



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIENCIA ANIMAL
DOUTORADO EM CIENCIA ANIMAL

KELIANE DA SILVA MAIA

**EFEITOS DE AGENTES NATURAIS NA QUALIDADE DE MANTEIGA DE
GARRAFA**

MOSSORÓ - RN

2020

KELIANE DA SILVA MAIA

**EFEITOS DE AGENTES NATURAIS NA QUALIDADE DE MANTEIGA DE
GARRAFA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciência animal.

Linha de Pesquisa: Sanidade e Produção animal

Orientador: Prof. Dr. Jean Berg Alves da Silva

Co-orientador: Prof. Dr. Francisco Felipe Maia da Silva

MOSSORÓ - RN

2020

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei n° 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei n° 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

Me Maia, Keliane da Silva.
 Efeitos de agentes naturais na qualidade de
 manteiga de garrafa / Keliane da Silva Maia. -
 2020.
 72 f. : il.

 Orientador: Jean Berg Alves da Silva .
 Coorientador: Francisco Felipe Maia da Silva.
 Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural
 do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
 Ciência Animal, 2020.

 1. Aditivos naturais. 2. Rancidez. 3. Produto
 artesanal. I. Silva , Jean Berg Alves da ,
 orient. II. Silva, Francisco Felipe Maia da , co-
 orient. III. Título.

KELIANE DA SILVA MAIA

**EFEITOS DE AGENTES NATURAIS NA QUALIDADE DE MANTEIGA DE
GARRAFA**

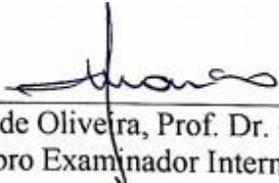
Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciência animal.

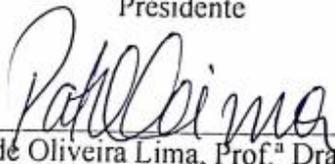
Linha de Pesquisa: Sanidade e Produção animal

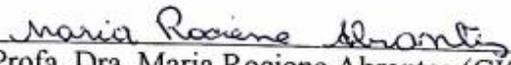
Defendida em: 27 / 02 /2020.

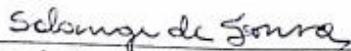
BANCA EXAMINADORA

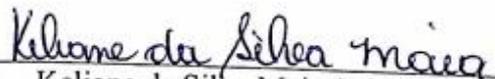

Jean Berg Alves da Silva, Prof. Dr. (UFERSA)
Presidente


Moacir Franco de Oliveira, Prof. Dr. (UFERSA)
Membro Examinador Interno


Patricia de Oliveira Lima, Prof.^a Dra. (UFERSA)
Membro Examinador Interno


Prof.ª Dra. Maria Rociene Abrantes (CISNE)
Membro Examinador Externo


Solange de Sousa, Prof.^a Dra. (UEPB)
Membro Examinador Externo


Keliane da Silva Maia (Discente)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me segurado pela mão, na caminhada até aqui, não me fazendo desistir, e sempre me ajudando a levantar, nos tropeços da vida.

A minha mãe, Isabel, por ser exemplo de persistência, coragem e fortaleza. Obrigada por nunca desistir!

Ao meu orientador, Prof^o. Dr. Jean Berg Alves da Silva, pela confiança, compreensão e liberdade depositada em mim, no conduzir desse trabalho. Sua leveza e generosidade são inspiração àqueles que o cercam.

Ao meu co-orientador, Prof^o. Dr. Felipe Maia, por conduzir e inspirar, tão brilhante e humildemente, as várias etapas que necessitei de ajuda.

Ao IFRN e a UFERSA pela oportunidade de crescimento profissional. O doutoramento foi a realização de um sonho!

Aos meus colegas de laboratório (LIPOA), em especial a Manuella e Andrezza, por compartilhar conhecimento, apoio e amizade.

Ao meu namorado, Paulo Victor, pela paciência, apoio, dedicação e amor. Sem sua ajuda, esse trabalho não teria se realizado com tanta tranquilidade.

A minha amiga, Leila Nunes, pelo apoio técnico, dicas e orientações, mas acima de tudo, obrigada pela amizade, se fazendo presente, mesmo distante.

A todos os meus amigos, que compreenderam meus dias corridos e a minha ausência, mas que torceram e comemoraram essa conquista tão esperada.

Meu muito obrigada!!!

EPIGRAFE

“Viver é um rasgar-se e remendar-se”

Guimarães Rosa

MAIA, K.S. **Efeitos de agentes naturais na qualidade de manteiga de garrafa.** 2020. 72f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2020.

RESUMO: Por ser um alimento rico em lipídios, a manteiga de garrafa pode desenvolver sabor e odor indesejáveis, mediante a deterioração oxidativa, além de reduzir seu valor nutricional, pela oxidação de ácidos graxos polinsaturados. Nesse contexto, objetivou-se investigar o uso de agentes naturais no controle oxidativo de manteiga de garrafa, agregando-lhe valor e funcionalidade, pela incorporação de agentes bioativos, e pelas mudanças sensoriais e nutricionais diferenciadas. Para isso, o presente estudo foi constituído de dois experimentos distintos, sendo eles: Experimento I: Qualidade e estabilidade de manteiga de garrafa enriquecida com extrato de pimenta-do-reino. Experimento II: Estabilidade oxidativa e qualidade sensorial de manteiga de garrafa defumada. A produção da manteiga de garrafa, do extrato de pimenta-do-reino e o processo de defumação foram realizadas em escala laboratorial. Em ambos os experimentos, foram realizados testes de estabilidade acelerada, pelo teste de estufa, nas temperaturas de 60 °C e 110 °C, simulando o armazenamento ambiente e a cocção, respectivamente. A oxidação foi monitorada pela determinação do índice de peróxido (IP) e das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), nas amostras armazenadas a 60 °C e a 110 °C, e pelo índice de acidez e perfil de ácidos graxos *trans* apenas para as amostras armazenadas a 110 °C. Avaliou-se também a segurança microbiológica pela contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos viáveis (UFC/g) e o número mais provável (NMP/g) de coliformes a 35 °C e 45 °C. Na avaliação sensorial, foram aplicados os testes afetivos de aceitação e intenção de compra. Determinou-se os índices de qualidade nutricional (Aterogenicidade e Trombogenicidade) das manteigas enriquecidas com extrato de pimenta-do-reino e a segurança das manteigas defumadas, pela presença de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HPA's), potencialmente carcinogênico. Todas as amostras apresentaram boa aceitação, com índice de aceitabilidade acima de 70% para todos os atributos avaliados e resultados microbiológicos dentro do limite estabelecido na legislação. Não houve elevação nos percentuais de ácidos graxos *trans*. A adição de extrato de pimenta do reino reduziu os índices de Aterogenicidade e Trombogenicidade da manteiga de garrafa. A defumação não produziu HPA's. A adição de extrato de pimenta-do-reino e o processo de defumação, melhoram a estabilidade oxidativa da manteiga de garrafa.

Palavras-chave: Aditivos naturais, rancidez, produto artesanal.

MAIA, K.S. **Effects of natural agents on the quality of bottle butter**. 2020. 72f. Thesis (Doctorate in Animal Science) - Federal Rural University of the Semi-Arid (UFERSA), Mossoró-RN, 2020.

ABSTRACT: Because it is a food rich in lipids, bottle butter can develop undesirable taste and odor, through oxidative deterioration, in addition to reducing its nutritional value, through the oxidation of polyunsaturated fatty acids. In this context, the objective was to investigate the use of natural agents in the oxidative control of bottle butter, adding value and functionality, by incorporating bioactive agents, and by differentiated sensory and nutritional changes. For this, the present study consisted of two distinct experiments, namely: Experiment I: Quality and stability of bottle butter enriched with black pepper extract. Experiment II: Oxidative stability and sensory quality of smoked bottle butter. The production of bottle butter, black pepper extract and the smoking process were carried out on a laboratory scale. In both experiments, accelerated stability tests were carried out, using the greenhouse test, at temperatures of 60 ° C and 110 ° C, simulating ambient storage and cooking, respectively. Oxidation was monitored by determining the peroxide index (PI) and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), in samples stored at 60 ° C and 110 ° C, and by the acidity index and trans fatty acid profile only for samples stored at 110 ° C. Microbiological safety was also evaluated by the total count of viable mesophilic aerobic microorganisms (CFU / g) and the most likely number (NMP / g) of coliforms at 35 ° C and 45 ° C. In the sensory evaluation, affective tests of acceptance and purchase intention were applied. The nutritional quality indexes (Atherogenicity and Thrombogenicity) of the butters enriched with black pepper extract and the safety of the smoked butters were determined by the presence of polycyclic aromatic hydrocarbons (HPA's), potentially carcinogenic. All samples showed good acceptance, with an acceptability index above 70% for all evaluated attributes and microbiological results within the limit established in the legislation. There was no increase in the percentage of trans fatty acids. The addition of black pepper extract reduced the Atherogenicity and Thrombogenicity indexes of bottle butter. Smoking did not produce HPA's. The addition of black pepper extract and the smoking process improve the oxidative stability of bottle butter.

Keywords: Natural additives, sagging, handmade product.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

- Figura 1 Fases da autoxidacao de lipídios.....16
- Figura 2 Atuação dos antioxidantes primários.....19

Capítulo II

- Figura 1 Frequência das respostas da intenção de compra de manteiga de garrafa enriquecida em extrato etanólico de pimenta-do-reino..... 42
- Figura 2 Valores de TBARS e índice de peróxidos das amostras de manteiga de garrafa enriquecida com extrato de pimenta-do-reino e submetidas a oxidação acelerada pelo teste de estufa em armazenamento a 60 °C (a, b) e 110 °C (c, d)44
- Figura 3 Percentual da acidez total das amostras de manteiga de garrafa enriquecida com extrato de pimenta-do-reino e submetidas a oxidação acelerada pelo teste de estufa em armazenamento 110 °C.....45

Capítulo III

- Figura 1 Valores percentuais para acidez total em amostras de manteiga de garrafa defumada e submetidas a oxidação acelerada pelo teste de estufa em armazenamento 110 °C.....62
- Figura 2 Valores de TBARS e índice de peróxidos das amostras de manteiga de garrafa enriquecida com extrato de pimenta-do-reino e submetidas a oxidação acelerada pelo teste de estufa em armazenamento a 60 °C (a, b) e 110 °C (c, d)63
- Figura 3 Intenção de compra de manteiga de garrafa defumada.....69

LISTA DE TABELAS

Capítulo II

Tabela 1	Parâmetros de identidade e qualidade da manteiga de garrafa <i>in natura</i> produzida em laboratório.....	36
Tabela 2	Perfil de ácidos graxos da manteiga de garrafa <i>in natura</i> produzida em escala laboratorial	37
Tabela 3	Composição química do extrato etanólico de pimenta-do-reino.....	38
Tabela 4	Índices de qualidade nutricional da fração lipídica das manteigas de garrafa enriquecida com extrato etanólico de pimenta-do-reino.....	40
Tabela 5	Índice de aceitabilidade (IA) das manteigas de garrafa enriquecida com extrato etanólico de pimenta-do-reino.....	41
Tabela 6	Diferenças entre os totais de ordenação das amostras de manteiga de garrafa enriquecida com extrato etanólico de pimenta-do-reino.....	41
Tabela 7	Correlação de Pearson entre atributos sensoriais e intenção de compra de manteiga de garrafa enriquecida com extrato etanólico de pimenta-do-reino.....	43
Tabela 8	Composição percentual de ácidos graxos em manteiga-de-garrafa enriquecida com extrato etanólico de pimenta-do-reino (área%).....	48

Capítulo III

Tabela 1	Caracterização físico-química de manteiga de garrafa <i>in natura</i> produzida em escala laboratorial.....	59
Tabela 2	Composição de ácidos graxos da manteiga de garrafa <i>in natura</i> produzida em escala laboratorial.....	60
Tabela 3	Composição química de fumaça líquida comercial.....	61
Tabela 4	Composição percentual de ácidos graxos em manteiga de garrafa defumada (área%).....	67
Tabela 5	Índice de aceitabilidade (IA) de manteigas de garrafa defumada.....	69
Tabela 6	Correlação de Pearson entre os atributos sensoriais e a intenção de compra das amostras de manteiga de garrafa defumada.....	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BHT	Butil-hidroxi-tolueno
BHA	Butil- hidroxi-anisol
HPA	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
IC50	Inhibitory Concentration
IN	Instrução Normativa
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MDA	Malonaldeído
mg EAG	Miligramas de equivalente em ácido gálico
NMP	Número mais provável
pH	Potencial hidrogeniônico
TBHQ	Terc-butil-hidroquinona
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
UFC	Unidade formadora de colônia

SUMÁRIO

CAPÍTULO I – REFERENCIAL TEÓRICO: AGENTES NATURAIS NO	
CONTROLE OXIDATIVO DE MANTEIGA DE GARRAFA.....	13
INTRODUÇÃO.....	14
OXIDAÇÃO LIPÍDICA: TIPOS E EFEITOS.....	15
AGENTES ANTIOXIDANTES.....	18
MANTEIGA DE GARRAFA: PROCESSAMENTO E ESTABILIDADE.....	20
PRODUTOS NATURAIS NA CONSERVAÇÃO DE MANTEIGA.....	23
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	24
CAPÍTULO II - QUALIDADE E ESTABILIDADE DE MANTEIGA DE	
GARRAFA ENRIQUECIDA COM EXTRATO DE PIMENTA-DO-REINO	
<i>(Piper nigrum)</i>	29
RESUMO.....	30
ABSTRACT.....	31
INTRODUÇÃO.....	32
MATERIAL E MÉTODOS	33
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
CONCLUSÃO.....	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
CAPÍTULO III - ESTABILIDADE OXIDATIVA E QUALIDADE	
SENSORIAL DE MANTEIGA-DE-GARRAFA DEFUMADA.....	52
RESUMO.....	53
ABSTRACT.....	54
INTRODUÇÃO.....	55
MATERIAL E MÉTODOS	56
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	58
CONCLUSÃO.....	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71

CAPÍTULO I

REFERENCIAL TEÓRICO: AGENTES NATURAIS NO CONTROLE OXIDATIVO DE MANTEIGA DE GARRAFA

Keliane da Silva MAIA ^{1 e 2}, Jean Berg Alves da SILVA¹

1. Universidade Federal do Semi-Árido. Av. Francisco Mota, 572 - Bairro Costa e Silva, Mossoró RN | CEP: 59.625-900, Tel.: +55 84 3317-8200. Doutoranda PPGCA/UFERSA. E-mail: kelianemaia@gmail.com
2. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte –Apodi. RN 233, Km-02, N° 999, Bairro Chapada do Apodi | Apodi-RN | CEP: 59700-000, Tel. (84) 4005-4101.

1. INTRODUÇÃO

A manteiga de garrafa é um produto regional do Nordeste brasileiro e recebe diferentes denominações dependendo do local de fabricação, tais como manteiga de gado, manteiga da terra ou manteiga de cozinha. Bastante apreciada por boa parte da população, a manteiga de garrafa é um produto artesanal, podendo ser encontrada em feiras livres, mercados populares, supermercados, restaurantes típicos e pequenos pontos comerciais de comidas regionais (AMBRÓSIO et al., 2001).

Rica em lipídios, esse tipo de manteiga é uma forma anidra da gordura do leite, e deste modo, sujeita à deterioração oxidativa. Segundo Soares (2002) a oxidação lipídica é uma das principais reações deteriorantes que podem ocorrer durante o processamento, estocagem e armazenamento de óleos, gorduras e alimentos gordurosos, desencadeando características indesejáveis aos produtos, que englobam redução do valor nutritivo e modificações nas características sensoriais, que reduzem o tempo de vida útil do alimento tornando-os inaceitáveis pelos consumidores. Nesse contexto, muitos são os esforços para minimizar esses danos, pelo uso de diferentes métodos de conservação, entre eles, o uso de aditivos.

O recurso a aditivos, ingredientes adicionados aos alimentos como conservantes e antioxidantes, é um processo que garante a manutenção das características sensoriais do produto, desde a sua produção até ao seu consumo (NAHAS, 2010).

Contudo, o consumidor, hoje mais exigente, procura gêneros alimentícios cada vez mais naturais, com apresentação de rótulos “limpos”, sem presença de aditivos químicos sintéticos, mas com a mesma qualidade e segurança alimentar. Com isso, o setor industrial alimentício procura atender a estas exigências, desenvolvendo produtos com apelo a saúde do consumidor (AYMERICH et al., 2008).

