 20 foram para adaptação, e as rações fornecidas aos animais foram compostas por 45% de concentrado e 55% de volumoso, com base na matéria seca (MS) (Tabela 1 e 2), elaboradas conforme o NRC (2007) para atender as exigências de ovinos machos de 25 kg, com ganho diário de 200 g.

Tabela 1

Composição química dos ingredientes da dieta dos ovinos.

| Ingredientes | MS | MM | EE | PB | FDN | FDA | CNF | CHOT | NDT |
|-------------------|-------|------|------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Feno de tifton 85 | 874,6 | 60,6 | 17,2 | 71,5 | 765,6 | 422,2 | 85,1 | 850,7 | 510,0 |
| Subproduto/urucum | 858,0 | 63,2 | 81,2 | 145,5 | 451,0 | 201,8 | 259,1 | 710,1 | 646,0 |
| Farelo de soja | 887,9 | 61,6 | 18,2 | 478,1 | 161,2 | 41,3 | 280,9 | 442,1 | 820,0 |
| Milho | 874,6 | 16,5 | 53,4 | 87,8 | 144,0 | 41,3 | 642,7 | 786,7 | 850,2 |
| Ureia | 99,9 | - | - | 2820,0 | - | - | - | - | - |
| Sal mineral | 99,9 | 99,9 | - | - | - | - | - | - | - |

MS– matéria seca em g/kg de matéria natural; g/kg de matéria seca: PB- proteína bruta; EE- extrato etéreo; MM- matéria mineral; CHOT- carboidratos totais; FDN- fibra em detergente neutro; CNF- carboidratos não fibrosos; FDA- fibra em detergente ácido; NDT- nutrientes digestíveis totais.

Os tratamentos experimentais foram constituídos por quatro dietas, as quais eram constituídas por diferentes níveis de inclusão do subproduto do urucum (0, 100, 200, 300 g/kg) na MS (Tabela 2), que proporcionaram 0,000; 0,056; 0,113; 0,169 mg de bixina/kg de ração, com base na matéria seca (Tabela 2), resultando em carnes com concentrações de 0,000; 0,048; 0,109; 0,164 mg de bixina/kg de carne, respectivamente.

Na Tabela 3 está apresentado o perfil de ácidos graxos de alguns ingredientes da dieta.

Tabela 2

Proporção dos ingredientes e composição química (g/kg de MS na dieta) das dietas.

| Ingredientes | Níveis de subproduto do urucum (g/kg de MS na dieta) | | | |
|-----------------------------------|--|-------|-------|-------|
| | 0 | 100 | 200 | 300 |
| Feno tifton 85 | 55,0 | 55,0 | 55,0 | 55,0 |
| Milho | 30,0 | 22,2 | 12,8 | 4,1 |
| Farelo de soja | 13,0 | 10,8 | 10,2 | 8,9 |
| Subproduto do urucum ³ | 0,0 | 10,0 | 20,0 | 30,0 |
| Ureia | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| Sal mineral | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| Total | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 |
| Composição Química | | | | |
| Matéria seca | 878,5 | 876,5 | 874,7 | 872,8 |
| Matéria Orgânica | 943,7 | 940,0 | 935,3 | 931,5 |
| Extrato etéreo | 44,5 | 43,7 | 41,5 | 39,9 |
| Proteína bruta | 154,0 | 151,2 | 154,6 | 155,3 |
| FDN | 485,2 | 515,5 | 546,1 | 576,6 |
| FDA | 249,9 | 266,0 | 282,0 | 298,1 |
| CNF | 260,1 | 229,7 | 193,7 | 159,8 |
| CHOT | 745,3 | 745,2 | 739,3 | 736,4 |
| NDT | 729,5 | 727,3 | 703,0 | 710,2 |
| EM | 2,64 | 2,63 | 2,54 | 2,56 |
| Bixina | 0,000 | 0,056 | 0,113 | 0,169 |

Matéria seca em g/kg de matéria natural; g/kg de matéria seca: matéria orgânica; extrato etéreo; proteína bruta; FDN- fibra em detergente neutro; FDA- fibra em detergente ácido; CNF- carboidratos não fibrosos; CHOT- carboidratos totais; NDT- nutrientes digestíveis totais.

EM- energia metabolizável Mcal/kg de MS.

Bixina- mg de bixina/kg de MS da dieta.

Tabela 3

Perfil de ácidos graxos (mg/100g) de alguns ingredientes da dieta.

| Ácidos graxos | Alimentos | | |
|--------------------------|-----------|-------------------------|----------------|
| | Milho | Subproduto ¹ | Feno de tifton |
| Ácido mirístico (C14:0) | 2,80 | 2,55 | 5,47 |
| Ácido palmítico (C16:0) | 12,30 | 12,75 | 7,99 |
| Ácido esteárico (C18:0) | 11,43 | 9,32 | 2,95 |
| Ácido oleico (C18:1) | 13,29 | 18,21 | 13,59 |
| Ácido linoleico (C18:2) | 14,58 | 18,97 | 17,49 |
| Ácido linolênico (C18:3) | 0,19 | 0,16 | 0,22 |
| Outros | 24,93 | 32,22 | 32,56 |

¹ subproduto do urucum.

O abate dos animais foi realizado de acordo com a instrução da Normativa N°3 do MAPA (Brasil, 2000), logo após a pesagem as carcaças foram mantidas em câmara fria com temperatura de 1,0 °C por 24 horas.

As carcaças foram submetidas aos cortes conforme a metodologia adaptada de Cezar & Sousa (2007). Após a obtenção do corte comercial denominado lombo localizados entre a 1^a e 6^a vértebras lombares, que é constituído pelos músculos *Longissimus dorsi*, *Longissimus costarum*, *Psoas maior*, *Psoas menor*, *Obliquus*

abdominis internus, *Obliquus abdominis externus*, *Multifidus dorsi*, *Spinalis dorsi*, *Transversus abdominis*, as peças foram embaladas a vácuo, congeladas a $-18,0^{\circ}\text{C}$. Após isso, foram encaminhados à Unidade Acadêmica de Garanhuns/ UFRPE para posteriores análises de composição química e estabilidade oxidativa.

2.2 Tratamentos térmicos e preparo das amostras

As amostras experimentais foram obtidas por secção transversal do lombo de cada animal. Posteriormente os cortes foram descongelados em refrigerador a $4,0^{\circ}\text{C}$ por 24 horas e submetidos aos seguintes tratamentos:

1- *In natura*: após o descongelamento as amostras foram processadas e homogeneizadas para posterior análises. 2- Cozimento: os cortes foram colocados em panela de aço inoxidável contendo água fria e cozidos em temperatura média a $80,0^{\circ}\text{C}$ por 25 minutos (Alfaia et al., 2010).

3- Forno convencional: os cortes foram acomodados em assadeiras de vidro, posteriormente cobertas com papel alumínio e colocadas em forno pré-aquecido a $220,0^{\circ}\text{C}$ por 40 minutos (Alfaia et al., 2010).

4- Fritura: os cortes foram fritos em frigideira antiaderente contendo 20 mL de óleo de soja por 15 minutos, sendo virados a cada dois minutos, em temperatura média a $80,0^{\circ}\text{C}$ (Rosa et al., 2006). O experimento foi conduzido o mais próximo da realidade do consumo humano habitual.