Segundo Luz e Packer (2007), existe uma preocupação em utilizar produtos naturais, com o intuito de promover saúde e bem-estar. Assim, a ciência busca alternativas de intervir na conservação dos alimentos, fazendo uso de plantas, condimentos e especiarias, oferecendo fontes de substâncias que atuam como conservantes (SANTOS et al., 2013).

Além disso, a indústria de alimentos precisa inovar, lançando produtos diferenciados como forma de garantir sua sobrevivência no mercado, e com frequência, necessitam desenvolver novos gêneros alimentícios para se manterem a frente da concorrência, cada vez mais competitiva (FREITAS et al., 2004).

Tão necessário quanto a inovação de produtos é mantê-los estáveis, mesmo quando estão em condições desfavoráveis e inviáveis. Assim, o uso de agentes naturais surge como opção de inovação e manutenção da qualidade de manteiga de garrafa.

2. OXIDAÇÃO LIPÍDICA: TIPOS E EFEITOS

Devido à oxidação lipídica, óleos, gorduras e alimentos gordurosos estão sujeitos a uma série de reações, com mudanças de cor, sabor, odor e textura, com consequente rejeição do produto. Estas alterações podem ocorrer no processamento, distribuição e/ou armazenamento dos alimentos e provocam a redução da qualidade nutricional, pela degradação de vitaminas e ácidos graxos essenciais, além da formação de substâncias potencialmente tóxicas, tornando-se impróprio ao consumo (AMBRÓSIO et al., 2003). Contudo, muitos são os mecanismos envolvidos nas reações de rancidez, e são tradicionalmente classificadas em:

a) Rancidez hidrolítica

Essas reações ocorrem pela ação de lipases, calor e umidade ou pela ação de agentes químicos, com formação de ácidos graxos livres, que aumentam a acidez do alimento pela hidrólise das ligações ésteres dos lipídeos (CARVALHO, 2011). Os produtos lácteos são altamente susceptíveis à rancidez hidrolítica pela presença natural dessas enzimas nos alimentos ou de origem microbiana. No caso da manteiga, as reações enzimáticas resultam na formação de ácido butírico, produzindo odor e sabor indesejáveis (MALLIA, 2008).

b) Rancidez oxidativa

A rancidez oxidativa é a mais importante em alimentos no quesito qualidade, pois as reações de deterioração produzem sabores e odores indesejáveis em óleos, gorduras e alimentos gordurosos, devido a formação de compostos voláteis. As reações oxidativa são desencadeadas por diferentes mecanismos, entre eles:

b.1. *Oxidação enzimática*

São reações oriundas da atividade de enzimas lipoxigenases que atuam catalisando a adição do oxigênio à cadeia insaturada dos ácidos graxos presentes no alimento e como resultado, são formados peróxidos e hidroperóxidos envolvidos em diferentes reações degradativas (RAMALHO; JORGE, 2006).

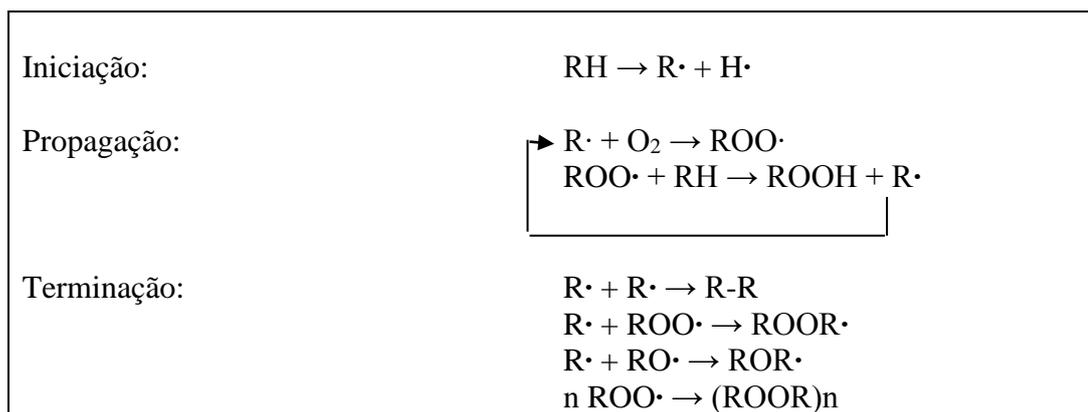
b.2. *Foto-oxidação*

A foto-oxidação é um processo de degradação que envolve as reações com o oxigênio em seu estado mais excitado ou singleto. Na presença de luz, foto sensibilizadores como

clorofila, por exemplo, absorvem a energia luminosa e a transferem para o oxigênio triplete ($^3\text{O}_2$), gerando o estado singlete ($^1\text{O}_2$) (CARVALHO, 2011) que por sua vez, reage com as duplas ligações por adição, formando hidroperóxidos diferentes dos que são formados em outros mecanismos de oxidação e que por degradação posterior geram os compostos secundários da oxidação (aldeídos, álcoois e hidrocarbonetos) (RAMALHO; JORGE, 2006).

b.3. Autoxidação

O processo de autoxidação nos óleos e gorduras e alimentos gordurosos está associada a reação do oxigênio com ácidos graxos insaturados e divide-se em três fases: iniciação, propagação e término, conforme ilustrado na Figura 1. Na fase de iniciação, ocorre a formação de radicais livres pela ação da luz ou calor, através da abstração de um átomo de hidrogênio da molécula do ácido graxo, que reage rapidamente com oxigênio atmosférico formando um radical peróxido. Na fase de propagação ocorre a continuação e a aceleração das reações em cadeia, onde as moléculas susceptíveis ao ataque do oxigênio atmosférico (radicais livres), atuam como propagadores da reação, em um processo auto catalítico que resulta nos produtos primários da oxidação lipídica (peróxidos e hidroperóxidos). O término é o estágio em que os radicais livres começam a reagir entre si formando produtos não-radicaais estáveis (produtos secundários de oxidação) obtidos pela degradação dos peróxidos (compostos voláteis) (REGITANO-D'ARCE, 2006).



RH – Ácido graxo insaturado; R· - Radical livre; ROO· - Radical peróxido; ROOH – Hidroperóxidos
 Fonte: (ORDÓÑEZ, 2005)

Figura 1: Fases da autoxidacao de lipídios

Em resumo, para evitar ou adiar o processo de autoxidacao nos alimentos, é necessário diminuir a ação de todos os fatores que interferem nesse mecanismo, e para isso é necessário reduzir ao mínimo o contato do alimento com luz, temperatura e oxigênio, associado ao uso de antioxidantes, intervindo no processo de formação de radicais livres.

Não somente em alimentos ocorre a formação de radicais livres devido à oxidação. Nos organismos vivos, a produção de energia necessária para as atividades essenciais das células leva à produção de radicais livres, mesmo em condições normais (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

Esses radicais são moléculas altamente reativas e instáveis e quando em excesso, advém o estresse oxidativo que altera as funções fisiológicas normais do organismo, como a peroxidação de lipídios de membrana, a agressão às proteínas, enzimas, carboidratos e DNA, contribuindo para doenças degenerativas e envelhecimento precoce, e assim, a utilização de antioxidantes é fundamental para prevenção e/ou redução de todos os riscos atrelados a estes radicais livres (PORTINHO; ZIMMERMANN; BRUCK, 2012). Além disso, o consumo de alimentos oxidados também representa risco toxicológico crônico ao ser humano (KUBOW, 1992).

São muitas as consequências da oxidação lipídica, seja no âmbito nutricional ou fisiológico. A exemplo temos a degradação de ácidos graxos insaturados essenciais (linoleico e linolênico); a formação de compostos voláteis (malonaldeído e outros compostos) e produtos capazes de reagir com biomoléculas (especialmente proteínas) e, conseqüentemente, reduzir a absorção destas; irritações por peróxidos da mucosa intestinal provocando diarreia e redução no poder de absorção; além da formação de lipídios oxidados que são antagonistas de diversos nutrientes, como tiamina, riboflavina, ácido ascórbico, vitamina B12, tocoferóis, vitamina A, proteínas, lisina e aminoácidos sulfurados (FERRARI, 1998).

Contudo, o nosso organismo apresenta o que chamamos de defesa antioxidante, que é realizada por meio de sistemas enzimáticos produzidos no organismo, como superóxido dismutase, glutathione peroxidase e catalases, capazes de remover o oxigênio ou compostos altamente reativos do meio e assim, proteger as células e os tecidos contra o estresse oxidativo. Outro mecanismo de defesa são os compostos não enzimáticos, como as vitaminas, minerais, carotenoides e compostos fenólicos, encontrados principalmente em vegetais e frutas (SILVA et al., 2010).

Nessa perspectiva, o uso de antioxidantes pelas indústrias de alimentos, é necessário, não apenas por garantir a estabilidade dos gêneros alimentícios, aumentando sua vida útil e mantendo o seu valor nutricional, mas também pela saúde, pois ajudam na proteção das células e tecidos contra danos oxidativos (WANG; CAMP; EHLENFELDT, 2012).

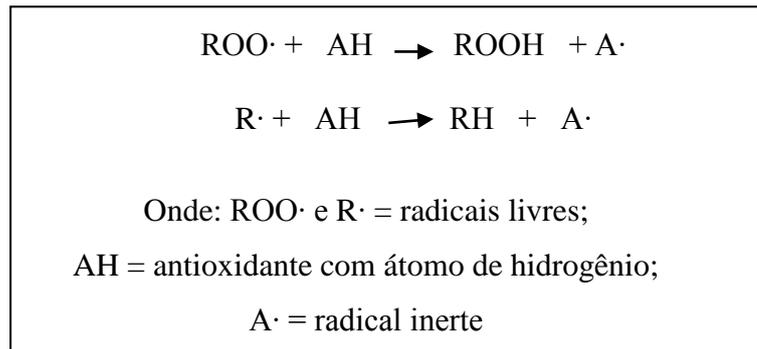
3. AGENTES ANTIOXIDANTES

A adição de antioxidantes em óleos, gorduras e alimentos gordurosos, retardam o início da oxidação ou reduzem a velocidade em que ela acontece. Contudo, é importante esclarecer que o papel dos antioxidantes não é aumentar ou melhorar a qualidade dos alimentos, mas mantê-la e prolongar a sua vida útil, já que os mesmos podem diminuir a concentração ou interceptar a ação do oxigênio, decompor os produtos primários da oxidação em espécies não reativas evitando as reações em cadeia (BERTOLIN et al., 2011). Para isso eles devem apresentar baixo custo, ser atóxicos, eficaz em baixas concentrações, estáveis, resistentes ao processamento (REISCHE; LILLARD; EITENMILLER, 2008) ausente de efeitos indesejáveis que comprometam a cor, o odor, o sabor e outras características do alimento e fácil aplicação. Além desses fatores, outros devem ser considerados, incluindo o atendimento da legislação vigente, e a preferência do consumidor por produtos naturais (LAROSA, 2011).

Geralmente são definidos como substâncias que controlam as reações de oxidação lipídica, capazes de retardar ou inibir a propagação dessas reações de oxidação em cadeia por diferentes mecanismos (RAMALHO; JORGE, 2006) e podem ser divididos em duas classes: os enzimáticos e não enzimáticos.

Os antioxidantes com atividade enzimática são capazes de inibir o início da oxidação, por remover as espécies reativas ao oxigênio, interagindo com os radicais. São exemplos dessa categoria a superóxido dismutase, a catalase, a glucose oxidase, a glutathione peroxidase e a glutathione reductase, e entre os não enzimáticos, o α -tocoferol (vitamina E), o β -caroteno (precursor da vitamina A), o ácido ascórbico (vitamina C) e os compostos fenólicos (flavonoides, ácidos fenólicos e taninos) (KOLEVA et al., 2002).

Quanto ao mecanismo de ação, os antioxidantes recebem uma nova classificação: primários e secundários. Os antioxidantes primários interrompem as reações em cadeia pela remoção ou inativação dos radicais livres formados durante o início ou propagação da reação, pela doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas (PRIOR et al., 2005), conforme ilustrado na Figura 2.



Fonte: Ramalho e Jorge, 2006

Figura 2. Atuação dos antioxidantes primários.

Quanto aos antioxidantes secundários, esses retardam a autoxidação nos alimentos por mecanismos diferentes dos antioxidantes primários e são classificados em:

Agentes quelantes – são compostos que complexam metais, em especial os íons metálicos cobre e ferro, que induzem as reações de oxidação. Esses agentes se complexam com os íons metálicos e formam compostos estáveis. Os exemplos mais comuns são o ácido cítrico, ácido fosfórico e o ácido etilenodiaminotetracético - EDTA (RAMALHO; JORGE, 2006; REISCHE; LILLARD; EITENMILLER, 2008).

Removedores de oxigênio – atuam capturando o oxigênio presente no meio, através de reações químicas estáveis, evitando a propagação da autoxidação. Ácido ascórbico e palmitato de ascorbila são os melhores exemplos deste grupo (RAMALHO; JORGE, 2006; REISCHE; LILLARD; EITENMILLER, 2008).

Sinérgicos - são substâncias com pouca ou nenhuma atividade antioxidante, que quando combinados com antioxidantes primários podem aumentar ou recuperar a atividade deles. Os antioxidantes sinérgicos podem ser compostos orgânicos e inorgânicos e, geralmente, têm caráter ácido. Neste grupo incluem os ácidos cítrico, fosfórico e ascórbico (RAMALHO; JORGE, 2006; REISCHE; LILLARD; EITENMILLER, 2008).

Antioxidantes sintéticos versus naturais

Pesquisas atuais mostram, que é crescente o interesse da indústria de alimentos pelos antioxidantes naturais, por dois motivos: a tendência dos consumidores em optarem por alimentos isentos de aditivos químicos e à comprovação dos danos à saúde causadas por antioxidantes sintéticos, como alergia e doenças degenerativas (BERTOLIN et al., 2010).

Os antioxidantes sintéticos mais amplamente utilizados pela indústria alimentícia são BHA, BHT e TBHQ. No entanto, esses compostos, apesar de reduzirem a propagação das reações de oxidação, apresentam a desvantagem de se decomporem em altas temperaturas e,

consequentemente, um produto final com baixa estabilidade (REGITANO-D'ARCE, 2006). Associado a isso, têm-se os riscos à saúde, decorrentes do consumo contínuo desses aditivos químicos, com possíveis efeitos tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos que esses podem provocar (MERCADANTE et al., 2010).

No entanto, essas substâncias tiveram seu uso aprovado em alimentos, após ser constatado sua segurança dentro de um limite de ingestão diária; estando sujeitas a legislações específicas nacionais e internacionais (LAROSA, 2011). No Brasil, o uso desses aditivos é controlado pelo Ministério da Saúde, que estipula um limite máximo de 0,02 g/100 g, para o BHA, TBHQ, BHT por fração lipídica do alimento (BRASIL, 2005).

Nesse contexto, muitos são os esforços de substituir os antioxidantes sintéticos, como o BHA e BHT, por antioxidantes naturais. Contudo, é necessário considerar o tipo e concentração ideal desse antioxidante, além das características e processamento do alimento em que será adicionado. Dentre muitos, os tocoferóis, ácidos fenólicos e carotenoides são alguns exemplos de antioxidantes naturais utilizados em alimentos (CARVALHO, 2012). De acordo com Corbo et al. (2008), os compostos naturais prolongam a vida útil de alimentos embalados, de forma simples e econômica, se comparados a outros métodos de conservação, como irradiação, culturas protetoras ou tratamentos de alta pressão.

Esses compostos, além de preservar os alimentos, ainda podem agir como substâncias nutracêuticas, proporcionando benefícios à saúde dos consumidores (KAHKONEN et al., 2004).

4. MANTEIGA DE GARRAFA: PROCESSAMENTO E ESTABILIDADE

De acordo com a Instrução Normativa nº 30, “entende-se por manteiga de garrafa o produto gorduroso nos estados líquido e pastoso, obtido a partir do creme de leite, pela eliminação quase total da água, mediante processo tecnologicamente adequado” (BRASIL, 2001).

Embora sua tecnologia de fabricação não esteja unificada, a legislação vigente estabelece que a técnica de obtenção da manteiga de garrafa ocorre pelo processamento do creme de leite sob aquecimento (110 a 120 °C) e agitação. O processo é finalizado pela fusão da gordura, a quase total eliminação da água e a formação de precipitados densos e opacos (borra), de coloração amarronzada. As fases são então separadas por decantação e filtração, com posterior envase. Com odor e sabor característicos e próprios, a manteiga de garrafa pode se apresentar nas formas líquida (cor amarelada) e pastosa (amarela-esbranquiçada) em temperatura ambiente, com visível separação das fases (BRASIL, 2001).