Os tratamentos térmicos foram realizados no Laboratório de Análises de Alimentos (LAA) do curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Garanhuns.

2.3 Determinação da composição química da carne

A composição química foi realizada segundo os protocolos da AOAC (1990), para determinação dos teores de matéria seca (MS; ID 967.03), proteína bruta (PB; ID 981.10) e extrato etéreo (EE; ID 920.29). As concentrações de bixina foram determinadas de acordo com a metodologia sugerida por Castro, Mariutti, & Braganolo, (2011).

2.4 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Para avaliar a estabilidade oxidativa das carnes foi utilizado o método de quantificação do malonaldeído (MDA; PubChem CID: 10964), que é um dos principais produtos da decomposição dos hidroperóxidos e dos ácidos graxos poliinsaturados, formados durante os processos oxidativos. A quantificação se dá pela determinação da concentração das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) com a utilização de espectrofotômetro, conforme a metodologia descrita por Pfalzgraf et al., (1995).

2.5 Colesterol e Óxidos de colesterol

2.5.1 Preparo das amostras

As análises do colesterol e óxidos de colesterol (COPs) foram realizadas na Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas (SP). Para esta determinação, os cortes foram submetidos aos tratamentos térmicos, seguindo a metodologia descrita por Alfaia et al. (2010) e Rosa et al. (2006), após desossados, foram moídos em processador (Walita[®]) até se obter uma massa homogênea.

As amostras foram submetidas à extração de colesterol e COPs, através da saponificação direta a frio, de acordo com a metodologia descrita por Mariutti, Nogueira, & Bragagnolo (2008).

2.5.2 Padrões utilizados

Para a identificação e a quantificação de colesterol e COPs foram utilizados os padrões, colesterol (5-colesten-3 β -ol; PubChem CID: 5997) 20 α -hidroxicolesterol (20 α -OH; PubChem CID: 440.711), 22 S-hidroxicolesterol (22S-OH; PubChem CID: 168038), 22 R-hidroxicolesterol (22R-OH; PubChem CID: 167685), 25-hidroxicolesterol (25-OH; PubChem CID :99.469), 5,6 α -epoxicolesterol (α -EP; PubChem CID: 288.202), 5,6 β -epoxicolesterol (β -EP; PubChem CID: 6453234), o 7-cetocolesterol (7-ceto; PubChem CID: 91.474), e o colestanoetriol (Triol; PubChem CID:155.754) adquiridos da Sigma[®] (Milford, MA, USA); O 7 β -hidroxicolesterol (7 β -

OH; PubChem CID: 473141) e o 7 α -hidroxicolesterol (7 α -OH; PubChem CID: 107722) adquiridos da Steraloids[®] (Newport, RI, USA), com as purezas variando entre 95 a 98%.

2.5.3 Análise do colesterol e COPs por CLAE

A análise do colesterol e COPs foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em HPLC Shimadzu[®] equipado com detectores UV-Visível (SPD-10 AVVP) e índice de refração (IR) (RID-10 A). A separação dos compostos foram realizadas em coluna analítica Nova Pack[®] CN HP (300 mm x 3,9 mm x 4 μ m, Waters), nas seguintes condições: fase móvel constituída por hexano:isopropanol (97:3), vazão de 1,0 mL/min e temperatura do forno ajustada para 32,0 °C.

A identificação foi realizada por comparação dos tempos de retenção dos picos das amostras e padrões de referência, conforme proposto por Saldanha, Sawaya, Eberlin, & Bragagnolo. (2006). A quantificação foi realizada por padronização externa, através de curvas analíticas constituídas por seis pontos com concentrações variando de 0,08 a 4,0 mg/mL (colesterol) e 0,5 a 100,0 μ g/mL (COPs) (Mariutti, Nogueira, & Bragagnolo, 2008). O colesterol e os 5,6 peróxidos (α - β) foram quantificados pelo detector de índice de refração, enquanto que os outros óxidos foram quantificados pelo detector UV-visível a 210 nm. Os limites de detecção foram de 0,06 mg/g para o colesterol, e 0,01-0,04 μ g/g para os COPs no detector UV, e 1,98-2,12 μ g/g para os COPs detectados pelo IR (Tabela 5) adaptada de (Mariutti, Nogueira, & Bragagnolo, 2008).

2.5.4 Análise do colesterol e dos COPs por CLAE-MS/MS

Para a confirmação da identidade dos COPs, as amostras foram injetadas em HPLC (Shimadzu[®]) equipado com bomba quaternária (Modelo LC-20AD), unidade desgaseificadora (DGU-20A5), válvula de injeção Rheodyne com loop de 20 μ L e detectores de arranjo de diodos (DAD) (SPD-M20A) e de espectrometria de massas (MS) com fonte de ionização APCI e analisador de massa/carga (m/z) *ion-trap*. As condições do HPLC foram às mesmas descritas acima. Os parâmetros do espectrômetro de massas foram as seguintes: modo positivo, temperatura da fonte de ionização; 400,0 °C; descarga da corona; 4000,0 nA; temperatura e fluxo do gás de secagem (N₂); 300,0

°C e 5,0 L/min, respectivamente; nebulizador, 65 psi. Os espectros de massas foram obtidos na faixa de m/z de 80 a 450. Os espectros de massas das amostras foram comparados aos dos padrões COPs (Fig. 2), conforme Mariutti, Nogueira, & Bragagnolo (2008).