No geral, a manteiga de garrafa é produzida em pequenas quantidades, com tecnologia informal, arraigada às tradições familiares. De grande aceitação local, esse produto está presente em grande parte dos lares nordestinos, consumida junto ao pão, carnes, pipocas e preparações culinárias, além de ser utilizada, ainda, como ingrediente na elaboração de outro produto artesanal nordestino, o queijo de manteiga (VAZ, 2015).

Rica em lipídios e quase isenta de umidade, a manteiga da terra pode ser classificada como gordura anidra e, conseqüentemente, está sujeita as reações de deterioração lipídica, seja ela de origem enzimática (ou hidrolítica), pela ação de lipases ou oxidativa, pela ação do oxigênio. Essas reações depreciam sua qualidade sensorial e nutricional criando diversos problemas de estabilidade no armazenamento (MEHTA; DARJI; APARNATHI, 2015).

Junto a essas características intrínsecas do produto, os fatores produção e comercialização também devem ser considerados quanto a ocorrência de deterioração lipídica. No geral, o produto é comercializado a temperatura ambiente, em embalagens transparentes de plástico ou vidro, conforme relata Nassu (2001) e Araújo (2011).

Estudos realizados por Furtado et al. (2006) e Nassu e Lima (2004) por exemplo, avaliaram o efeito da embalagem na evolução oxidativa da manteiga de garrafa. Furtado et al. (2006), observaram que o estado oxidativo avançou mais rapidamente em amostras acondicionadas em embalagens de vidro com passagem de luz, apresentando alterações sensoriais aos 41 dias após a sua fabricação. Nassu e Lima (2004), no entanto, demonstrou, que as amostras acondicionadas em embalagem de vidro, apresentam melhor estabilidade, do que as amostras mantidas em embalagem de plástico.

As embalagens que não apresentam barreira contra a luz, são atingidas pela energia luminosa emanada de fontes naturais ou artificiais, afetando significativamente a estabilidade de alimentos fotossensíveis, por apresentar o poder de iniciar e acelerar reações de degradação através da ação fotoquímica. A luz solar, em especial, apresenta pequeno comprimento de onda e, conseqüentemente, exerce maior efeito catalítico, já que o fóton é dotado de uma elevada quantidade de energia. Diante disso, fica claro, a importância que o fator embalagem exerce sobre a comercialização e armazenamento da manteiga da terra, visto que a cor e o material da embalagem influenciam na deterioração lipídica do produto (FURTADO, 2006), provocando mudanças sensoriais pela ocorrência de odores e sabores não característicos, associados as mudanças físico-químicas, com conseqüente rejeição do produto (COLTRO; BURATIN, 2004; FURTADO, 2006).

Diante disso, as pessoas envolvidas na cadeia comercial da manteiga de garrafa, devem considerar as condições adequadas de embalagem e armazenamento desses produtos,

tendo em vista o valor econômico deste derivado lácteo para a região Nordeste (FURTADO et al., 2006).

Quanto ao processamento, fica claro a falta de padronização na tecnologia de fabricação, apresentando diferentes características físico-químicas e de estabilidade para manteigas da terra produzidas e comercializadas nas diferentes regiões do país (NASSU et al., 2001; AMBRÓSIO et al., 2011; AMBRÓSIO et al., 2003; NASSU et al., 2003; CLEMENTE e ABREU, 2008; MACHADO e DRUZIAN, 2009; ARAÚJO, 2011).

Ambrósio et al. (2003), ao avaliarem a estabilidade de duas marcas de manteiga de garrafa comercializadas na cidade do Recife, identificaram “flavour” de ranço nas amostras de manteiga, após 30 dias de fabricação, tornando-se inadequadas para o consumo após 60 dias, em virtude da deterioração oxidativa.

O mesmo ocorreu com Machado e Druzian (2009), ao avaliarem a estabilidade de manteigas de garrafa, comercializadas na Bahia, pelo período de 7 meses, em armazenamento refrigerado (5°C). Todas as amostras de manteiga analisadas, apresentaram elevados índices de peróxido no tempo inicial, com pouca alteração após sete meses de estocagem. Os autores constataram que o armazenamento refrigerado controla a evolução oxidativa.

Na pesquisa realizada por Araújo (2011) em amostras de manteigas comercializadas as margens da Br-230, Paraíba, verificou-se que a reação de Kreiss apresentou resultado positivo para 22 das 51 amostras estudadas, indicando oxidação em 43,14% das amostras. No entanto, Clemente e Abreu (2008) no estudo de caracterização de manteigas de garrafa produzidas na região de Salinas-MG, identificou resultado negativo, também pelo teste de Kreiss, na maioria das amostras avaliadas.

De acordo com Nassu et al. (2003), essas diferenças são encontradas devido as várias técnicas de obtenção do produto. As etapas de fusão e cozimento do creme, por exemplo, flutuam de produtor para produtor, variando de duas a seis horas de aquecimento, resultando em diferentes níveis de umidade e gordura. Associado a isso, parâmetros de acidez e índice de peróxidos, que caracterizam seu estado oxidativo, podem indicar falhas no processamento, visto que, na maioria dos casos, pequenos produtores juntam a nata em recipientes inadequados, expostos à temperatura ambiente durante vários dias, oxidando-a, e assim, prejudicam a qualidade final da manteiga de garrafa obtida com essa matéria-prima.

Essa falta de padronização na qualidade da matéria-prima e dos métodos de processamento da manteiga de garrafa, permitem a oferta de produtos de baixa qualidade no mercado, tanto do ponto de vista higiênico-sanitário como em relação aos padrões do produto (Nassu, 2001).

Em síntese, a obtenção e manutenção de uma manteiga de garrafa de qualidade, é dependente de inúmeros fatores, entre eles, a qualidade da matéria-prima (leite e nata), a técnica de processamento, o material da embalagem, a ação de microrganismos psicrotóxicos, que produzem lípases termorresistentes e as condições de armazenamento e comercialização do produto (Clemente e Abreu, 2008).

5. PRODUTOS NATURAIS NA CONSERVAÇÃO DE MANTEIGA

São vários os fatores que influenciam na taxa e extensão da oxidação lipídica na gordura láctea. Fatores físicos, condições de processamento e armazenamento, composição química endógena e exógena, além da presença natural de enzimas. Dentro desses fatores incluem-se oxigênio, luz, íons metálicos, tocoferóis, carotenoides, tióis, proteínas, produtos de reações de escurecimento, temperatura de armazenamento e atividade de água. Mas é o balanço entre os fatores pró-oxidantes e antioxidantes que determina o grau de estabilidade oxidativa da manteiga (SANTOS, 2009).

Embora a manteiga de garrafa possua vida de prateleira relativamente longa (7 meses à 5°C), ela é um produto susceptível à deterioração oxidativa, pela riqueza em gordura. O desenvolvimento do ranço se deve principalmente à oxidação dos ácidos graxos insaturados, com consequente formação de peróxidos durante o armazenamento (MACHADO e DRUZIAN, 2009). Por outro lado, poucas são as informações na literatura, relacionadas ao aumento da vida de prateleira da manteiga com o uso de antioxidantes naturais ou sintéticos (SANTOS, 2009).

Estudos realizados por El-Shourbagy e El-Zahar (2014), avaliaram a ação antioxidante de compostos bioativos, encontrados nos extratos da casca de amendoim, casca de romã e bagaço de azeitona, adicionados em manteiga ghee. Esses extratos mostraram potencial antioxidante nas concentrações de 200, 400 e 600 ppm na manteiga incubada a 63 °C por 21 dias.

O potencial do extrato etanólico da casca de Arjuna (*Terminalia arjuna* Wight & Arn.) também foi avaliada como antioxidante natural em manteiga clarificada (ghee). Sete por cento em peso do extrato etanólico da casca de Arjuna foi eficaz em retardar a autooxidação das amostras de ghee durante o armazenamento acelerado, além de melhorar o conteúdo de fitoesterol nas manteigas (PANKAJ et al., 2013).

Santos et al., (2013) avaliaram a estabilidade oxidativa da manteiga com adição de compostos fenólicos de plantas da família *Lamiaceae* e os resultados sugerem que o uso de alecrim como antioxidante natural é seguro, com maior atividade na concentração de 400 mg

de compostos fenólicos por kg de manteiga submetida a oxidação acelerada nas temperaturas de 60 e 110 ° C.

Verificou-se também que a adição de 3% de extrato de canela em manteiga, pode ser usado para formular um produto rico em antioxidantes atuando como conservante natural na elaboração de manteiga. A manteiga incorporada do extrato de canela apresentou redução nos níveis de peróxido e ácidos graxos livres no estudo de estabilidade em armazenamento refrigerado, quando comparado à manteiga sem adição de conservante e com adição de sorbato de potássio (VIDANAGAMAGE et al., 2016).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMBRÓSIO, C. L. B.; GUERRA, N. B.; MANCINI FILHO, J. Qualidade e estabilidade da manteiga de garrafa. Parte I – características de identidade e qualidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 3, p. 314–320, 2001.

AMBRÓSIO, C.L.B.; GUERRA, N.B.; MANCINI FILHO, J. Características de identidade, qualidade e estabilidade da manteiga de garrafa. Parte II - estabilidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 3, p. 351-354, 2001.

ARAÚJO, V. J. A. de. Qualidade da manteiga de garrafa comercializada às margens da BR-230 no estado da Paraíba. **Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)** – Universidade Federal de Campina Grande, 2011.

AYMERICH, T. M., PICOUET, P. A., MONFORT, J. M. Decontamination technologies for meat products. **Meat Science**, v. 78, n. 1–2, p. 114-129, 2008.

ANTES, R. L; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**; v. 53, n. 10, p. 4290-302, 2005

BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v.29, n.1, p.113-123, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 30 de 26 de junho de 2001** - Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade da Manteiga de Garrafa; Queijo de Coalho e Queijo de Manteiga. 2001

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC nº 23, de 15 de fevereiro de 2005**. Aprova “Regulamento Técnico que aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos óleos e gorduras - subcategoria creme vegetal e margarinas”. 2005

BERGER, K. G.; HAMILTON, R. J. (Ed.) **Developments in oils and fats**. London: Chapman & Hall, cap. 7, 1995.

BERTOLIN, T. E.; CENTENAR, A.; GIACOMELLI, B.; GIACOMELLI, F.; COLLA, L. M.; RODRIGUES, V. M. Antioxidantes naturais na prevenção da oxidação lipídica em charque de carne ovina. **Brazilian Journal Food Technology**, Campinas, v. 13, n. 2, p. 83-90, abr./jun. 2010.

CARVALHO, M. G. **Influência do processamento, de antioxidantes e da estocagem sobre a estabilidade oxidativa lipídica do ovo**. Tese (Doutorado) - USP. São Paulo, 2012.

CARVALHO, M. L. B. de. **Avaliação da estabilidade termooxidativa do óleo das sementes de quiabo**. Dissertação (Mestrado) – UFPB/CCEN, 2011.

MACHADO, B. A. S.; DRUZIAN, J. I. Análise da estabilidade e da composição em ácidos graxos em manteiga de garrafa produzida artesanalmente. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 68, n.2, p. 201–8, 2009.

CLEMENTE, M. G.; ABREU, L. R. de. Caracterização química, físico-química e rancidez oxidativa de manteiga de garrafa. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 2, p. 493–496, 2008.

COLTRO, L.; BURATIN, A. E. P. Garrafas de PET para óleo comestível - avaliação da barreira à luz. **Polímeros**, v.14, n.3, p.206-211. 2004.

CORBO, M.R. et al. Study on the synergic effect of natural compounds on the microbial quality decay of packed fish hamburger. **International Journal of Food Microbiology**, v. 127, n. 3, p. 261–267, 2008.

EL-SHOUBAGY, G.A E EL-ZAHAR, K.M. Oxidative stability of ghee as affected by natural antioxidants extracted from food processing wastes. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 59,n.2, 213–220, 2014.

- FURTADO, R. F.; ALVES, C. R.; OLIVEIRA, P. de F. Estudo da estabilidade da manteiga da terra em embalagem de sisal. **Revista Ciência Agronômica**, v. 37, n. 3, p. 304–307, 2006.
- FREITAS, R. J. S.; HARACEMIV, S. M. C.; KOEHLER, H. S.; WILLE, G. M. F. C.; WILLE, S. A. C. Práticas de desenvolvimento de novos produtos alimentícios na indústria paranaense. **Revista FAE**, vol. 7, n. 2, p. 35-45, 2004.
- KAHKONEN, M.P.; HOPIA, A.I.; HEIKKI, J.V.; RAUHA, J.P.; PIHLAJA, K.; KUJALA, T.S.; KARAKAYA, S. Bioavailability of phenolic compounds. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, London, v. 44, n. 6, p. 453-464, 2004.
- KOLEVA, I.I.; VAN BEEK, T.A.; LINNSEN, J.P.H.; GROOT, A.; EVSTATIEVA, L.N. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. **Phytochemical Analysis**, Chichester, v. 13, n. 1, p. 8-17, 2002.
- KUBOW, S. Routes of formation and toxic consequences of lipid oxidation products in foods. **Free radical Biology and Medicine**. New York, v. 12, n. 1, p. 63-81, 1992.
- LAROSA, G. **Desenvolvimento de produto cárneo de tilápia com antioxidantes naturais**. 2011. 93p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2011
- MALLIA, S. **Oxidative stability and aroma of ufa/cla (unsaturated fatty acids/conjugated linoleic acid) enriched butter**. Facoltà di Agraria di Catania, Italy, 2008.
- MEHTA, B. M.; DARJI, V. B.; APARNATHI, K. D. Comparison of Five Analytical Methods for the Determination of Peroxide Value in Oxidized Ghee. **Food Chemistry**, v. 185, p. 449–453, 2015.
- MERCADANTE, A. Z.; CAPITANI, C. D.; DECKER, E. A.; CASTRO, I. A. Effect of natural pigments on the oxidative stability of sausages stored under refrigeration. **Meat Science**, v. 84, p. 718-726, 2010.
- NAHAS, R., I. . Natural antioxidants as food and beverage ingredients. In: Baines, D., Seal, R **Natural food additives, ingredients and flavouring**. Cambrigde, UK: Woodhead Publishing. 2010.

NASSU, R. T.; ARAÚJO, R. dos S.; BORGES, M. de F.; LIMA, J. R.; MACÊDO, B. A.; LIMA, M. H. P.; BASTOS, M. do S. R. **Diagnóstico das condições de processamento de produtos regionais do leite no Estado do Ceará**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2001.

NASSU, T. R.; ARAÚJO, R. S.; GUEDES C. G. M.; ROCHA. G. de A. **Diagnóstico das condições de processamento e caracterização físico-química de queijos manteiga no Rio Grande do Norte**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2003.

NASSU, T. R.; LIMA, J. R. Estabilidade oxidativa da manteiga da terra acondicionada em diferentes embalagens. **Revista Ciência Agronômica**. v.35, n.1, p.110-115, 2004.

ORDÓÑEZ, J.A. **Tecnologia de alimentos: componentes dos alimentos e processos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 294p.

PANKAJ, P., KHAMRUI, K., DEVARAJA, H.C., SINGH, R.R.B. The effects of alcoholic extract of Arjuna (*Terminalia Arjuna* Wight & Arn.) bark on stability of clarified butterfat. **Journal of Medicinal Plants Research**. v.7, n.35, p. 2545–2550, 2013.

PORTINHO, J. A.; ZIMMERMANN, L. M.; BRUCK, M. R. Efeitos Benéficos do Açaí. **International Journal of Nutrology**, v. 5, n. 1, p. 15–20, 2012.

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

REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Deterioração de lipídeos – ranço. In: OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Barueri: Manole, cap.6, p.243-299, 2006.

REISCHE, D.W.; LILLARD, D.A.; EITENMILLER, R.R. Antioxidants. In: AKOH, C.C.; MIN, D.B. (Ed.). **Food Lipids: chemistry, nutrition and biotechnology**, 3 rd ed., Nova York: CRC Press, chap.15, p.409-434, 2008.

SANTOS, R. D.; SHETTY, K.; MIGLIORANZA, L. H. S. Oxidative stability of butter with added phenolics from Lamaciaceae herbs and in vitro evaluation of potencial cytotoxicity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract. **International Journal Food Science Technology**, vol. 49, n. 3, p. 768-775, 2013.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química nova**. São Paulo, v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669–682, 2010.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**. vol. 15, n. 1, p. 71- 81, 2002.

VAZ, L. P. **Caracterização físico-química e sensorial de manteiga da terra durante armazenamento controlado**. Dissertação (Mestrado) - UFPB/CT. João Pessoa, 2015.

VIDANAGAMAGEA, S.A.; PATHIRAJEA, P.M.H.D.; PERERA, O.D.A.N. Effects of Cinnamon (*Cinnamomum verum*) extract on functional properties of butter. **Procedia Food Science**. v. 6, p. 136 – 142, 2016.

WANG, S. Y.; CAMP, M. J.; EHLENFELDT, M. K. Antioxidant capacity and α -glucosidase inhibitory activity in peel and flesh of blueberry (*Vaccinium spp.*) cultivars. **Food Chemistry**, v. 132, n. 4, p. 1759–1768, jun. 2012.

CAPÍTULO II

QUALIDADE E ESTABILIDADE DE MANTEIGA DE GARRAFA ENRIQUECIDA COM EXTRATO DE PIMENTA DO REINO (*Piper nigrum*)

QUALITY AND STABILITY OF BOTTLE BUTTER ENRICHED WITH BLACK PEPPER EXTRACT (*Piper nigrum*)

Keliane da Silva MAIA ^{1 e 2}, Jean Berg Alves da SILVA¹

2. Universidade Federal do Semi-Árido. Av. Francisco Mota, 572 - Bairro Costa e Silva,
Mossoró RN | CEP: 59.625-900, Tel.: +55 84 3317-8200. Doutoranda
PPGCA/UFERSA. E-mail: kelianemaia@gmail.com

2. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte –Apodi. RN
233, Km-02, N° 999, Bairro Chapada do Apodi | Apodi-RN | CEP: 59700-000, Tel. (84)
4005-4101.

Qualidade e estabilidade de manteiga de garrafa enriquecida com extrato de pimenta do reino (*Piper nigrum*)

Quality and stability of bottle butter enriched with black pepper extract (*Piper nigrum*)

RESUMO: Rica em lipídios, a manteiga de garrafa é altamente susceptível as reações de oxidação, dando origem aos problemas de estabilidade. Sendo assim, o uso de agentes naturais, torna-se uma alternativa no controle a deterioração de alimentos gordurosos. Dito isso, objetiva-se avaliar o efeito que o extrato de pimenta-do-reino exerce sobre a evolução oxidativa e qualidade nutricional da manteiga de garrafa, mantendo intacta suas características sensoriais. A manteiga de garrafa e o extrato de pimenta-do-reino foram produzidos em escala laboratorial. Foram realizados testes de estabilidade acelerada, pelo teste de estufa, nas temperaturas de 60 °C e 110 °C, simulando o armazenamento ambiente e a cocção, respectivamente. A oxidação foi monitorada pela determinação do índice de peróxido (IP) e das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), nas amostras armazenadas a 60 °C e a 110 °C, e pelo índice de acidez e perfil de ácidos graxos *trans* apenas para as amostras armazenadas a 110 °C. A qualidade microbiológica se deu pela contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos viáveis (UFC/g) e o número mais provável (NMP/g) de coliformes a 35 °C e 45 °C. Nos ensaios sensoriais, foram aplicados os testes afetivos de aceitação e intenção de compra e o teste de ordenação-diferença. Determinou-se, ainda, os índices de qualidade nutricional (Aterogenicidade e Trombogenicidade) das manteigas de garrafa. Todas as amostras apresentaram boa aceitação, com índice de aceitabilidade acima de 70% para todos os atributos avaliados. Os resultados microbiológicos estavam dentro do limiar estabelecido na legislação. Não houve elevação nos percentuais de ácidos graxos *trans*. A adição de extrato de pimenta do reino reduziu os índices de Aterogenicidade e Trombogenicidade da manteiga de garrafa. A adição de extrato de pimenta-do-reino na concentração de 400 ppm de compostos alcaloides, melhoram a estabilidade oxidativa da manteiga de garrafa e não exerce influência no atributo sabor. A adição do extrato de pimenta-do-reino, melhora a estabilidade da manteiga, mantém a aceitação e eleva sua qualidade nutricional.

Palavras chaves: Alcaloides, compostos bioativos, manteiga funcional.

Qualidade e estabilidade de manteiga de garrafa enriquecida com extrato de pimenta do reino (*Piper nigrum*)

Quality and stability of bottle butter enriched with black pepper extract (*Piper nigrum*)

ABSTRACT: Rich in lipids, a bottle butter is highly susceptible to oxidation, giving rise to stability problems. Thus, the use of natural agents becomes an alternative to control the deterioration of fatty foods. That said, the objective is to evaluate the effect or extraction of pepper-kingdom-exercise on an oxidative and nutritional quality evolution of bottle butter, keeping its sensory characteristics intact. Bottle butter and black pepper extract were used on a laboratory scale. Accelerated stability tests were carried out, using the greenhouse test, at temperatures of 60 ° C and 110 ° C, simulating ambient storage and cooking, respectively. Oxidation was monitored by determining the peroxide index (PI) and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), in samples stored at 60 ° C and 110 ° C, and by the acidity index and trans fatty acid profile only for samples stored at 110 ° C. The microbiological quality was due to the total count of viable mesophilic aerobic microorganisms (CFU / g) and the most likely number (NMP / g) of coliforms at 35 ° C and 45 ° C. In sensory tests, affective acceptance and purchase intention tests and the order-difference test were applied. The nutritional quality indexes (Atherogenicity and Thrombogenicity) of bottle butters were also determined. All samples showed good acceptance, with an acceptability index above 70% for all evaluated attributes. The microbiological results were within the threshold established in the legislation. There was no increase in the percentage of trans fatty acids. The addition of black pepper extract reduced the Atherogenicity and Thrombogenicity indexes of bottle butter. The addition of black pepper extract at a concentration of 400 ppm of alkali compounds, improves the oxidative stability of bottle butter and has no influence on the flavor attribute. The addition of black pepper extract, improves the stability of the butter, maintains acceptance and increases its nutritional quality.

Keywords: Alkaloids, bioactive compounds, functional butter

1. INTRODUÇÃO

Composta quase que exclusivamente por lipídios, a manteiga da terra é altamente susceptível as reações de rancidez, seja ela enzimática ou oxidativa. Tais reações afetam as características sensoriais da manteiga, e depreciam sua qualidade nutricional dando origem aos problemas de estabilidade. Nesse sentido, o potencial antioxidativo de substâncias naturais é bastante oportuno, já que, reduz a evolução oxidativa de óleos, gorduras e alimentos gordurosos, contribuindo para a manutenção da qualidade e enriquecimento nutricional dos mesmos

Esses compostos antioxidantes apresentam ainda, impacto fisiológico positivo na saúde humana, reduzindo os danos provocados pelos processos oxidativo a nível celular. O consumo dessas substâncias ajuda a prevenir o desenvolvimento de doenças associadas a oxidação lipídica, proteica e danos ao DNA, como cânceres, aterosclerose e diabetes (DEL RÉ; JORGE, 2012). Assim, o consumo de alimentos industrializados ricos em agentes naturais com propriedades antioxidantes, não só aumentam a vida útil do alimento como também proporcionam melhor qualidade de vida de quem os consome (SANTOS, 2009).

Nesse contexto, encontra-se a pimenta do reino, especiaria mais apreciada e comercializada no mundo, com aroma e sabor acre, pungente e picante sendo utilizada na culinária, estética e formulações medicinais. Rica em vitaminas, minerais e ácidos fenólicos, a pimenta do reino apresenta um elevado potencial antioxidante, graças, especialmente, a presença dos alcaloides, em particular a piperina, principal composto bioativo presente nos grãos (BIAZOTTO, 2014).

Estudos demonstraram que este alcaloide, apresenta aptidão em doar hidrogênio, sendo capaz de inibir e/ou quelar metais, radicais livres e substâncias reativas ao oxigênio (GULÇIN, 2005), além de reduzir *in vivo* a peroxidação lipídica, beneficiando as moléculas e enzimas antioxidantes presentes no organismo (MAHDY et al., 2012).

Nesse contexto, pode-se dizer que a combinação entre os alimentos e os compostos bioativos, torna-se uma alternativa viável na redução de distúrbios metabólicos que induzem a doenças crônicas, além de oferecer maior funcionalidade e tempo de vida útil ao alimento (SANTOS, 2009).

No entanto, a maioria dos consumidores são acomodados nas suas escolhas e não desejam mudanças bruscas nos produtos aos quais estão adaptados, tornando-se necessário buscar alternativas para ofertar produtos com as alterações desejáveis, sem, no entanto, comprometer as características intrínsecas ao produto (BEALES; SMITH, 2004). Com isso o

uso de ingredientes naturais tem se tornado uma prática crescente pela indústria, que visa atendê-los, mantendo a qualidade e aceitação dos produtos alimentares (YANISHLIEVA et al., 2006).

Diante disso, objetivou-se nesse estudo avaliar o potencial antioxidante do extrato de pimenta do reino na estabilidade termoxidativa da manteiga de garrafa, agregando funcionalidade ao produto e mantendo sua identidade sensorial.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Elaboração e caracterização do extrato de pimenta-do-reino

Para obtenção do extrato, primeiramente obteve-se a oleorresina da pimenta do reino conforme descrito por Araújo (2016), com modificações. Os grãos desidratados de pimenta do reino (50 g) foram mantidos sob refluxo permanente em etanol 99° GL (200 mL), por 4 horas e, em seguida, procedeu-se a total retirada do solvente em rotaevaporador. Posteriormente a oleorresina foi ressuspensa em etanol na proporção de 1:10 p/v, obtendo-se a solução-mãe, utilizada para aplicação direta na manteiga de garrafa. O extrato obtido seguiu para caracterização fitoquímica onde foi determinado o teor de alcaloides totais descrito por Assis (2008), compostos fenólicos pelo método de Folin-Ciocalteu (EL-SHOUBAGY E EL-ZAHAR, 2014), conteúdo de pigmentos (flavonoides, antocianinas, clorofila) conforme Silva (2017), além da atividade antioxidante pelo método DPPH (EL-SHOUBAGY E EL-ZAHAR, 2014). Foi determinado ainda o perfil de ácidos graxos segundo metodologia descrita por TEPIC et al. (2009).

2.2. Elaboração da manteiga de garrafa

A manteiga da terra foi produzida em laboratório de acordo com as etapas estabelecidas pela IN n° 30 do Ministério da Agricultura (BRASIL, 2001), sendo elas: desnate do leite; bateção, lavagem e cocção do creme de leite; decantação da borra; filtração e envase.

2.2.1. Manteiga de garrafa enriquecida com extrato de pimenta-do-reino

Após determinar o teor de alcaloides totais por grama de extrato de pimenta-do-reino, foi calculado a quantidade de extrato capaz de fornecer 200 mg e 400 mg de alcaloides. Os valores encontrados foram adicionados a duas porções de 1 Kg de manteiga de garrafa, sob agitação constante, por 10 minutos, até completa incorporação. Assim, obteve-se dois tratamentos de manteiga de garrafa enriquecida: manteiga de garrafa com 200 ppm de alcaloides totais (EP200) e manteiga de garrafa com 400 ppm de alcaloides totais (EP400).

2.3. Análises físico-químicas

As determinações analíticas de identidade e qualidade de gorduras lácteas (teor de umidade, lipídios, sólidos não gordurosos, acidez total, índice de peróxido, índice de iodo, índice de saponificação, índice de refração) seguiram as metodologias descritas pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), exceto para o índice de TBARS, realizado conforme proposta de Santos (2009), e perfil de ácidos graxos que seguiu o método descrito por TEPIĆ et al. (2009).

Foi realizado a avaliação nutricional da gordura das manteigas por meio dos índices de Aterogenicidade [IA = $[(C12:0) + (4 \times C14:0) + (C16:0)] / [(AGPI \omega-6 + AGPI \omega-3) + AGMI]$], e de Trombogenicidade [IT= $(C14:0 + C16:0 + C18:0) / [(0,5 \times AGMI) + (0,5 \times AGPI n-6) + (3 \times AGPI \omega-3) + (AGPI \omega-3 / AGPI \omega-6)]$] (BARROS et al., 2013).

2.4. Análises microbiológicas

Foi realizada a contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos viáveis (UFC/g) e o número mais provável (NMP/g) de coliformes a 35 °C e 45 °C, conforme descrito na IN n° 62 do MAPA (BRASIL, 2003).

2.5. Oxidação acelerada em estufa

As amostras de manteiga de garrafa com adição de diferentes concentrações de compostos alcaloides (200 ppm e 400 ppm) provenientes do extrato alcoólico de pimenta do reino, foi armazenada sob as temperaturas de 60 °C e 110 °C, pelo teste de estufa, descrito por Santos (2009). A escolha das temperaturas de 60 °C e 110 °C baseou-se na correlação que as mesmas apresentam com as condições de armazenamento e cocção, respectivamente. Amostras de 30 g de manteiga, foram acondicionadas em becker com capacidade de 50 mL, e armazenadas em estufa com circulação e renovação de ar, isenta de luz. O armazenamento a 60 °C foi mantido por 40 dias com análises regulares de 10 em 10 dias, enquanto o armazenamento a 110 °C foi mantido por 72 horas com análises regulares a cada 24 horas. Foram determinados o índice de peróxido (IP) e as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), em triplicata, nas amostras armazenadas a 60 °C e a 110 °C, e o índice de acidez e perfil de ácidos graxos apenas para as amostras armazenadas a 110 °C. Como controle positivo teve-se a manteiga adicionada do antioxidante sintético BHT na concentração de 200 ppm e como controle negativo a manteiga sem adição de antioxidantes. A concentração de BHT foi determinada conforme estabelece a legislação brasileira (BRASIL, 1996).

2.6. Avaliação sensorial

Os testes foram conduzidos em cabines individuais com iluminação artificial, no horário da manhã, entre 9 e 11 horas. As amostras (5ml de manteiga + torrada) foram servidas em copos descartáveis codificados com 3 dígitos, junto com água e ficha de avaliação. Foi realizada uma explicação prévia para o preenchimento da ficha e familiarização dos avaliadores com os testes a serem realizados.

Teste afetivos

Foram selecionados 70 consumidores em potencial, não treinados, entre docentes, discentes e funcionários do Instituto Federal do Rio Grande do Norte-Campus Apodi. Foi realizado o teste de aceitação para os atributos cor, aroma, sabor, textura e Impressão global, por meio da escala hedônica de 9 pontos variando de gostei extremamente (9) até desgostei extremamente (1) e o teste de intenção de compra utilizando-se a escala de 5 pontos variando de (1) certamente não compraria até (5) certamente compraria (DUTCOSKY, 2013).

Foi determinado o índice de aceitabilidade, de acordo com a expressão: $IA (\%) = A \times 100/B$, onde: A = nota média obtida para o produto; B = nota máxima da escala (ESCOPELLI et al., 2016).

Teste de ordenação diferença

O teste foi conduzido com 85 avaliadores, solicitando-os que ordenassem as amostras em ordem crescente de picância (DUTCOSKY, 2013).

Todos os testes foram realizados após análises microbiológicas satisfatórias e prévia aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos da Universidade Estadual do Rio grande do Norte, com número CAAE: 83974118.9.0000.5294, conforme estabelece a Resolução 196, de 10 de outubro de 1996 do Conselho Nacional de Saúde (CNS, 1996).

2.7. Análise estatística

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdivididas, com três repetições. Na parcela os tratamentos (controle, BHT, EP200, EP400) e na sub parcela os tempos de avaliação (0, 24, 48, 72 horas e 0, 10, 20, 30, 40 dias).

Os experimentos foram avaliados por análise de variância pelo teste F com 5% de probabilidade. Em caso de significância, as médias de cada tratamento foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para o estudo das correlações entre os atributos

avaliados do teste de aceitação e intenção de compra foi calculado o coeficiente de correlação de Pearson.

Os dados foram avaliados quanto à normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk a 5% de probabilidade, e pelo teste de homogeneidade de variâncias pelo teste de Bartlett a 5% de probabilidade. Satisfeitas à normalidade e homogeneidade, o tratamento de dados foi realizado pelo Software R 3.6.2.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Caracterização da manteiga de garrafa

Na Tabela 1 estão expostos os resultados das análises de identidade e qualidade da manteiga de garrafa, que apresentou alto teor de lipídios e baixo teor de umidade podendo ser considerada uma gordura anidra. Esses resultados atendem ao exigido pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) de Manteiga de garrafa (BRASIL, 2001), exceto para o parâmetro de sólidos não gordurosos, que pode ser explicado por uma filtração ineficiente, ocorrendo, portanto, um aumento de sólidos no produto final.