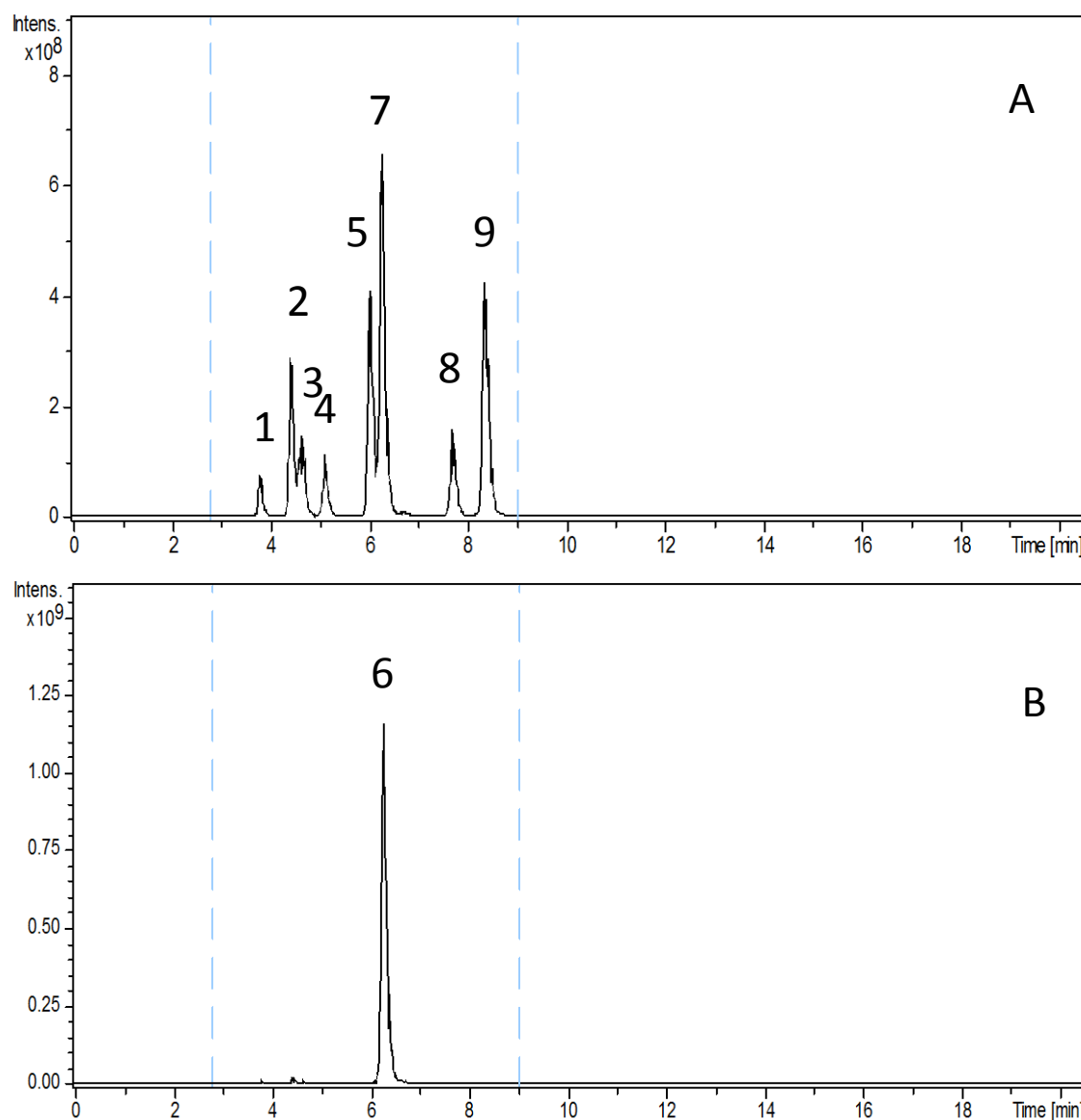


Fig 2. Cromatogramas obtidos por meio de HPLC-MS/MS de padrões dos óxidos de colesterol. Na figura A se encontra os seguintes picos 22R (1), 22S (2), 20 α -OH (3), 25-OH (4), 7 α -OH (5), 7 β -OH (7), 5,6 β -epox (8), 5,6 α -epox (9), na figura B o 7-ceto (6).

2.6 Análise estatística

O experimento foi conduzido utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema de tratamento fatorial 4x4, com um tratamento *in natura* e três tratamentos térmicos; (cozimento, forno e fritura) e quatro concentrações de

bixina distribuídos nos seguintes tratamentos: (1) dieta sem inclusão de bixina, (2) dieta com 0,056 mg de bixina/kg na MS, (3) dieta com 0,113 mg de bixina/kg na MS e (4) dieta com 0,169 mg de bixina/kg na MS, com oito repetições por tratamento. A inclusão da bixina na dieta proporcionou as seguintes concentrações de bixina na carne 0,000; 0,048; 0,109 e 0,164 mg de bixina/kg de carne.

Todas as variáveis foram analisadas a partir da análise de variância (ANOVA) com posterior análise de comparação múltiplas das médias, pelo teste *t* para médias de mínimos quadrados, ao nível de significância de 5%, com uso do Software SAS[®] versão 9.2.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Composição química da carne versus tratamentos térmicos

Os tratamentos térmicos promoveram alterações na composição química (Tabela 4) da carne ovina ($P < 0,05$). Dentre os tratamentos térmicos o forno e a fritura se destacaram por favorecerem a elevação dos teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE). O tratamento de cozimento obteve os menores teores de MS devido as perda de nutrientes ocasionadas pela água do cozimento.

A diminuição da MS nas carnes submetidas ao cozimento (Tabela 4) é decorrentes, segundo Broncano, Petró, Parra, & Timón (2009) em função das perdas dos seus constituintes, o que pode ser ratificado pelo trabalho de Tornberg (2005) que verificou o aparecimento de proteínas sarcoplasmáticas, colágeno, minerais e lipídeos na água após cozimento da carne bovina.

Os resultados obtidos por Gerber, Scheeder, & Wenk, (2009); Pinheiro, Jorge, Francisco, & Andrade, 2008; Serrano, Librelotto, Cofrades, Sánchez-Muniz, & Jiménez-Colmenero, 2007), também ratificam perdas de MS ocasionadas pelo cozimento da carne e apontaram que sua magnitude depende do tempo de cozimento, umidade e teor da gordura da carne.

O cozimento é apontado como o tratamento térmico mais saudável dentre os analisados, mas existem controvérsias, pois ele altera a composição dos alimentos e causa a redução dos ácidos graxos insaturados que são benéficos a saúde humana, além de ocasionar perdas de cálcio, fósforo, magnésio, potássio (Gerber, Scheeder, & Wenk,

2009) e vitamina B12 dos alimentos (Ortigue-Marty et al., 2006). Portanto, o ideal é sempre controlar a temperatura e o tempo do tratamento térmico, para minimizar tais perdas.

Tabela 4

Comparação múltipla das médias para a composição química da carne ovina por tratamento térmico e por concentração de bixina.

| | Tratamentos térmicos | | | |
|----------------|---------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | <i>In natura</i> | Cozimento | Forno | Fritura |
| Matéria seca | 213,04±17,42 ^C | 467,74±31,22 ^B | 538,02±53,22 ^A | 540,71±50,99 ^A |
| Proteína bruta | 232,87±29,36 ^C | 620,42±71,98 ^{AB} | 657,13±110,09 ^A | 600,04±97,93 ^B |
| Extrato etéreo | 19,84±2,74 ^C | 152,72±27,98 ^B | 178,88±34,60 ^A | 184,83±32,15 ^A |
| | Concentrações de bixina (mg/kg) | | | |
| | 0,000 | 0,048 | 0,109 | 0,164 |
| Matéria seca | 461,36±140,55 ^A | 439,00±132,05 ^B | 430,98±150,82 ^B | 428,16±147,03 ^B |
| Proteína bruta | 521,08±184,89 ^A | 520,82±180,59 ^A | 531,67±202,52 ^A | 536,89±202,58 ^A |
| Extrato etéreo | 129,99±69,84 ^B | 123,60±63,83 ^B | 147,55±81,24 ^A | 135,13±79,10 ^B |

Matéria seca em g/kg de matéria natural; Proteína bruta; Extrato etéreo em g/kg de matéria seca. Valores médios ± desvio padrão.

Letras maiúsculas diferentes na linha, respectivamente, diferem estatisticamente ($P < 0,05$) pelo teste *t* para médias de mínimos quadrados.

Quanto à concentração de PB, observa-se que os diferentes tratamentos térmicos diferiram ($P < 0,05$) do *in natura* (Tabela 4), indicando que, independentemente do tratamento térmico, a perda da umidade eleva a concentração de PB nos alimentos como resultado da desidratação do alimento (Pinheiro, Jorge, Francisco, & Andrade, 2008; Hosseini et al., 2014). Estes resultados também podem ser ratificados por Ersory & Özoren (2009), que verificaram aumento da PB após os seguintes tratamentos térmicos: cozimento, micro-ondas e fritura.

Como esperado, os menores valores de EE foram encontrados no tratamento *in natura*, pois os tratamentos térmicos elevaram a concentração de EE na carne, e os tratamentos que mais elevaram seus teores foram o forno e a fritura (Tabela 4), estes resultados estão correlacionados com os teores de MS da carne, e são decorrentes das perdas de água causadas pelo tratamento térmico. A explicação deste fato se dá pela água que é parcialmente perdida por evaporação através do tratamento térmico, e consequente pela concentração dos componentes da carne.