TABELA 1. Parâmetros de identidade e qualidade da manteiga de garrafa *in natura* produzida em laboratório

Parâmetros	Resultados	Valores referência*
Umidade (%)	0,3	< 0,3%
Matéria gorda (%)	98,6	>98,5%
Sólidos não gordurosos (%)	1,1	< 1%
Acidez em soluto alcalino normal (%)	1,5	< 2%
Caracterização complementar		**
Índice de peróxido (mEq/kg)	0	< 1%
Índice de saponificação	239	218 – 325
Índice de iodo (I ₂ /100g)	24	28 – 38
Índice de refração (40°C)	1,4576	1.4520 – 1.4566

* Instrução Normativa nº 30 de 26 de junho de 2001 (BRASIL, 2001).

** Portaria nº 146 de 7 de março de 1996 (BRASIL, 1996).

É importante considerar ainda outros parâmetros de identidade e pureza das gorduras lácteas destinadas ao consumo humano. Para esse fim, usa-se a Portaria nº 146 (BRASIL, 1996) que preconiza a determinação de diferentes índices, capazes de expressar as

propriedades físico-químicas inerentes às gorduras lácteas. Os valores de índice de peróxido, saponificação e refração apresentados na Tabela 1, ao serem confrontados aos limites fixados pela legislação, mostram-se similares e ratificam os resultados obtidos por Ambrósio et al. (2001) e Vaz, (2015). Com isso, enquadram-se dentro do limiar estabelecido pela lei.

No entanto, o mesmo não foi observado, no valor para índice de iodo que apresentou um resultado menor do que o limite estabelecido. Valores assim são característicos de gorduras animais, que apresentam como particularidade o baixo grau de insaturações na sua composição e, conseqüentemente, baixo valor para índice de iodo. Esse valor pode ser justificado pela composição química da manteiga (Tabela 2), que apresentam um total de 24,85% de ácidos graxos insaturados do total de ácidos graxos, diferentemente dos valores de 39,64%, encontrado por Clemente et al. (2009) e 31,77% encontrados por Ambrósio (2003).

TABELA 2. Perfil de ácidos graxos da manteiga de garrafa *in natura* produzida em escala laboratorial

Ácidos Graxos	Em área %
Capróico (C6:0)	1,90
Caprílico (C8:0)	1,06
Cáprico (C10:0)	2,16
Láurico (C12:0)	2,52
Mirístico (C14:0)	9,96
Miristoleico (14:1)	0,49
Pentadecanóico (C15:0)	0,96
Palmítico (C16:0)	33,11
Palmitoleico (C16:1)	0,98
Linoleico (C18:2)	1,71
Oleico (C18:1)	18,99
Elaidico (C18:1)	2,68
Esteárico (C18:0)	15,77
Não identificados	7,71
Ácidos graxos saturados	67,44
Ácidos graxos insaturados	24,85

De maneira geral, a concentração dos ácidos graxos insaturados apresentados no presente estudo foi menor do que as encontradas pela maioria dos autores que investigaram o

assunto (AMBRÓSIO et al., 2003; CLEMENTE et al., 2009; VAZ, 2015). Contudo, houve similaridades quanto aos ácidos graxos majoritários (Mirístico, Palmítico, Oleico, Esteárico).

No entanto, essas variações são previsíveis, visto que a composição da gordura láctea sofre interferência das condições locais e sazonais (AMBRÓSIO et al., 2001), o que justificaria o valor para índice de iodo. Segundo Clemente et al. (2009), animais alimentados com pastagens, por exemplo, geram um aumento no teor de ácidos graxos insaturados na gordura do leite, como resultado da biohidrogenação da microbiota de animais ruminantes.

Logo, pode-se perceber, que a composição em ácidos graxos da manteiga de garrafa é indispensável ao estabelecimento do perfil lipídico dos produtos lácteos, por garantir uma maior padronização dos produtos artesanais, uma vez que a qualidade da gordura láctea sofre influência da região, período de produção e alimentação animal.

De fabricação artesanal, a manteiga de garrafa não possui parâmetros físico-químicos totalmente padronizados. Mesmo com uma legislação específica, pode-se observar o descumprimento desses parâmetros em virtude da tecnologia de fabricação não unificada.

3.2. Caracterização química do extrato etanólico de pimenta-do-reino

A pimenta-do-reino vem sendo recomendada como fonte dietética potencial de antioxidantes, pelo poder em amenizar o estresse oxidativo existente em pacientes com doenças degenerativas, por ser rica em compostos fenólicos e alcaloides, importantes bioativos no combate aos radicais livres (BIAZOTTO, 2014).

Na Tabela 3 pode-se observar os resultados da composição química do extrato da pimenta-do-reino e ratificar as características expressas na literatura.

TABELA 3. Composição química do extrato etanólico de pimenta-do-reino

Parâmetros	Valores	Ácidos Graxos	Em área (%)
Fenóis totais	3 mg EAG/g de extrato	Palmítico (C16:0)	12,58
Alcaloides totais	53,5 mg/g de extrato	Linoleico (C18:2)	46,91
Flavonoides	55 mg/100 g de extrato	Oleico (C18:1)	38,63
Clorofila	2 mg/100 g de extrato	Esteárico (C18:0)	1,87
Antocianinas	6,6 mg/100 g de extrato		
AA - (DPPH)	IC50 7 mg/ml		

mg EAG - Miligramas de equivalente em ácido gálico; AA - (DPPH) – Atividade antioxidante pelo método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila); IC50 - Inhibitory Concentration.

Os resultados aqui obtidos sugerem um forte potencial antioxidante do extrato analisado, satisfatórios e condizentes com a literatura. Autores como Zarai et al., (2013) e Narendra (2018), ao investigarem o assunto, encontraram valores de IC50 e fenóis totais semelhantes ao do presente estudo, o que ratifica o elevado potencial de uso do extrato de pimenta-do-reino como antioxidante natural.

Embora os métodos utilizados pelos autores supracitado, se assemelhem ao empregado nesse estudo, é preciso considerar as diferenças na matéria-prima e as condições experimentais. A temperatura de extração dos alcaloides, por exemplo, principal fitoquímico presente na pimenta-do-reino, é capaz de degradar os compostos fenólicos, o que justifica a diferença de valores entre estudos. O potencial antioxidante de fontes naturais, também deve ser interpretado com atenção, visto que pode sofrer variação dependendo da metodologia analítica empregada, podendo apresentar comportamentos de reatividade e seletividade distintos entre os antioxidantes presentes nos extratos.

No que diz respeito à composição de ácidos graxos no extrato de pimenta-do-reino (Tabela 3), este apresenta o ácido linoleico como ácido graxo majoritário. O ácido linoleico é o principal representante do grupo ômega 6, e por ser um ácido graxo polinsaturado, é recomendado na alimentação diária, pois contribui com a redução de importantes eventos inflamatórios e oxidativos (ALASALVAR; SHAHIDI, 2008), ou seja, atribui melhor qualidade nutricional ao extrato oleorresinoso e, conseqüentemente, a manteiga da terra.

Em posse desses resultados, tem-se que o extrato de pimenta-do-reino é uma alternativa promissora no enriquecimento de manteiga da terra, proporcionando-lhe características funcionais e melhor estabilidade oxidativa.

3.3. Qualidade nutricional (Índices de Aterogenicidade e Trombogenicidade) de manteiga de garrafa enriquecida com extrato de pimenta-do-reino

Os índices de Aterogenicidade (IA) e de Trombogenicidade (IT) das manteigas apresentaram redução substancial com a adição crescente de extrato de pimenta na manteiga de garrafa, conforme exposto na Tabela 4.

TABELA 4. Índices de qualidade nutricional da fração lipídica das manteigas de garrafa enriquecida com extrato etanólico de pimenta-do-reino

Índices	Tratamentos		
	Controle	EP200	EP400
Aterogenicidade	3,04	2,74	2,16
Trombogenicidade	3,8	3,3	2,9

Índice de Aterogenicidade - $[(C12:0 + 4 \times C14:0 + C16:0)] / \Sigma AGMI + \Sigma n-6 + \Sigma n-3$; Índice de Trombogenicidade - $(C14:0 + C16:0 + C18:0) / [(0,5 \times \Sigma AGMI) + (0,5 \times \Sigma n-6) + (3 \times \Sigma n-3) + (\Sigma n-3/n-6)]$; EP200 = extrato de pimenta-do-reino 200 ppm; EP400 = extrato de pimenta-do-reino 400 ppm.

De acordo com Tonial et al. (2010), esses índices indicam o potencial de estímulo à agregação plaquetária, ou seja, quanto menores os valores de Aterogenicidade e Trombogenicidade, maior é a quantidade de ácidos graxos antiaterogênicos presentes em determinado óleo/gordura e, conseqüentemente, maior é o potencial de prevenção ao aparecimento de doenças coronarianas. Dito isso, a redução desses índices demonstra o potencial que existe para a produção de manteigas com qualidade nutricional mais adequada para a saúde humana, pois, comumente, esse produto é referido apenas por seu teor de gordura total.

Na literatura são raras as referências que avaliam os índices de Aterogenicidade e de Trombogenicidade de alimentos, principalmente, no que se refere a manteiga de garrafa. Barros et al. (2013) estudando a elaboração de manteigas produzidas do leite de vacas suplementadas com óleo de girassol encontraram valores entre 1,41 e 2,05 para IA e IT, respectivamente.

3.4. Características microbiológicas

Os valores encontrados nas análises microbiológicas realizadas para coliformes a 35 °C e 45 °C e mesófilos aeróbios viáveis foram < 0,3 NMP/g e < 1,0 x 10¹ UFC/g, respectivamente, para todas as amostras analisadas. Estes resultados atendem aos padrões microbiológicos descritos na legislação brasileira (BRASIL, 2001). É importante frisar que embora os fatores intrínsecos desses produtos (elevado teor de gordura e a baixa umidade) não favoreçam ao desenvolvimento de microrganismos, é necessário destacar a importância das boas práticas de fabricação na garantia de qualidade e segurança dos alimentos. Juntos, restringem a proliferação da maioria dos micro-organismos, entre eles, os patogênicos.

3.5. Avaliação sensorial

Após os resultados microbiológicos, foram realizados os testes sensoriais de aceitação, intenção de compra e teste de ordenação nas amostras de manteiga de garrafa. Foram avaliados 5 atributos sensoriais no teste de aceitação, conforme observado na Tabela 5.

TABELA 5. Índice de aceitabilidade (IA) das manteigas de garrafa enriquecida com extrato etanólico de pimenta-do-reino

Tratamentos	Índice de Aceitabilidade (%)				
	Sabor	Odor	Cor	Textura	Imp. Global
Controle	89,36	85,88	86,98	84,44	88,09
EP200	78,89	82,70	83,33	80,16	80,16
EP400	80,47	85,08	84,92	84,76	84,60

IA (%) = $A \times 100/B$, onde: A = nota média obtida para o produto; B = nota máxima da escala; EP200 = extrato de pimenta-do-reino 200 ppm; EP400 = extrato de pimenta-do-reino 400 ppm.

Observa-se que as amostras apresentaram um Índice de aceitabilidade (IA) superior a 70%, na avaliação de todos os atributos. Esses valores asseguram a boa aceitação das amostras, tendo como pressuposto que 70% é a menor porcentagem aceitável para IA (DUTCOSKY, 2013).

3.6. Teste de ordenação

Os resultados da somatória das notas de ordenação de cada tratamento e a diferença entre elas, estão expostos na Tabela 6.

TABELA 6. Diferenças entre os totais de ordenação das amostras de manteiga de garrafa enriquecida com extrato etanólico de pimenta-do-reino

	Diferença entre os totais de ordenação		
	Controle	EP200	EP400
Soma total	154	172	184
Controle	—	18ns	30ns
EP200		—	12ns
EP400			—

Diferença crítica significativa (5%) = mínimo de 31, para três amostras e 85 provadores, segundo tabela de Newell e MacFarlane (DUTCOSKY, 2013); ns = não significativo; EP200 = extrato de pimenta-do-reino 200 ppm; EP400 = extrato de pimenta-do-reino 400 ppm.

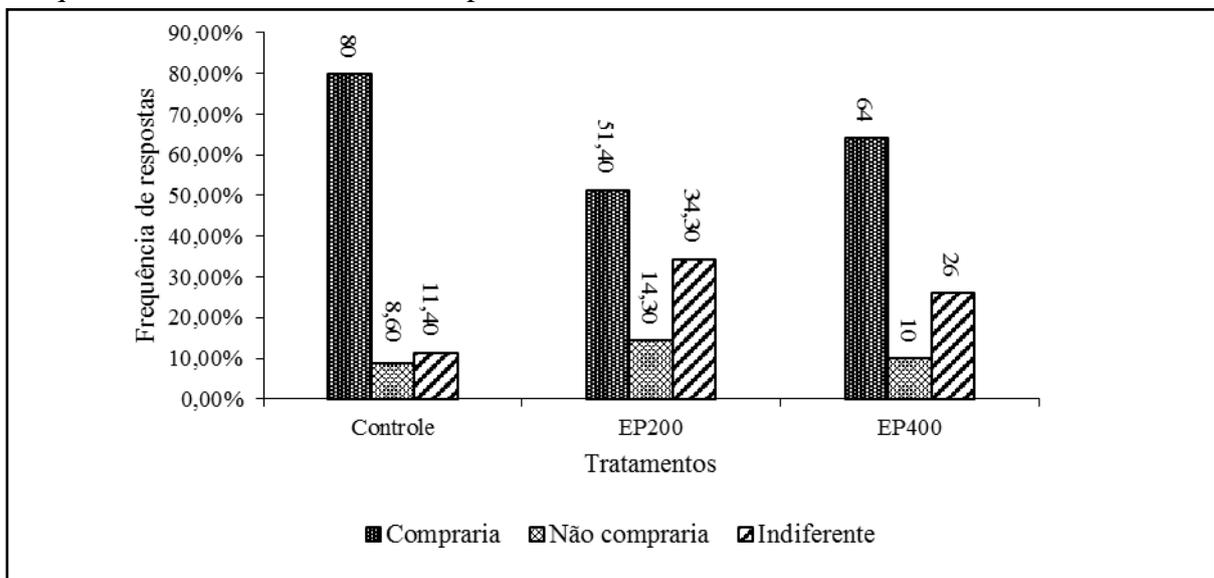
O teste de ordenação tem como finalidade avaliar a diferença entre amostras para um determinado atributo, comparando-as ao mesmo tempo. Diante desses valores, pode-se perceber, que os tratamentos não apresentaram diferença significativa para o atributo avaliado ($p < 0,05$), ou seja, o consumidor não foi capaz de identificar alteração no sabor da manteiga de garrafa pela adição de extrato de pimenta-do-reino.

3.7. Teste de atitude

A fim de complementar a avaliação sensorial, foi realizado o teste de intenção de compra, como ferramenta de estudo mercadológico.

Na Figura 1 pode-se observar o histograma da frequência de respostas do teste de atitude. Se fizermos a soma das notas positivas 5 (certamente compraria) e 4 (provavelmente compraria), tem-se que a amostra-controle exibiu o maior percentual favorável a compra, muito embora todos os tratamentos apresentaram percentuais acima de 50%.

FIGURA 1. Frequência das respostas da intenção de compra de manteiga de garrafa enriquecida em extrato etanólico de pimenta-do-reino



EP200 = extrato de pimenta-do-reino 200 ppm; EP400 = extrato de pimenta-do-reino 400 ppm; compraria = somatória das notas 4 e 5 no teste de intenção com escala de 5 pontos; não compraria = somatória das notas 1 e 2 no teste de intenção com escala de 5 pontos.

Diante do observado pode-se dizer que embora a atitude de compra do consumidor seja influenciada por fatores não sensoriais, são as características intrínsecas ao produto o principal responsável pela decisão de compra. Isso pode ser observado nos resultados apresentados, que ratificam a afirmação de Escopelli et al. (2016), quando afirma que a

intenção de compra de um produto está diretamente relacionada ao seu índice de aceitabilidade, conforme observado no presente trabalho.

Observa-se ainda que as correlações entre os atributos sensoriais e a intenção de compra (Tabela 7) foram positivas em todas as variáveis. O maior coeficiente de correlação positivo ocorreu entre sabor e impressão global, indicando que a adição de extrato de pimenta trouxe melhores avaliações de impressão global, muito embora, o teste de ordenação indique que esse atributo (sabor picante) não é percebido pelos avaliadores.