No tratamento de fritura podemos ressaltar que ocorre a incorporação do óleo de soja na carne, o que ocasiona o aumento de EE na amostra (Cuesta, Romero, & Sánchez-Muniz, 2001; García-Arias, Álvarez, García-Linares, García-Fernández, & Sánchez-Muniz, 2003; Naseri, Abedi, Mohammadzadeh, & Afsharnaderi, 2013). O

tratamento térmico do forno proporcionou maiores valores de EE como consequência das perdas de água ocorridas durante o processo de cozedura da carne, que é justificado pelos valores de MS (Tabela 4), pois à medida que ocorre perdas de água há um aumento nas concentrações dos demais nutrientes.

O aumento das concentrações de bixina na carne não influenciou a composição de MS e PB (Tabela 4), este fato pode ter sido em decorrência da dieta fornecida aos animais durante o experimento, a qual, não afetou a composição corporal dos ovinos.

No entanto, a carne com 0,109 mg de bixina/kg de MS da carne diferiu para os teores de EE ($P<0,05$) (Tabela 4), essa diferença pode ter sido decorrente do desvio padrão (Tabelas 4). As variações ocorridas nos teores de EE também podem ser atribuídas ao metabolismo e à maturidade fisiológica que ocorre em diferentes fases para cada indivíduo, quando se trata da deposição de tecido adiposo (Mendonça et al., 2003). Embora os ovinos tivessem a mesma idade cronológica ao abate, provavelmente não estavam em uma mesma maturidade fisiológica, que é a fase em que ocorre maior deposição do tecido adiposo.

Conforme observado nas variáveis da Tabela 5, os tratamentos térmicos promoveram alterações na composição química da carne ($P<0,05$).

Tabela 5

Comparações múltiplas das médias para a composição química da carne ovina submetida a diferentes tratamentos térmicos e concentrações de bixina.

| Bixina (mg/kg) | Tratamentos térmicos | | | |
|-----------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | <i>In natura</i> | Cozimento | Forno | Fritura |
| Matéria seca | | | | |
| 0,000 | 209,01 ± 8,96 ^{Ac} | 484,58 ± 38,75 ^{Ab} | 529,95 ± 62,06 ^{Ba} | 500,36 ± 47,22 ^{Bab} |
| 0,048 | 216,53 ± 13,16 ^{Ac} | 453,57 ± 19,05 ^{Ab} | 505,96 ± 40,10 ^{Ba} | 536,59 ± 37,83 ^{Ba} |
| 0,109 | 218,66 ± 12,08 ^{Ad} | 478,11 ± 15,07 ^{Ac} | 592,84 ± 36,24 ^{Aa} | 555,84 ± 38,16 ^{ABb} |
| 0,164 | 207,94 ± 29,09 ^{Ad} | 454,69 ± 36,79 ^{Ac} | 523,33 ± 28,62 ^{Bb} | 570,06 ± 60,54 ^{Aa} |
| Proteína bruta | | | | |
| 0,000 | 247,07 ± 24,77 ^{Ab} | 613,77 ± 79,89 ^{Aa} | 644,43 ± 87,49 ^{Ab} | 579,03 ± 141,04 ^{Aa} |
| 0,048 | 232,42 ± 21,02 ^{Ab} | 622,71 ± 49,73 ^{Aa} | 578,52 ± 99,53 ^{Ba} | 649,64 ± 43,80 ^{Aa} |
| 0,109 | 213,28 ± 13,67 ^{Ac} | 627,03 ± 46,13 ^{Ab} | 700,93 ± 110,60 ^{Aa} | 585,44 ± 69,35 ^{Ab} |
| 0,164 | 238,69 ± 43,24 ^{Ac} | 618,18 ± 108,85 ^{Ab} | 704,64 ± 108,90 ^{Aa} | 586,04 ± 109,87 ^{Ab} |
| Extrato etéreo | | | | |
| 0,000 | 42,00 ± 3,89 ^{Ac} | 147,52 ± 28,82 ^{Ab} | 165,76 ± 20,74 ^{Bab} | 186,14 ± 26,19 ^{Aa} |
| 0,048 | 42,00 ± 0,54 ^{Ab} | 148,03 ± 18,63 ^{Aa} | 163,19 ± 22,09 ^{Ba} | 164,20 ± 18,57 ^{Ba} |
| 0,109 | 45,42 ± 1,63 ^{Ab} | 167,98 ± 24,08 ^{Aa} | 170,33 ± 24,32 ^{Ba} | 186,56 ± 9,92 ^{Aa} |
| 0,164 | 43,40 ± 3,62 ^{Ac} | 147,34 ± 36,81 ^{Ab} | 216,26 ± 49,03 ^{Aa} | 202,41 ± 51,02 ^{Aa} |

Matéria seca em g/kg de matéria natural; Proteína bruta; Extrato etéreo em g/kg de matéria seca; Valores médios ± desvio padrão.

Letras maiúsculas diferentes na coluna e minúsculas nas linhas, respectivamente, diferem estatisticamente ($P<0,05$) pelo teste *t* para médias de mínimos quadrados.

Não houve diferença ($P>0,05$) para a carne *in natura* e cozimento nas diferentes concentrações de bixina para todas as variáveis analisadas (Tabela 5).

Os processamentos forno e fritura obtiveram os maiores teores para todas as variáveis analisadas nas concentrações de 0,109 e 0,164 mg de bixina/kg de MS na carne, indicando que a interação entre os tratamentos térmicos e as concentrações de bixina promovem elevação na concentração dos componentes da carne.

De modo geral como consequência da desidratação da amostra os tratamentos térmicos, estes promoveram elevação do valor nutricional das variáveis analisadas neste experimento.

3.2 Estabilidade oxidativa da carne ovina submetida a tratamentos térmicos

De maneira geral os tratamentos térmicos e as concentrações de bixina influenciaram os padrões oxidativos da carne ovina ($P<0,05$), conforme demonstra pelos valores de TBARS (Tabela 6).

O efeito pró-oxidante dos tratamentos térmicos evidenciados neste estudo são amplamente descritos pela literatura consultada (Castro, Mariutti, & Bragagnolo, 2011; Mariutti & Bragagnolo, 2009) e são atribuídos aos fatores que desencadeiam a oxidação lipídica, e são responsáveis pelas alterações na qualidade sensorial e nutricional da carne. Dentre esses fatores estão, a temperatura, o armazenamento, a embalagem, a duração do tempo de processamento, e as condições de exposição à luz (Mariutti, Nogueira, & Bragagnolo, 2008; Morales-Aizpurúa & Tenuta-Filho, 2002).

independentemente do tipo de tratamento térmico sempre haverá formação de produtos oriundos da oxidação lipídica (Hur, Park, & Joo, 2007; Tenuta-Filho, Morales-Aizpurúa, Moura, & Kitahara, 2003).

As concentrações de bixina influenciaram diferentemente a formação de TBARS ($P<0,05$) na Tabela 6, onde a maior concentração do carotenoide na carne favoreceu a ação pró-oxidante, como consequência promoveu a formação dos produtos prejudiciais à saúde humana. No entanto, a concentração de 0,109 mg de bixina/kg de MS na carne reduziu a formação de TBARS em relação às demais concentrações.

A elevação da concentração de bixina na carne elevou a estabilidade oxidativa da carne ovina *in natura* ($P<0,05$), comprovando que a introdução deste carotenoide na dieta dos animais é capaz de promover proteção à fração lipídica. Portanto, o uso de

bixina na carne *in natura* se constitui em uma ferramenta promissora para minimizar as reações da oxidação durante o congelamento e armazenamento da carne.

A redução de TBARS Tal redução foi decorrente da atividade antioxidante promovida pela bixina, que é conferida pela presença das duplas ligações na sua molécula, característica que, segundo Kiokias & Gordon (2003), contribui para o retardamento da autoxidação dos lipídeos. Atividade esta que decorre, segundo Castro, Mariutti, & Bragagnolo (2011), da capacidade que a molécula de bixina tem em complexar os íons de Fe^{++} presentes na mioglobina, e ainda podem atuar como sequestrante de oxigênio, uma vez que os mesmos são iniciadores do processo de oxidação lipídica.

Tabela 6

Comparações múltiplas das médias para substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS; mg/MDA/kg de carne) na carne ovina com diferentes concentrações de bixina, após tratamentos térmicos.

| Bixina (mg/kg) | Tratamentos térmicos | | | | |
|-------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|--------------------------|
| | <i>In natura</i> | Cozimento | Forno | Fritura | Médias |
| 0,000 | 7,69 ±0,94 ^{Ad} | 20,71 ±3,22 ^{Aa} | 16,83 ±2,43 ^{Cb} | 11,93 ±1,00 ^{Cc} | 14,99±6,76 ^{AB} |
| 0,048 | 4,59 ±0,59 ^{Bc} | 16,20 ±2,77 ^{Bb} | 19,09 ±2,50 ^{Ba} | 20,09 ±3,12 ^{Aa} | 14,29±5,39 ^B |
| 0,109 | 3,06 ±0,31 ^{Bc} | 13,82 ±1,47 ^{Bb} | 21,22 ±2,53 ^{Aba} | 14,68 ±1,81 ^{Bb} | 13,20±6,91 ^C |
| 0,164 | 1,36 ±0,17 ^{Cc} | 17,39 ±2,21 ^{Cb} | 21,98 ±3,33 ^{Aa} | 22,09 ±3,35 ^{Aa} | 15,70±9,11 ^A |
| Médias | 4,17±2,43 ^c | 17,03±3,50 ^b | 19,78±3,51 ^a | 17,20±4,48 ^b | |

MDA- malonaldeído; Valores médios ± desvio padrão.

Letras maiúsculas diferentes na coluna e minúsculas nas linhas, respectivamente, diferem estatisticamente ($P<0,05$) pelo teste *t* para medias de mínimos quadrados.

O tratamento de cozimento da carne sem bixina promoveu a formação de TBARS ($P<0,05$; Tabela 6) provavelmente devido ao processo de cozedura da carne favorecer a liberação do ferro, o qual contribui para o aumento da oxidação lipídica (Cheng et al., 2011; Kiliç, Simsek, Claus, & Atilgan, 2014). No entanto, quando analisamos dentre os tratamentos de carne com bixina, o tratamento térmico do cozimento foi o que menos favoreceu a formação de TBARS. Contudo, na concentração de 0,109 mg de bixina/kg de MS na carne, o cozimento não diferiu da fritura ($P<0,05$). O tratamento de forno foi o que mais favoreceu a formação de TBARS (Tabela 6), devido, possivelmente, a maior temperatura a que a carne foi submetida (220,0 °C).

Os resultados aqui encontrados são discrepantes da literatura, provavelmente pela adição da bixina na carne via alimentação, e não por adição como condimento o que mais usual dentro da literatura atual.

A bixina não foi muito eficaz em conferir proteção oxidativa à carne quando submetida aos tratamentos térmicos, como constatado para o tratamento *in natura* (Tabela 6), o qual a bixina conferiu atividade antioxidante satisfatória. Este fato ocorreu em consequência da instabilidade do carotenoide quando submetido aos tratamentos térmicos. Conforme salientam Castro, Mariutti, & Bragagnolo (2011) a molécula de bixina é termolábil quando submetida a altas temperaturas, e Figueiredo, Trad, Mariutti, & Bragagnolo (2014) verificaram que a sua degradação pode chegar a 70% do total de bixina na carne quando o tratamento térmico tem uma temperatura igual ou superior a 70°C.

Portanto, permite-se concluir que a bixina é um excelente antioxidante durante o processo de congelamento e armazenamento da carne, porém não confere a mesma atividade protetora quando submetida aos tratamentos térmicos.

3.3 Concentração de Colesterol e óxidos de colesterol (COPs) na carne ovina

Os teores obtidos para o colesterol na carne ovina, independente dos tratamentos térmicos e concentrações de bixina, foram superiores aos encontrados na literatura, com uma média de 160,51 mg de colesterol/100g de MS. Sendo este resultado superior ao encontrado por Madruga, Souza, Rosales, Cunha, & Ramos (2005), que verificaram médias de 51,50 mg de colesterol/100g de MS em amostras do pernil de cordeiros da raça Santa Inês. É superior também para o músculo *Longissimus dorsi* das raças Bergamácia e Santa Inês observado por Díaz et al. (2002) com valores médios de 71,50 mg de colesterol/100g de MS. E os valores encontrados por Zapata, Nogueira, Seabra, Barres, & Borges (2001) que observaram médias de 57,72 mg de colesterol/100g de MS.

Porém, Carvalho & Brochier (2008) encontraram valores médios de 186,51 mg/100g de MS para a raça Texel no músculo *Longissimus dorsi* que são superiores aos encontrados no presente estudo para animais SPRD. No entanto, estes autores atribuíram os elevados valores do colesterol à alimentação fornecida aos animais durante o período de confinamento, que era constituída por 60% de concentrado na MS da dieta. Vale salientar que os cordeiros apresentaram peso médio de 25 kg ao abate, valores diferentes aos deste estudo, com média geral de 33,52 kg ao abate.

A grande variabilidade dos valores de colesterol para a carne ovina pode ser consequência das variações do acúmulo de gordura entre as diferentes raças, que

depende da maturidade fisiológica e do tipo de alimentação, ou mesmo, pela metodologia empregada para a extração do colesterol, o que para a presente análise foi realizada no corte comercial lombo incluindo a gordura subcutânea, o que não ocorreu nos estudos descritos acima.

O efeito pró-oxidante dos tratamentos térmicos contribuíram para a diminuição ($P<0,05$) do colesterol na carne ovina (Tabela 7), esse fato é decorrente da oxidação do mesmo. Os valores do presente experimento são semelhantes aos encontrados na literatura, independente do tipo de alimento (cárneos, lácteos, ovos e massas alimentícias) que passaram por tratamento térmico, em todos ocorreram a redução dos teores de colesterol devido à oxidação do mesmo (Ansorena et al., 2013; Boselli, Cardenia, & Rodriguez-Estrada, 2012; Mazalli & Bragagnolo, 2007; Saldanha & Bragagnolo, 2008).