TABELA 7. Correlação de Pearson entre atributos sensoriais e intenção de compra de manteiga de garrafa enriquecida com extrato etanólico de pimenta-do-reino

	Sabor	Odor	Cor	Textura	Imp. Global
Odor	0,309**				
Cor	0,346**	0,431**			
Textura	0,276**	0,308**	0,505**		
Impressão global	0,671**	0,461**	0,577**	0,506**	
Intenção de compra	0,614**	0,285**	0,319**	0,279**	0,594**

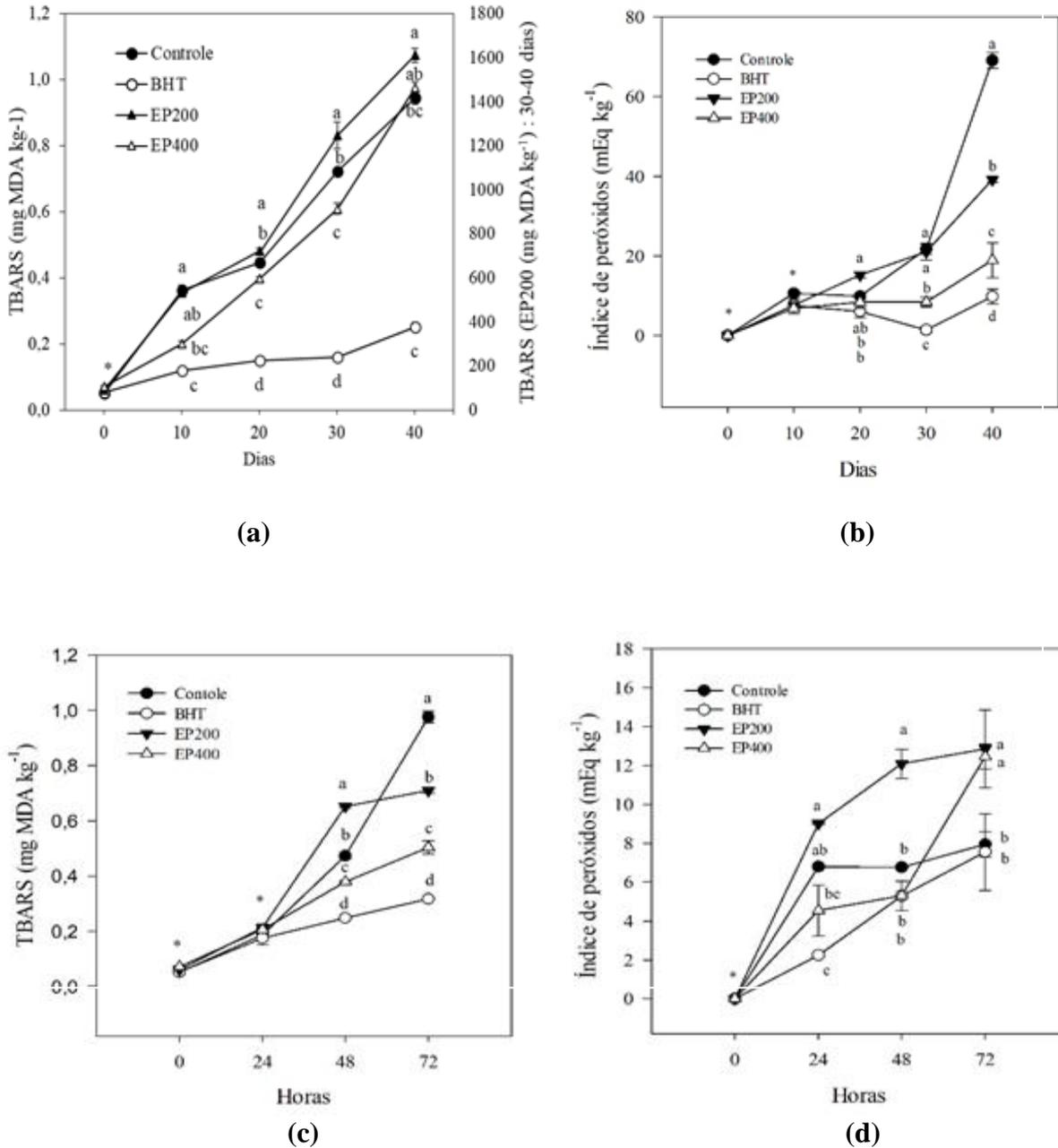
** Significativo a 5% de probabilidade.

As correlações observadas para os atributos em estudo indicaram que a variável sabor foi a de maior importância ao longo da análise sensorial com relação direta entre a impressão global, que definiu a atitude de compra

3.8. Estabilidade oxidativa

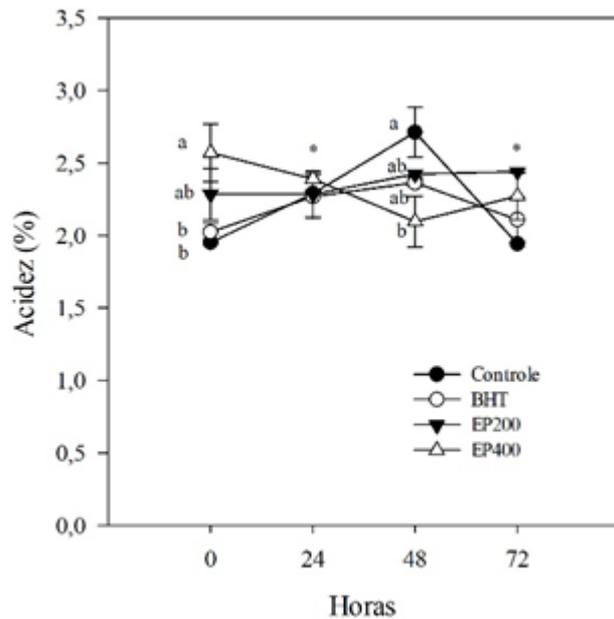
Os resultados para índice de peróxido e TBARS das amostras submetidas a 60 °C e 110 °C (Figura 2), apresentaram um crescimento no decorrer do tempo e em função da temperatura de armazenamento. No entanto, para o percentual de acidez (Figura 3) e ácidos graxos *trans* (Tabela 8) das amostras submetidas a 110 °C, não houve uma mudança significativa.

FIGURA 2. Valores de TBARS e índice de peróxidos das amostras de manteiga de garrafa enriquecida com extrato de pimenta-do-reino e submetidas a oxidação acelerada pelo teste de estufa em armazenamento a 60 °C (a, b) e 110 °C (c, d)



EP200 = extrato de pimenta-do-reino 200 ppm; EP400 = extrato de pimenta-do-reino 400 ppm; mg MDA kg⁻¹ = miligramas de malonaldeído por quilograma; mEq kg⁻¹ = miliequivalente por quilograma.

FIGURA 3. Percentual da acidez total das amostras de manteiga de garrafa enriquecida com extrato de pimenta-do-reino e submetidas a oxidação acelerada pelo teste de estufa em armazenamento 110 °C



EP200 = extrato de pimenta-do-reino 200 ppm;
EP400 = extrato de pimenta-do-reino 400 ppm.

O índice de peróxido (IP) e as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) são comumente utilizadas como parâmetro avaliativo na determinação de produtos primários e secundários, respectivamente, oriundos da deterioração oxidativa de óleos, gorduras e alimentos gordurosos.

Para o índice de peróxidos, observou-se um aumento crescente desses compostos a 110 °C, em todos os tratamentos avaliados, porém, apenas a manteiga com adição de 200 ppm de compostos alcaloides, apresentou diferença significativa, com a maior taxa de oxidação ao longo do tempo. Contudo, a adição de 400 ppm de alcaloides apresentou efeito similar ao BHT por 48 horas.

Nas amostras armazenadas a 60 °C não houve diferença significativa entre os tratamentos nos primeiros 20 dias. No entanto, no tempo 40 dias, todos os tratamentos com presença de aditivos (naturais ou sintético), apresentaram efeito antioxidante, se comparados com a amostra-controle.

A produção de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) para as amostras armazenadas a 110 °C e 60 °C apresentaram evolução crescente ao longo do tempo, observando-se a maior formação de produtos secundários da oxidação na manteiga com adição de 200 ppm de alcaloides, especialmente no armazenamento a 60 °C.

Segundo Silvagni et al. (2010), pode-se considerar, uma nova rota para a oxidação lipídica que sugere que a formação dos produtos secundários, principalmente aldeídos voláteis, se dá de forma independente à decomposição dos peróxidos. Essa nova rota, indica que os compostos carbonílicos são formados a partir da clivagem do radical livre formado durante a etapa de propagação da oxidação, promovendo a formação de produtos secundários, sem a formação de peróxidos. Desta forma, é possível justificar, a alta formação de produtos secundários nas manteigas adicionadas de 200 ppm de alcaloides, armazenadas a 60 °C.

No entanto, os estudos de El-Shourbagy e El-Zahar (2014) avaliaram o poder antioxidante de extratos vegetais na estabilidade de manteiga *ghee* (produto similar indiano) e apresentou resultados satisfatórios na evolução oxidativa em todas as concentrações testadas em armazenamento a 60°C. Já Santos (2009), ao avaliar a estabilidade oxidativa de manteiga comum obteve maior controle da oxidação nas amostras com adição de 400 ppm do extrato alcoólico de alecrim nas temperaturas de 110 °C e 60 °C. Esses trabalhos corroboram com o efeito inibidor que a adição de extrato de pimenta do reino (400 ppm de alcaloide), apresentou sobre os compostos da oxidação nas amostras de manteiga de garrafa

É importante observar também que a deterioração dos lipídios, seja ela hidrolítica ou oxidativa, quase sempre altera o teor de íons hidrogênio e ácidos graxos livres, se manifestando, portanto, no aumento da acidez (IAL, 2008), fenômeno esse que não foi observado neste estudo (Figura 3). Segundo Vaz (2015), esse comportamento é indicativo de que a manteiga da terra apresentou inicialmente baixa rancificação hidrolítica, o que pode ser atribuído ao baixo teor de sólidos não gordurosos (1,1%) provenientes do processamento, responsáveis por disponibilizar lactose como substrato de fermentação e lipases, favorecendo o processo hidrolítico e, conseqüentemente, o aumento no teor de ácidos graxos livres.

Ao traçar o perfil de ácidos graxos *trans* (Tabela 8) durante o armazenamento a 110°C é possível notar que não houve elevação no teor de ácidos graxos *trans* ao longo de 72 horas, havendo formação desses compostos apenas nos tratamentos controle e BHT. Com isso, percebe-se também que a adição de extrato de pimenta não apresentou efeito na formação de ácidos graxos *trans*. Esses valores corroboram com Ambrósio (2003) que avaliou a formação desses compostos durante o armazenamento de manteiga de garrafa, o que sugere, que a manteiga de garrafa, é uma opção de uso em preparações culinárias sob altas temperaturas, a exemplo da fritura.

Os ácidos graxos *trans* podem ser formados no processo de fritura, a partir de ácidos graxos insaturados e sua ingestão contribui para o aumento lipoproteínas LDL. Além disso, esses ácidos graxos competem com ácidos graxos essenciais, tornando-se uma alternativa de

substrato das enzimas que atuam no metabolismo destes ácidos graxos, resultando na formação de ácidos graxos ômega 3 e 6 sem atividade biológica, podendo, ainda, bloquear o metabolismo dos ácidos graxos essenciais, atuando como inibidores enzimáticos (LOPES, 2004).

TABELA 8. Composição percentual de ácidos graxos em manteiga de garrafa enriquecida com extrato de pimenta-do-reino (área %)

ÁCIDOS GRAXOS	TEMPO DE ARMAZENAMENTO A 110°C															
	Tempo zero				24 horas				48 horas				72 horas			
	C	BHT	200ppm	400ppm	C	BHT	200ppm	400ppm	C	BHT	200ppm	400ppm	C	BHT	200ppm	400ppm
Capróico (C6:0)	1,90	1,90	1,64	1,78	1,95	1,49	1,51	1,50	1,62	1,55	1,70	1,51	1,62	1,50	1,61	1,65
Caprílico (C8:0)	1,06	1,06	1,04	1,08	1,12	0,96	0,97	0,95	1,01	0,97	1,05	0,97	1,03	0,95	1,01	1,04
Cáprico (C10:0)	2,16	2,16	2,13	2,17	2,26	1,96	1,97	1,95	2,07	1,97	2,10	1,94	2,03	1,93	2,01	2,11
Láurico (C12:0)	2,52	2,52	2,54	2,59	2,55	2,36	2,38	2,34	2,49	2,37	2,48	2,35	2,45	2,32	2,40	2,53
Mirístico (C14:0)	9,96	9,96	9,97	10,08	9,98	9,26	9,29	9,13	9,83	9,28	9,81	9,24	9,57	9,16	9,38	10,011
Miristoleico (14:1) n5 cis	0,49	0,49	0,79	0,73	0,49	0,79	0,82	0,72	0,82	0,79	0,70	0,80	0,79	0,79	0,79	0,83
Pentadecanóico (C15:0)	0,96	0,96	1,49	1,49	1,24	1,54	1,57	1,17	1,5	1,58	1,58	1,57	1,65	1,21	1,59	1,58
Palmítico (C16:0)	33,11	33,11	31,93	32,3	32,31	30,74	31,16	30,27	31,68	30,84	32,11	30,49	32,97	30,35	30,97	32,41
Palmitoleico (C16:1)	0,98	0,98	0,90	0,84	0,65	1,04	1,08	0,94	1,08	1,02	0,87	1,07	1,03	1,08	1,01	1,0
Linoleico (C18:2)	1,71	1,71	2,34	2,48	1,73	1,52	1,55	1,30	3,13	1,48	1,02	2,41	—	1,59	0,89	1,70
Oleico (C18:1) n9	18,94	18,94	23,03	30,72	26,69	27,17	28,64	27,98	20,75	26,96	27,21	27,98	22,94	23,0	27,61	24,40
Elaidico (C8:1) <i>trans</i> -9	2,68	2,68	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Vacênico (18:1) 11 <i>trans</i>	—	—	—	—	0,42	—	—	—	0,22	—	—	—	—	—	—	—
Octadecenóico n8 <i>trans</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,87	—	—	—	—	—	—
Esteárico (C18:0)	15,77	15,77	17,14	16,47	17,45	17,09	17,18	16,47	16,96	17,24	16,98	17,19	17,99	11,92	16,63	17,19

4. CONCLUSÃO

A adição de extrato de pimenta do reino à manteiga, na proporção de 400 ppm de compostos alcaloides, reduz a deterioração oxidativa.

A manteiga com adição de extrato de pimenta com até 400 ppm de alcaloides não altera o atributo sabor e apresentam aceitação satisfatória.

A adição de extrato de pimenta melhora a qualidade nutricional da manteiga de garrafa pela redução os índices de Aterogenicidade e Trombogenicidade.

Não há formação substancial de ácidos graxos *trans* na manteiga submetida a temperatura de cocção (110°C)

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andrade, KS (2015). **Extração e Microencapsulamento de Extratos de Interesse Biológico Provenientes de Pimenta-do-Reino (*Piper nigrum* L.) e de Pimenta Rosa (*Schinus terebinthifolius* R.)** Tese (doutorado) – Florianópolis, SC.

Assis, CM., Moreno, PRH, Young, MCM, Campos, IPA e Suffredini, IB (2009). Isolamento e avaliação da atividade biológica dos alcaloides majoritários de *Tabernaemontana angulata* Mart. ex Müll. Arg., Apocynaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19, 626-631. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2009000400021>

Araújo, FMG (2016). **Ação sinérgica entre os alcaloides piperina e capsaicina com o antimoníaco de meglumina contra *leishmania infantum***. Dissertação (Mestrado).

Alasalvar, C e Shahidi, F (2008). *Tree nuts: composition, phytochemicals and health effects*. (1ª ed). Boca Raton: CRC Press.

Ambrósio, CLB., Guerra, NB e Mancini Filho, J (2001). Características de identidade, qualidade e estabilidade da manteiga de garrafa. Parte I. Características de identidade e qualidade. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 21, 314-320. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612001000300011>

Ambrósio, CLB., Guerra, NB e Mancini Filho, J (2003). Características de identidade, qualidade e estabilidade da manteiga de garrafa. Parte II - estabilidade. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 23, 351-354. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612003000300009>.

Barros, PAV et al. (2013) Qualidade nutricional e estabilidade oxidativa de manteigas produzidas do leite de vacas alimentadas com cana-de-açúcar suplementada com óleo de girassol. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* [online], 65, 1545-1553. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352013000500036>.

Beales, N e Smith, J (2004). Antimicrobial preservative-reduced foods. In: Smith, J Technology of Reduced Additive Foods (pp. 84-105) **Oxford: Blackwell Science**. <https://doi.org/10.1002/9780470995044.ch5>

Brasil (2003). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003** - Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água.

Brasil (1996). **Portaria no 146, de 07 de março de 1996**. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. Diário Oficial da União, Brasília, 11 de março de 1996, p. 3977, Seção 1.