Tabela 7

Comparações múltiplas das médias para colesterol (mg/100g), 7-cetocolesterol ($\mu\text{g}/100\text{g}$) e 5,6 α -epoxicolesterol ($\mu\text{g}/100\text{g}$) na carne ovina com diferentes concentrações de bixina, após tratamento térmico.

| Bixina (mg/kg) | Tratamentos térmicos | | | |
|---|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| | <i>In natura</i> | Cozimento | Forno | Fritura |
| Colesterol | | | | |
| 0,000 | 136,65 \pm 6,39 ^{Ab} | 198,94 \pm 24,04 ^{Aa} | 190,13 \pm 9,17 ^{Aa} | 180,82 \pm 7,11 ^{Aa} |
| 0,048 | 135,09 \pm 3,93 ^{Ab} | 177,25 \pm 18,90 ^{Ba} | 138,01 \pm 19,34 ^{Bb} | 196,57 \pm 9,62 ^{Aa} |
| 0,109 | 154,06 \pm 7,01 ^{Aa} | 157,44 \pm 11,74 ^{Ca} | 177,55 \pm 4,89 ^{Aa} | 131,48 \pm 15,26 ^{Bb} |
| 0,164 | 147,09 \pm 10,53 ^{Ab} | 186,75 \pm 19,02 ^{Aa} | 124,69 \pm 0,72 ^{Cc} | 135,63 \pm 16,79 ^{Bbc} |
| 7-cetocolesterol | | | | |
| 0,000 | 1,62 \pm 0,25 ^{Ab} | 1,20 \pm 0,02 ^{Bc} | 1,47 \pm 0,21 ^{Bb} | 1,91 \pm 0,07 ^{Ba} |
| 0,048 | 1,39 \pm 0,14 ^{Ac} | 2,44 \pm 0,10 ^{Ab} | 1,46 \pm 0,02 ^{Cc} | 2,77 \pm 0,19 ^{Aa} |
| 0,109 | 1,53 \pm 0,18 ^{Ab} | 0,78 \pm 0,07 ^{Cc} | 2,26 \pm 0,00 ^{Aa} | 0,89 \pm 0,09 ^{Cc} |
| 0,164 | 0,96 \pm 0,11 ^{Bb} | 0,87 \pm 0,04 ^{Cb} | 1,75 \pm 0,28 ^{Ba} | 0,88 \pm 0,07 ^{Cbb} |
| 5,6α-epoxicolesterol | | | | |
| 0,000 | Nd | Nd | Nd | Nd |
| 0,048 | 0,76 \pm 0,05 ^{Aa} | 0,64 \pm 0,04 ^{Bb} | Nd | 0,64 \pm 0,01 ^{Ab} |
| 0,109 | 0,64 \pm 0,02 ^{Bb} | 0,84 \pm 0,01 ^{Aa} | 0,79 \pm 0,09 ^{Aa} | 0,56 \pm 0,08 ^{Ab} |
| 0,164 | 0,80 \pm 0,03 ^{Aa} | 0,74 \pm 0,02 ^{Aa} | 0,62 \pm 0,05 ^{Ba} | 0,59 \pm 0,04 ^{Ab} |

Nd- Não detectado; Valores médios \pm desvio padrão.

Letras maiúsculas diferentes na coluna e minúsculas nas linhas, respectivamente, diferem estatisticamente ($P<0,05$) pelo teste *t* para médias de mínimos quadrados.

O tratamento de fritura foi o que proporcionou a maior redução de colesterol na carne ($P<0,05$; Tabela 7), portanto foi responsável pela maior oxidação da fração de colesterol. De acordo com Figueiredo, Trad, Mariutti, & Bragagnolo (2014), as condições de aquecimento podem acarretar perdas de até 15% do total de colesterol encontrados nos alimentos *in natura*.

A oxidação do colesterol leva à formação dos COPs de colesterol, que são compostos altamente reativos e prejudiciais á saúde. No presente estudo foi constatado o aparecimento dos seguintes COPs: o 7-ceto, o α -EP, o β -EP, o 7 β -OH, e o 7 α -OH. Entretanto, o β -EP, o 7 β -OH, e o 7 α -OH estavam em concentrações inferiores ao limite de detecção dos detectores UV-visível e índice de refração (IR), estipulados de acordo com a leitura do equipamento HPLC.

Os produtos oriundos da oxidação da cadeia lateral do colesterol, como o 20 α -HO, 22R-OH, 22S-HO e o 25R-OH, não foram detectados, assim como o Triol. Dessa forma os resultados indicam que a oxidação do colesterol na carne ovina não contribui para a formação de tais compostos, os quais são considerados altamente aterogênicos, cancerígenos, mutagênicos, e citotóxicos aos seres humanos (Mazalli, Sawaya, Eberlin, & Bragagnolo, 2006; Morales-Aizpurúa & Tenuta-Filho, 2002).

O 7-Ceto é o COPs mais encontrado nos alimentos após tratamento térmico (Mariutti, Nogueira, & Bragagnolo, 2008), e é referência quando se trata de oxidação do colesterol nos alimentos. Os tratamentos de forno e fritura contribuíram para a formação do 7-ceto na carne ovina ($P < 0,05$; Tabela 7), sendo valido afirmar que foi em consequência da oxidação do colesterol ocasionada pela temperatura elevada que as amostras foram submetidas.

Os dados observados permitem concluir que a bixina presente na carne foi eficiente em inibir a oxidação do colesterol ($P < 0,05$), conforme a Tabela 7, esse resultado foi decorrente da atividade antioxidante da bixina, que contribuiu para a redução da formação do 7-ceto.

O α -EP é oriundo da oxidação da dupla ligação presente na molécula do colesterol (Morales-Aizpurúa & Tenuta-Filho, 2002), e é totalmente instável, o que justifica a diferença entre o tratamento de fritura dos demais ($P < 0,05$), conforme visto na Tabela 7. O processo de fritura pode ter causado a degradação do α -EP em outro composto não identificado neste estudo. De acordo com Rudzinska, Przybylski, & Wasowicz (2009) e Struijs, Lampi, Ollilainin, & Piironen (2010) o α -EP pode se degradar parcialmente ou totalmente durante o tratamento térmico de fritura. Contudo, para o tratamento de forno não foi possível detectar a presença do α -EP, e é valido supor que foi em decorrência da temperatura de 220°C ao qual a carne foi submetida neste tratamento. O α -EP pode ser degradado totalmente em outro composto em temperatura superior ou igual a 150°C (Barriuso, Otaegui-Arrozola, Menéndez-Carreño, Astiasarán, & Ansorena, 2012).

A formação de COPs na carne *in natura* está associada ao armazenamento e a presença de espécies reativas ao oxigênio, tais como o radical peroxila que inicia a oxidação lipídica em cadeia (Barriuso, Otaegui-Arrozola, Menéndez-Carreño, Astiasarán, & Ansorena, 2012; Figueiredo, Trad, Mariutti, & Bragagnolo, 2014; Hur, Park, & Joo, 2007; Mariutti, Nogueira, & Bragagnolo, 2011). Entretanto, os valores dos COPs obtidos, foram baixos em relação aos encontrados na literatura, e essas variações podem ser atribuídas às condições de armazenamento e transporte das amostras.

Quando relacionamos somente a carne *in natura* nas diferentes concentrações de bixina, verificamos que a bixina não influenciou os teores de colesterol isoladamente ($P>0,05$; Tabela 7). No entanto, quando correlacionamos os tratamentos térmicos e as concentrações de bixina, verificamos que as carnes que continham as maiores concentrações de bixina reduziram os teores de colesterol nos tratamentos de forno e fritura ($P<0,05$; Tabela 7).

Contudo, para o tratamento térmico de cozimento ocorreu redução do colesterol na concentração intermediária da bixina na carne ($P<0,05$), confirmando que os tratamentos térmicos e as concentrações de bixina podem contribuir para uma redução do colesterol na carne ovina.

Apesar dos valores de 7-ceto e α -EP terem diferido ($P<0,05$) nos tratamentos térmicos e nas concentrações da bixina (Tabela 7), podemos constatar que a carne dos ovinos não apresentaram quantidades elevadas dos COPs, quando comparamos a carnes consideradas magras, como o peito de frango que, quando assado em forno a 220°C, apresentou valores de 30,86 e 4,04 $\mu\text{g}/100\text{g}$ de COPs para 7-ceto e α -EP, respectivamente, conforme constatou Conchillo, Ansorena, & Astiasarán (2003).

4. CONCLUSÕES

A presença da bixina na carne não alterou a composição química da carne ovina, e os tratamentos térmicos promoveram a elevação da concentração dos constituintes da carne devido à desidratação. Dentre os tratamentos térmicos, o cozimento foi o que proporcionou as maiores perdas de nutrientes.

A bixina é eficiente em aumentar a estabilidade oxidativa da carne ovina *in natura*, porém não atribui a mesma proteção à carne quando submetida aos tratamentos térmicos.

Os tratamentos térmicos promoveram a oxidação do colesterol e como consequência, a elevação dos COPs. No entanto quando associamos os maiores teores de bixina e os tratamentos térmicos concluímos que a junção deles contribui para um redução de colesterol na carne processada.

REFERÊNCIAS

- A.O.A.C., 1990. Official methods and recommended practices. 4. ed. Champaign: USA.
- Alfaia, C. M. M., Alves, S. P., Lopes, A. F., Fernandes, M. J. E., Costa, A. S. H., Fontes, C. M. G. a, ... Prates, J. a M. (2010). Effect of cooking methods on fatty acids, conjugated isomers of linoleic acid and nutritional quality of beef intramuscular fat. *Meat Science*, 84(4), 769–777.
- Almeida, O. C., Pires, a. V., Susin, I., Gentil, R. S., Mendes, C. Q., Queiroz, M. a a, ... Eastridge, M. L. (2013). Milk fatty acids profile and arterial blood milk fat precursors concentration of dairy goats fed increasing doses of soybean oil. *Small Ruminant Research*, 114(1), 152–160.
- Ansorena, D., Barriuso, B., Cardenia, V., Astiasarán, I., Lercker, G., & Rodriguez-Estrada, M. T. (2013). Thermo-oxidation of cholesterol: Effect of the unsaturation degree of the lipid matrix. *Food Chemistry*, 141(3), 2757–2764.
- Barriuso, B., Otaegui-Arrazola, A., Menéndez-Carreño, M., Astiasarán, I., & Ansorena, D. (2012). Sterols heating: Degradation and formation of their ring-structure polar oxidation products. *Food Chemistry*, 135(2), 706–712.
- Boselli, E., Cardenia, V., & Rodriguez-Estrada, M. T. (2012). Cholesterol photosensitized oxidation in muscle foods. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114(6), 644–655.
- Brasil. 2000. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº3, de 07 de janeiro de 2000. Regulamento técnico de métodos de insensibilização para o abate humanitário de animais de açougue. S.D.A./M.A.A. Diário Oficial da União, Brasília, 24 de janeiro de 2000, Seção I., 14-16.
- Broncano, J. M., Petrón, M. J., Parra, V., & Timón, M. L. (2009). Effect of different cooking methods on lipid oxidation and formation of free cholesterol oxidation products (COPs) in Latissimus dorsi muscle of Iberian pigs. *Meat Science*. 83, 431-437.
- Carvalho, S., Brochier, M. A. (2008). Composição tecidual e centesimal e teor de colesterol da carne de cordeiros terminados em confinamento com dietas contendo níveis crescentes de resíduo úmido de cervejaria. *Ciência Rural, Santa Maria* . 38(7), 2023-2028.
- Castro, W. F., Mariutti, L. R. B., & Bragagnolo, N. (2011). The effects of colorifico on lipid oxidation , colour and vitamin E in raw and grilled chicken patties during frozen storage. *Food Chemistry*, 124(1), 126–131.
- Cezar, M.F. & Sousa, W.H., (2007). Carcaças ovinas e caprinas: obtenção, avaliação e classificação. 1 ed. Uberaba-MG:Editora *Agropecuária Tropical*, 147.
- Cheng, J., Ma, H., Fan, C., Zhang, Z., Jia, Z., Zhu, X., & Wang, L. (2011). Effects of different copper sources and levels on plasma superoxide dismutase, lipid peroxidation, and copper status of lambs. *Biological Trace Element Research*, 144(1-3), 570–579.
- Chisté, R. C., Mercadante, A. Z., Gomes, A., Fernandes, E., Lima, J. L. F. D. C., & Bragagnolo, N. (2011). In vitro scavenging capacity of annatto seed extracts against reactive oxygen and nitrogen species. *Food Chemistry*, 127(2), 419–426.

- Chisté, R. C., Yamashita, F., Gozzo, F. C., & Mercadante, A. Z. (2011). Simultaneous extraction and analysis by high performance liquid chromatography coupled to diode array and mass spectrometric detectors of bixin and phenolic compounds from annatto seeds. *Journal of Chromatography A*, 1218(1), 57–63.
- Conchillo A, Ansorena D, Astiasarán I. Combined effect of cooking (grilling and roasting) and chilling storage (with and without air) on lipid and cholesterol oxidation in chicken breast. *Journal of Food Protection*. 2003 66(5): 840-6.
- Cuesta, C., Romero, A., & SÁnchez-Muniz, F. J. (2001). Fatty Acid Changes in High Oleic Acid Sunflower Oil during Successive Deep-Fat Fryings of Frozen Foods. *Food Science & Technology International*. 7, 317-328.
- Díaz, M. T., Velasco, S., Cañeque, V., Lauzurica, S., Ruiz De Huidobro, F., Pérez, C., ... Manzanares, C. (2002). Use of concentrate or pasture for fattening lambs and its effect on carcass and meat quality. *Small Ruminant Research*. 43, 257-268.
- Ersoy, B., & Özeren, A. (2009). The effect of cooking methods on mineral and vitamin contents of African catfish. *Food Chemistry*. 115, 419-422.
- Figueirêdo, B. C., Trad, I. J., Mariutti, L. R. B., & Bragagnolo, N. (2014). Effect of annatto powder and sodium erythorbate on lipid oxidation in pork loin during frozen storage. *Food Research International*. 65, 137-143.
- Folch, J., Lees, M., Stanley, G.H.S., (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal Biological Chemistry*, 226, 497-509.
- García-Arias, M. T., Álvarez Pontes, E., García-Linares, M. C., García-Fernández, M. C., & Sánchez-Muniz, F. J. (2003). Cooking-freezing-reheating (CFR) of sardine (*Sardina pilchardus*) fillets. Effect of different cooking and reheating procedures on the proximate and fatty acid compositions. *Food Chemistry*, 83(3), 349–356.
- Gerber, N., Scheeder, M. R. L., & Wenk, C. (2009). The influence of cooking and fat trimming on the actual nutrient intake from meat. *Meat Science*. 81, 148-154.
- Giovanella, L. (2006). A atenção primária à saúde nos países da União Européia: configurações e reformas organizacionais na década de 1990. *Cadernos de Saúde Pública*, 22(5), 951–963.
- Giuliano, G., Rosati, C., & Bramley, P. M. (2003). To dye or not to dye: Biochemistry of annatto unveiled. *Trends in Biotechnology*, 21(12), 513–516.
- Hosseini, H., Mahmoudzadeh, M., Rezaei, M., Mahmoudzadeh, L., Khaksar, R., Khosroshahi, N. K., & Babakhani, A. (2014). Effect of different cooking methods on minerals, vitamins and nutritional quality indices of kutum roach (*Rutilus frisii kutum*). *Food Chemistry*, 148, 86–91.
- Huang D Prior R L, O. B. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 1841–1856.
- Hur, S. J., Park, G. B., & Joo, S. T. (2007). Formation of cholesterol oxidation products (COPs) in animal products. *Food Control*. 18, 939-947.
- Kiliç, B., Şimşek, A., Claus, J. R., & Atilgan, E. (2014). Encapsulated phosphates reduce lipid oxidation in both ground chicken and ground beef during raw and cooked meat storage with some influence on color, pH, and cooking loss. *Meat Science*. 97, 93-103.
- Kiokias, S., & Gordon, M. H. (2003). Antioxidant properties of annatto carotenoids. *Food Chemistry*. 83, 523-529.
- Kramer, J.K., Fellner, V., Dugan, M.E., Sauer, F.D., Mossoba, M.M., Yurawecz, M.P., (1997). Evaluating acid and base catalysts in the methylation of milk and rumen and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and total trans fatty acids. *Lipids*, 32, 1219-1228.