Brasil (2001). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 30 de 26 de junho de 2001** - Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade da Manteiga de Garrafa; Queijo de Coalho e Queijo de Manteiga.

Biazotto, FO (2014). **Atividade antioxidante, anticolinesterásica e perfil metabolômico de diferentes tipos de pimentas: implicações na doença de Alzheimer**. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.

Clemente, MG., Abreu, LR, Pinto, SM, Rezende, CPA (2009). Perfil Dos ácidos Graxos de “Manteigas de Garrafa” Produzidas Na Região de Salinas - Minas Gerais. *Ciência e Agrotecnologia*, 33, 1615–1620. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542009000600022>

CNS. Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde. Resolução nº.196, de 10 de Outubro de 1996. **Diário Oficial da União**, de 16 de outubro, 1996.

Del Ré, PV e Jorge, N. (2012). Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 14, 389-399. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722012000200021>

Dutcosky, SD (2013). *Análise sensorial de alimentos*. (4ª ed). Curitiba: Champagnat.

El-Shourbagy, GA e El-Zahar, KM (2014). Oxidative stability of ghee as affected by natural antioxidants extracted from food processing wastes. *Annals of Agricultural Sciences*, 59, 213–220. <https://doi.org/10.1016/j.aogas.2014.11.008>

Escopelli, KS., Célia, AP, Pinto, AT, Schmidt, V (2016). Aceitabilidade e intenção de compra de queijo tipo pecorino produzido com leite ovino. *Higiene Alimentar*, 30, 119-122.

Gülçin, I. (2005). The antioxidant and radical scavenging activities of black pepper (*Piper nigrum*) seeds. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 56, 491-499. DOI: 10.1080/09637480500450248

Instituto Adolfo Lutz, IAL (2008). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz.

Lopes, MRV., Aued-Pimentel, S, Caruso, MSF, Jorge, N, Uvieri, V (2004). Composição de ácidos graxos em óleos e gorduras de fritura. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 63, 168-176.

Mahdy, K., Shaker, O, Wafay, H, Nassar, Y, Hassan, H, Hussein, A (2012). Effect of some medicinal plant extracts on the oxidative stress status in Alzheimer’s disease induced in rats. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 16, 31-42.

Narendra Babu, K., Hemalatha, R., Satyanarayana, U., Shujaiddin, M., Himaja, N., Bhaskarachary, K, e Dinesh Kumar, B. (2018). Phytochemicals, polyphenols, prebiotic effect of *Ocimum sanctum*, *Zingiber officinale*, *Piper nigrum* extracts. *Journal of Herbal Medicine*, 13, 42-51. doi:10.1016/j.hermed.2018.05.001.

Silva, EV (2017). **Potencialidades da pimenta biquinho (*Capsicum chinense*) como aditivo natural.** Tese de doutorado - João Pessoa, PB.

Santos, RD. (2009). **Compostos fenólicos de ervas *Lamiaceae* na estabilidade oxidativa da manteiga e avaliação da toxicidade de extrato de alecrim (*rosemarinus officinalis* L.).** Tese de doutorado – Londrina, PR.

Silvagni, A., Franco, L, Bagno, A, Rastrelli, F (2010). Thermoinduced lipid oxidation of culinary oil: a kinetic study of the oxidation products by magnetic resonance spectroscopies. *Journal of Physical Chemistry*, 114, 10059-10065. <https://doi.org/10.1021/jp104295c>

Tepić, A., Zeković, Z, Kravić, S, Mandić, A (2009). Pigment content and fatty acid composition of paprika oleoresins obtained by conventional and supercritical carbon dioxide extraction. *CyTA – Journal of Food*, 7, 95–102. <https://doi.org/10.1080/19476330902940382>

Tonial, I.B., Oliveira, DF, Bravo, CEC (2010). Caracterização físico-química e perfil lipídico do salmão (*Salmo salar* L.). *Alimentos e Nutrição*, 21, 93-98,

Vaz, LP. (2015). **Caracterização físico-química e sensorial de manteiga da terra durante armazenamento controlado.** Dissertação (Mestrado) - João Pessoa, PB.

Yanishlieva, NV, Marinova, E, Pokorny, J (2006). Natural antioxidants from herbs and spices. *European Journal Lipid Science and Technology*, 108, 766-793. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200600127>

Zarai, Z., Boujelbene, E, Ben Salem, N, Gargouri, Y, e Sayari, A (2013). Antioxidant and antimicrobial activities of various solvent extracts, piperine and piperic acid from *Piper nigrum*. *LWT - Food Science and Technology*, 50, 634 -641doi: 10.1016 / j.lwt.2012.07.036

CAPÍTULO III

ESTABILIDADE OXIDATIVA E QUALIDADE SENSORIAL DE MANTEIGA DE GARRAFA DEFUMADA

OXIDATIVE STABILITY AND SENSORY QUALITY OF SMOKED BOTTLE BUTTER

Keliane da Silva MAIA ^{1 e 2}, Jean Berg Alves da SILVA¹

1. Universidade Federal do Semi-Árido. Av. Francisco Mota, 572 - Bairro Costa e Silva, Mossoró RN | CEP: 59.625-900, Tel.: +55 84 3317-8200. Doutoranda PPGCA/UFERSA. E-mail: kelianemaia@gmail.com

2. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte –Apodi. RN 233, Km-02, N° 999, Bairro Chapada do Apodi | Apodi-RN | CEP: 59700-000, Tel. (84) 4005-4101.

Artigo conforme as normas do Revista Innovative Food Science and Emerging Technologie.

Estabilidade oxidativa e qualidade sensorial de manteiga de garrafa defumada

Oxidative stability and sensory quality of smoked bottle butter

RESUMO: O uso de agentes naturais, como a defumação, prolonga a vida útil do alimento, agindo como conservante e antioxidante, proporcionando sabor e aroma a produtos tradicionais e não tradicionalmente defumados. Logo, propõe-se elaborar e caracterizar uma manteiga de garrafa defumada pela exposição direta a pirólise da madeira (defumação convencional) e pela adição de fumaça líquida na manteiga (defumação não convencional). A produção da manteiga de garrafa e os processos de defumação foram obtidos em escala laboratorial. Foram realizados testes de estabilidade acelerada em estufa, sob 60 °C e 110 °C, simulando o armazenamento ambiente e a cocção, respectivamente. A deterioração oxidativa foi monitorada pela quantificação do índice de peróxido (IP) e das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), nas amostras armazenadas a 60 °C e a 110 °C, e pelo índice de acidez e perfil de ácidos graxos *trans* apenas para as amostras armazenadas a 110 °C. Determinou-se a qualidade microbiológica pela contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos viáveis (UFC/g) e o número mais provável (NMP/g) de coliformes a 35 °C e 45 °C. Na análise sensorial, foram aplicados os testes afetivos de aceitação e intenção de compra. Avaliou-se, ainda, a segurança das manteigas defumadas, pela presença de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HPA's), potencialmente carcinogênico. Todas as amostras apresentaram boa aceitação, com índice de aceitabilidade acima de 70% para todos os atributos avaliados e resultados microbiológicos dentro dos valores de referência, estabelecido na lei. Não houve elevação nos percentuais de ácidos graxos *trans*. A defumação não produziu HPA's. O uso da defumação convencional se apresenta mais eficiente no controle oxidativo de manteiga de garrafa.

Palavras chaves: Controle oxidativo, conservação, sabor defumado.

Estabilidade oxidativa e qualidade sensorial de manteiga de garrafa defumada

Oxidative stability and sensory quality of smoked bottle butter

ABSTRACT: The use of natural agents, such as smoking, prolongs the shelf life of the food, acting as a preservative and antioxidant, providing flavor and aroma to traditional and not traditionally smoked products. Therefore, it is proposed to elaborate and characterize a smoked bottle butter by direct exposure to wood pyrolysis (conventional smoking) and by adding liquid smoke to the butter (unconventional smoking). The production of bottle butter and the smoking processes were obtained on a laboratory scale. Accelerated stability tests were carried out in an oven under 60 ° C and 110 ° C, simulating ambient storage and cooking, respectively. Oxidative deterioration was monitored by quantifying the peroxide index (PI) and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), in samples stored at 60 ° C and 110 ° C, and by the acidity index and trans fatty acid profile only for samples stored at 110 ° C. The microbiological quality was determined by the total count of viable mesophilic aerobic microorganisms (CFU / g) and the most likely number (NMP / g) of coliforms at 35 ° C and 45 ° C. In the sensory analysis, affective acceptance and purchase intention tests were applied. The safety of smoked butters was also evaluated by the presence of polycyclic aromatic hydrocarbons (HPA's), potentially carcinogenic. All samples showed good acceptance, with an acceptability index above 70% for all evaluated attributes and microbiological results within the reference values, established by law. There was no increase in the percentage of trans fatty acids. Smoking did not produce HPA's. The use of conventional smoking is more efficient in the oxidative control of bottle butter.

Keywords: Oxidative control, conservation, smoked flavor.

1. INTRODUÇÃO

Na constante busca por melhoria nos atributos sensoriais dos alimentos, a indústria se renova no uso de diferentes tecnologias, entre elas a defumação, que embora tenha sido usada como uma técnica de preservação por séculos, é hoje, utilizada como ferramenta para melhorar a qualidade dos alimentos, uma vez que gera mudanças nas características sensoriais dos produtos, como odor, sabor, coloração e textura, além de atuar como agente conservante pela ação dos compostos ácidos, fenólicos e carbonílicos presentes na fumaça (LINGBECK, 2014).

Entretanto, a técnica de defumação é capaz de formar outras substâncias como os hidrocarbonetos aromáticos de cadeia policíclica (HAP). De natureza altamente carcinogênica ou genotóxico, são formadas nos processos de combustão incompleta de matérias orgânicas como óleo ou madeira, bem como no processamento de alguns alimentos, a exemplo da secagem direta com madeira ou carvão ou em processos de torrefação (CAMARGO, 2006).

Porém, muitos são os esforços para minimizar esse contratempo. Assim, foram desenvolvidos os flavorizantes de fumaça, comumente conhecidos como fumaça líquida, os quais apresentam inúmeras vantagens: Os HPA's são eliminados no processo, a técnica de aplicação é simples, precisa, controlada, uniforme e rápida, além de ser barata, dispensando equipamentos, instalações e pessoal qualificado (LINGBECK, 2014). Sua versatilidade e praticidade, garante a oferta de produtos inovadores e padronizados.

E assim, a técnica de defumação tradicional, pela exposição direta à fumaça vem sendo substituída pelo uso de fumaça líquida, tradicionalmente aplicada em alimentos de origem animal como carnes, pescados e embutidos. No entanto, é possível também proporcionar sabor defumado em outros grupos de alimentos como, queijo, tofu, marinados, molhos e até mesmo em ração animal (ROZUM, 2009).

Nesse contexto, enquadra-se a manteiga de garrafa, alimento artesanal, não tradicionalmente defumado, fonte de lipídios e, conseqüentemente, de fácil deterioração oxidativa. Com isso, o presente estudo apresenta caráter relevante e inovador, objetivando o emprego da defumação na produção de manteiga de garrafa, avaliando sua estabilidade e aceitação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção da manteiga de garrafa

Conforme descreve a IN n° 30 (BRASIL, 2001), a manteiga de garrafa foi obtida, em escala laboratorial, após a fusão do creme de leite com posterior decantação da borra, filtração e envase.

2.2. Caracterização da fumaça líquida

Foi realizada a determinação de compostos fenólicos totais pelo método de Folin-Ciocalteu e potencial antioxidante pelo método DPPH conforme descreve El-Shourbagy e El-Zahar (2014). Determinou-se ainda, valores para ° Brix, densidade, pH e acidez total, de acordo com as normas analíticas do IAL (2008).

2.3. Defumação da manteiga

As amostras de manteiga foram submetidas a dois tratamentos de defumação:

- a) Tratamento 1 – Manteiga com fumaça convencional (FC), segundo processo atual da indústria, adaptada ao produto, descrito a seguir: 75 g de serragem de laranjeira foi acondicionada em forno mufla (de 100 °C a 400 °C) e a fumaça da queima canalizada a um recipiente com 200 g de manteiga de garrafa sob agitação. Nos primeiros indícios de fumaça foi contabilizado 15 minutos de defumação. Foram realizados *blends* de manteiga defumada e não defumada até definir o sabor ideal, definidos por testes sensoriais preliminares.
- b) Tratamento 2 – Manteiga com fumaça líquida (FL), que recebeu a adição de 2%, estabelecida sensorialmente.

2.4. Análises físico-químicas

As amostras de manteiga foram avaliadas quanto à caracterização físico-química, determinando-se os teores de umidade, lipídios, sólidos não gordurosos, acidez total, índice de peróxido, índice de iodo, índice de saponificação, índice de refração (IAL, 2008), índice de TBARS (SANTOS, 2009), perfil de ácidos graxos (TEPIĆ et al., 2009) e presença de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (CAMARGO, 2006).

2.5. Qualidade microbiológica

As análises microbiológicas da manteiga de garrafa seguiram os protocolos estabelecidos pela IN n° 62 do MAPA (Brasil, 2003) para contagem total de aeróbios mesófilos viáveis (UFC/g) e número mais provável (NMP/g) de coliformes a 35 °C e 45 °C.

2.6. Estabilidade oxidativa acelerada

Porções de manteiga de garrafa defumada (30 g) foram acondicionadas em becker de 50 ml e armazenadas sob as temperaturas de 60 °C e 110 °C, pelo teste de estufa (SANTOS, 2009) por 40 dias e 72 horas, respectivamente. Foram realizadas análises regulares de 10 em 10 dias para o armazenamento a 60 °C, enquanto o armazenamento a 110 °C a cada 24 horas. A temperatura de 60 °C corresponde às condições do armazenamento ambiente e a temperatura de 110 °C aos processos de cocção. A evolução oxidativa foi monitorada através das análises de compostos primários (índice de peróxido) e secundários (TBARS), determinadas em triplicata, nas amostras armazenadas a 60 °C e a 110 °C, e o teor de acidez total e percentual de ácidos graxos, somente para as amostras armazenadas a 110 °C. Junto as amostras defumadas foram armazenadas o controle positivo que consistiu de manteiga com adição de antioxidante sintético (BHT) na concentração de 200 ppm, conforme estabelece a legislação brasileira (BRASIL, 1996), e o controle negativo que consistiu na manteiga sem adição de antioxidantes.

2.7. Avaliação sensorial

A avaliação sensorial foi realizada após análises microbiológicas e prévia aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos, com número CAAE: 83974118.9.0000.5294, afim de atender as exigências éticas e científicas dispostas na Resolução 196, de 10 de outubro de 1996 do Conselho Nacional de Saúde (CNS, 1996). Os avaliadores estavam cientes dos objetivos da pesquisa, segundo o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado pelo participante em duas vias. Empregou-se o teste afetivo de aceitação para os atributos cor, sabor, odor, textura e impressão global com escala hedônica de 9 pontos e o teste de Intenção de compra com escala de 5 pontos (IAL, 2008). Os testes foram realizados com 70 avaliadores não treinados em cabines individuais no Laboratório de Processamento e Análise sensorial de alimentos do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte, *Campus Apodi*. Para realização do teste, as amostras (5 ml de manteiga + torrada) foram servidas em copos plásticos descartáveis codificados aleatoriamente com números de três dígitos e apresentadas aos avaliadores juntamente com

água e formulário de avaliação. Cada avaliador analisou a amostra e marcou a sua opinião, na escala hedônica descrita no formulário avaliativo.

Foi determinado o índice de aceitabilidade de acordo com a expressão: $IA (\%) = A \times 100/B$, onde: A = nota média obtida para o produto e B = nota máxima da escala (ESCOPELLI et al., 2016).

2.8. Análise estatística

O desenho experimental foi o de parcelas subdivididas com delineamento inteiramente casualizado. Na parcela estão os tratamentos (Controle, BHT, FL, FC) e na sub parcela os tempos de avaliação (0, 24, 48, 72 horas e 0, 10, 20, 30, 40 dias), com três repetições. Os resultados foram avaliados por análise de variância (ANOVA) pelo teste F com 5% de significância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de confiança. Para o estudo das correlações entre os atributos avaliados do teste de aceitação e intenção de compra foi calculado o coeficiente de correlação de Pearson.

Primeiramente foi avaliada a normalidade dos resíduos e homogeneidade de variâncias pelos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente, a 5% de probabilidade. Satisfeitas a normalidade e homogeneidade, procedeu-se o tratamento dos dados através do Software R 3.6.2.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Composição da manteiga de garrafa

De produção artesanal, vinculada às tradições familiares, a manteiga de garrafa apresenta características não padronizadas, que variam com a região, estação do ano e processo tecnológico. Contudo, a legislação específica vigente estabelece parâmetros de identidade e qualidade desse produto, necessários ao controle e aplicação de um processo unificado.