- Madruga, M. S., De Sousa, W. H., Rosales, M. D., Das Graças Glória Cunha, M., & De Farias Ramos, J. L. (2005). Qualidade da carne de cordeiros Santa Inês terminados com diferentes dietas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 34(1), 309–315.
- Mariutti, L. R. B., & Bragagnolo, N. (2009). A oxidação lipídica em carne de frango e o impacto da adição de sálvia (*Salvia officinalis*, L.) e de alho (*Allium sativum*, L.) como antioxidantes naturais Lipid oxidation of chicken meat and the impact of the addition of sage (*Salvia officinalis*, L.). *Revista Do Instituto Adolfo Lutz*, 68(1), 1–11.
- Mariutti, L. R. B., Nogueira, G. C., & Bragagnolo, N. (2008). Optimization and validation of analytical conditions for cholesterol and cholesterol oxides extraction in chicken meat using response surface methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(9), 2913–2918.
- Mariutti, L. R. B., Nogueira, G. C., & Bragagnolo, N. (2011). Lipid and Cholesterol Oxidation in Chicken Meat Are Inhibited by Sage but Not by Garlic. *Journal of Food Science*, 76(6), 909–915.
- Mazalli, M. R., & Bragagnolo, N. (2007). Effect of storage on cholesterol oxide formation and fatty acid alterations in egg powder. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(7), 2743–2748.
- Mazalli, M. R., Sawaya, A. C. H. F., Eberlin, M. N., & Bragagnolo, N. (2006). HPLC Method for Quantification and Characterization of Cholesterol and Its Oxidation Products in Eggs, *Lipids*. 41(6), 0–7.
- Mendonça, G. De, Osório, J. C., Oliveira, N. M., Osório, M. T., Esteves, R., & Wiengard, M. M. (2003). Morfologia, características da carcaça e componentes do peso vivo em borregos Corriedale e Ideal. *Ciência Rural*, 33(2), 351–355.
- Morales-Aizpurúa, I. C., & Tenuta-Filho, A. (2002). Óxidos De Colesterol: Ocorrência Em Alimentos, Formação E Efeitos Biológicos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 38(4), 431–442.
- Naseri, M., Abedi, E., Mohammadzadeh, B., & Afsharnaderi, A. (2013). Effect of frying in different culinary fats on the fatty acid composition of silver carp. *Food Science & Nutrition*. 4, 292-297.
- NRC, 2007. National research council -. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. National Academy of Science, Washington, D.C, USA.
- Ortigue-Marty, I., Thomas, E., Prévéraud, D. P., Girard, C. L., Bauchart, D., Durand, D., & Peyron, A. (2006). Influence of maturation and cooking treatments on the nutritional value of bovine meats: Water losses and vitamin B12. *Meat Science*. 113, 199-221.
- Pfalzgraf, A., Frigg, M., Steinhart, H., Kirchgessner, M., Roth, F. X., (1995). Influence of dietary fat and vitamin E on the lipids in pork meat. *Food Science and Technology*., 97, 13-20.
- Pinheiro, B., Jorge, A. M., Francisco, C. D. L., & Andrade, E. N. De. (2008). Composição química e rendimento da carne ovina in natura e assada Chemical composition and yield of in natura and roast sheep meat. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 28, 154-157.
- Rosa, F., C. Bressan, M., G. Bertechini, A., J. Fassani, É., O. Vieira, J., B. Faria, P., & V. Savian, T. (2006). Efeito de métodos de cocção sobre a composição química e colesterol em peito e coxa de frangos de corte. *Ciência Agrotec*. 30(4), 707–714.
- Rudzińska, M., Przybylski, R., & Wąsowicz, E. (2009). Products formed during thermo-oxidative degradation of phytosterols. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(7), 651–662.
- Saldanha, T., & Bragagnolo, N. (2008). Relation between types of packaging, frozen storage and grilling on cholesterol and fatty acids oxidation in Atlantic hake fillets (*Merluccius hubbsi*). *Food Chemistry*. 106, 619-627.

- Saldanha, T.; Sawaya, A. C. H. F.; Eberlin, M. N.; Bragagnolo, N., (2006). HPLC Separation and Determination of 12 Cholesterol Oxidation Products in Fish: Comparative Study of RI, UV, and APCI-MS Detectors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54, 4107-4113.
- SAS. SAS Software. Version 9.2. Cary, North Carolina: SAS Institute Inc., 2009.
- Serrano, a., Librelotto, J., Cofrades, S., Sánchez-Muniz, F. J., & Jiménez-Colmenero, F. (2007). Composition and physicochemical characteristics of restructured beef steaks containing walnuts as affected by cooking method. *Meat Science*, 77(3), 304–313.
- Struijs, K., Lampi, A. M., Ollilainen, V., & Piironen, V. (2010). Dimer formation during the thermo-oxidation of stigmasterol. *European Food Research and Technology*, 231(6), 853–863.
- Tenuta-Filho, A., Morales-Aizpurúa, I. C., Moura, A. F. P. De, & Kitahara, S. E. (2003). Óxidos De Colesterol Em Alimentos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 39(3), 319–325.
- Tornberg, E. (2005). Effects of heat on meat proteins - Implications on structure and quality of meat products. *Meat Science*, 70(3 SPEC. ISS.), 493–508.
- Zapata, J. F. F., Nogueira, C. M., Seabra, L. M. J., Barros, N. N., & Borges, Â. S. (2001). Composição centesimal e lipídica da carne de ovinos do nordeste brasileiro. *Ciência Rural*, 31(4), 691–695.

ANEXO
(Normas Meat Science)