Na Tabela 1 pode-se observar os resultados dos parâmetros de caracterização físico química da manteiga de garrafa, conforme preconiza o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) de Manteiga da Terra (BRASIL, 2001).

Diante dos resultados, observa-se que apenas o valor de sólidos não gordurosos não atendeu à legislação vigente. É possível que na etapa de separação da borra (filtração em tecido de algodão) ocorra uma passagem indesejável de sólidos ao produto final, justificando esse valor.

TABELA 1. Caracterização físico-química de manteiga de garrafa *in natura* produzida em escala laboratorial

Parâmetros	Resultados	Limites*
Umidade (%)	0,3	< 0,3%
Matéria gorda (%)	98,6	>98,5%
Sólidos não gordurosos (%)	1,1	< 1%
Acidez em soluto alcalino normal (%)	1,5	< 2%
Caracterização complementar		**
Índice de peróxido (mEq/kg)	0	< 1%
Índice de saponificação	239	218 – 325
Índice de iodo (I ₂ /100g)	24	28 – 38
Índice de refração (40°C)	1,4576	1.4520 – 1.4566

* Instrução Normativa n° 30 de 26 de junho de 2001 (BRASIL, 2001).

** Portaria n° 146 de 7 de março de 1996 (BRASIL, 1996).

Estudos de caracterização também foram realizados por Nassu et al. (2003) e Nassu et al. (2001) avaliando manteigas de garrafa comercializadas nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará, respectivamente, apresentando resultados que não atendem a legislação vigente e, portanto, confirmam a falta de padronização desse produto.

No entanto, embora a legislação vigente preconize os parâmetros de qualidade para manteiga de garrafa, deve-se avaliar também outras características dessa gordura. Para isso, utilizou-se a Portaria n° 146 (BRASIL, 1996) que estabelece parâmetros e limites físico-químicos de produtos similares.

Ao confrontarmos os resultados para Índice de peróxido, iodo, saponificação e refração com os limites estabelecidos pela legislação (Tabela 1), observa-se que apenas o parâmetro índice de iodo não atende ao preconizado na lei, apresentando um resultado inferior ao estabelecido. Esse parâmetro correlaciona-se ao teor de insaturações presentes na gordura, e assim, quanto menor o número de insaturações, menor será o índice de iodo, logo, esse valor pode ser explicado pela composição de ácidos graxos da manteiga (Tabela 2), que apresentou um total de 24,85% de ácidos graxos insaturados do total de ácidos graxos, diferindo do valor médio de 39,64% encontrado por CLEMENTE et al. (2009).

Esses valores para índice de iodo sofrem influência de vários fatores como raça, alimentação, idade do animal, número de parições, tempo de lactação, saúde do animal e variações climáticas (AUGUSTA; SANTANA, 1998),

Contudo, houve similaridades no percentual de ácidos graxos majoritários (mirístico, palmítico, oleico, esteárico) encontrados pela maioria dos autores que pesquisaram o assunto (AMBRÓSIO et al., 2003; CLEMENTE et al., 2009; VAZ, 2015).

TABELA 2. Composição de ácidos graxos da manteiga de garrafa *in natura* produzida em escala laboratorial

Ácidos Graxos	Em área %
Capróico (C6:0)	1,90
Caprílico (C8:0)	1,06
Cáprico (C10:0)	2,16
Láurico (C12:0)	2,52
Mirístico (C14:0)	9,96
Miristoleico (14:1)	0,49
Pentadecanóico (C15:0)	0,96
Palmítico (C16:0)	33,11
Palmitoleico (C16:1)	0,98
Linoleico (C18:2)	1,71
Oleico (C18:1)	18,99
Elaidico (C18:1)	2,68
Esteárico (C18:0)	15,77
Não identificados	7,71
Ácidos graxos saturados	67,44
Ácidos graxos insaturados	24,85

Em síntese, o perfil dos ácidos graxos encontrado na manteiga de garrafa produzida neste experimento, apresenta diferenças expressivas dos valores encontradas por Ambrósio et al. (2003), ao analisaram manteigas de garrafa da região de Recife, Pernambuco e do encontrado por Augusta e Santana (1998), analisando manteigas tradicionais da cidade do Rio de Janeiro. Essas diferenças retratam a variabilidade da relação ácidos graxos insaturados *versus* ácidos graxos saturados em gorduras lácteas. E assim, fica claro, que a composição em ácidos graxos da manteiga de garrafa é imprescindível na caracterização lipídica dos produtos lácteos, o que garante uniformização de produtos regionais, visto que a composição da gordura do leite sofre influência da região, estação do ano e alimentação animal.

3.2. Caracterização química de fumaça líquida comercial

Estabelecer a composição química da fumaça líquida é o primeiro passo para compreender sua interação com os compostos químicos presentes na matriz alimentar. (MONTAZERI et al., 2013).

Na Tabela 3 observam-se os resultados para fenóis totais e atividade antioxidante do extrato pirolenhoso comercial, responsáveis por caracterizar seu potencial antioxidativo, além dos valores para °Brix, densidade, acidez total e pH da amostra de fumaça líquida.

TABELA 3. Composição química de fumaça líquida comercial

Parâmetros	Valores
Fenóis totais	25 mg EAG /g
Atividade antioxidante (DPPH)	IC50 0,6mg/ml
Sólidos solúveis (° Brix)	5,3
Densidade	1,009
pH	2,4
Acidez (%)	4

mg EAG - miligramas de equivalente em ácido gálico; pH – potencial hidrogeniônico (DPPH) – 2,2-difenil-1-picrilhidrazila; IC50 - Inhibitory Concentration.

Segundo Varlet et al. (2010), o potencial da fumaça líquida está atrelado a sua composição, especialmente aos compostos fenólicos. Esses metabólitos proporcionam sabor e cor ao alimento, além de apresentar propriedades antioxidante e antibacteriana

Autores que investigaram o assunto (SOLDERA et al., 2008; SOARES, 2016), encontraram valores de IC50 e fenóis totais semelhantes ao do presente estudo, o que ratifica o elevado potencial de uso da fumaça líquida como antioxidante natural.

Ressalta-se, que o valor de IC50 é inversamente proporcional a atividade antioxidante, ou seja, quanto menor seu valor, maior a poder antioxidante do composto testado, sendo calculado pela redução de 50% da concentração inicial do radical livre DPPH, pela ação da amostra teste.

A acidez e o pH também influenciam nas propriedades funcionais da fumaça líquida. De acordo com Rozum (2007), os ácidos presentes no líquido pirolenhoso interferem no sabor, cor, textura e estabilidade dos alimentos. Já Silva (2000) afirma que o pH do alimento nos permite definir a provável natureza e intensidade dos processos de degradação que o alimento poderá vir a sofrer, bem como, que medidas de conservação podem ser aplicadas.

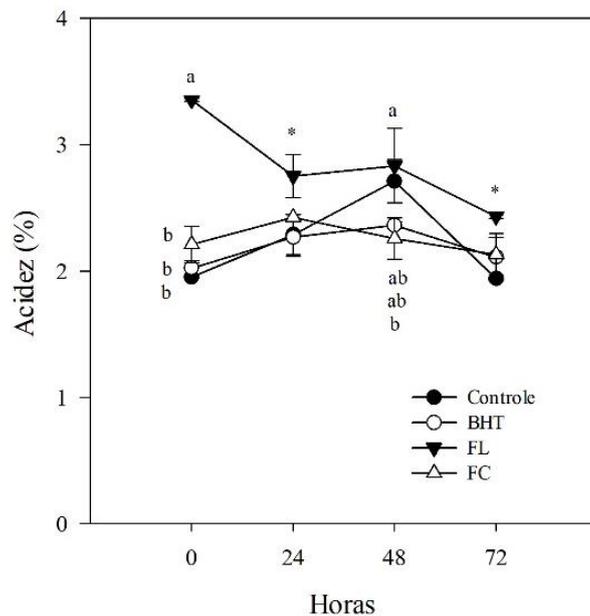
Caracterizar a fumaça líquida quanto ao valor de sólidos solúveis (°Brix) também é relevante do ponto de vista tecnológico. Esse parâmetro é a medida indireta do teor de açúcares totais no alimento, e considera os elementos solúveis em água, como açúcares, ácidos, vitaminas, e certas pectinas (CHAVES et al., 2004). Esse parâmetro é muito utilizado na caracterização e industrialização dos alimentos.

Além disso, com a caracterização química é possível prever as propriedades sensoriais no produto final e assim definir sua função e uso apropriado no alimento (MONTAZERI et al., 2013).

3.3. Estudo de oxidação acelerada

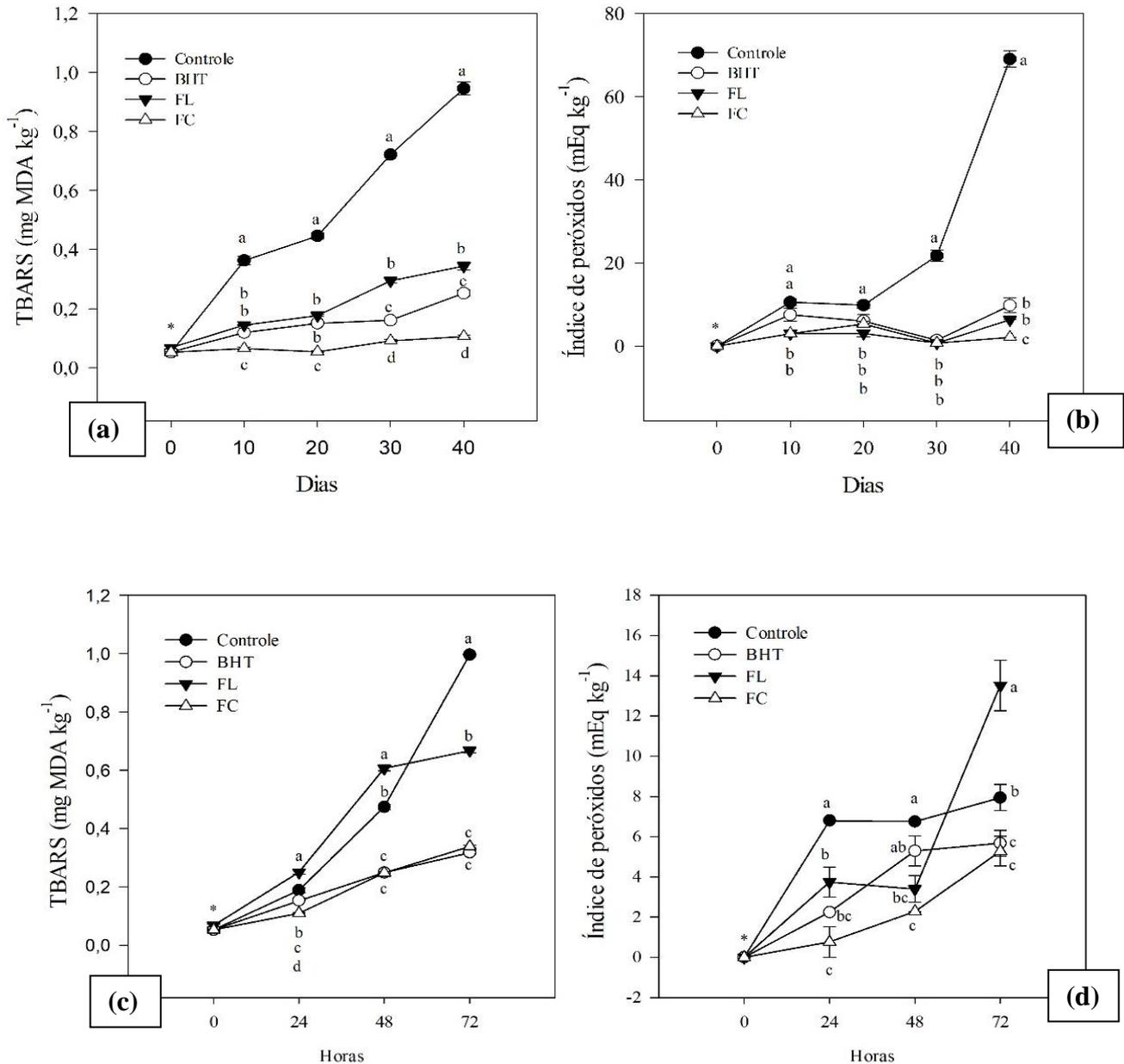
Pode-se observar que os valores para índice de peróxido e TBARS das manteigas submetidas a 60 °C e 110 °C (Figura 2), apresentam evolução oxidativa no decorrer do tempo e em função da temperatura de armazenamento. Contudo, os valores para acidez total (Figura 1) e ácidos grãos *trans* (Tabela 4) das amostras submetidas a 110°C não apresentaram mudanças significativas.

FIGURA 1. Valores percentuais para acidez total em amostras de manteiga de garrafa defumada e submetidas a oxidação acelerada pelo teste de estufa em armazenamento 110 °C



FC = Fumaça convencional; FL = Fumaça líquida.

FIGURA 2. Valores de TBARS e índice de peróxidos das amostras de manteiga de garrafa enriquecida com extrato de pimenta-do-reino e submetidas a oxidação acelerada pelo teste de estufa em armazenamento a 60 °C (a, b) e 110 °C (c, d)



FC = Fumaça convencional; FL = Fumaça líquida; MDA kg⁻¹ = miligramas de malonaldeído por quilograma; mEq kg⁻¹ = miliequivalente por quilograma.

Nas amostras armazenadas a 60 °C foi observada diferença significativa nos níveis de índice de peróxido e malonaldeído das amostras defumadas e com BHT, quando comparadas à amostra-controle, o que sugere que os processos de defumação utilizados neste experimento

foram suficientes para promover a proteção contra a oxidação, no teste de armazenamento acelerado.

No armazenamento a 110 °C as amostras com defumação convencional e com adição de BHT apresentaram efeito significativo na redução de compostos primários (peróxidos) e secundários (malonaldeído) durante as 72 horas experimentais, enquanto que a amostra com adição de fumaça líquida foi eficaz na redução de peróxidos nas primeiras 48 horas, com efeito inverso para o índice de TBARS, apresentando o maior estado oxidativo, entre os tratamentos.

Sabe-se que a pirólise da madeira nas temperaturas de 180 a 500°C produz as substâncias desejadas da fumaça com numerosas substâncias químicas, as quais atuam como antioxidantes naturais, retardando a rancificação oxidativa e hidrolítica da gordura. Em geral, esses componentes químicos se agrupam em compostos ácidos, fenólicos, carboxílicos e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. Contudo, são as carbonilas e os fenóis os principais compostos aromatizantes envolvidos no desenvolvimento do sabor e aroma, típicos dos produtos defumados, possuindo também ação antioxidante que permite atuar na conservação do produto tratado, retardando a deterioração dos lipídios (LINGBECK, 2014). Diante disso, pode-se afirmar que a temperatura utilizada no presente estudo (até 400°C) corrobora com a literatura para a formação de compostos bioativos com potencial atividade antioxidante, o que justifica a elevada preservação no processo oxidativo das manteigas tratadas por defumação convencional, independente da temperatura de armazenamento aqui testada.

Contudo, a fumaça convencional, oriunda da queima da madeira, vem sendo substituída pelo uso da fumaça líquida no processo de defumação dos alimentos. O âmbito de aplicação dessa fumaça líquida é vasto, e permite o uso em alimentos que tradicionalmente não se defumam, como: temperos, sopas, vegetais enlatados, condimentos (GONÇALVES; HERNÁNDEZ, 1998) ou em manteiga, como proposto nesse estudo.

Entretanto, o teor de umidade presente no alimento afeta a estabilidade oxidativa dos lipídios que compõem a matriz alimentar. A rapidez na evolução oxidativa aumenta para atividades de água com valores muito baixos ($<0,1$), ou elevados (0,55- 0,85). No segundo caso, a água favorece as reações de oxidação enzimática e a mobilidade de metais de transição (pró-oxidantes) pela água (YANISHLIEVA-MASLAROVA, 2001; McCLEMENTS; DECKER, 2007).

Diante desse fato, é possível que a adição de fumaça líquida na manteiga tenha favorecido a formação de compostos secundários pela atividade enzimática e/ou pela ação de metais de transição, conforme observado na Figura 2.

Os íons metálicos, em particular aqueles que possuem dois ou mais estados de valência, estão entre os maiores agentes pró-oxidantes presentes nos alimentos. Eles favorecem a evolução oxidativa nos alimentos e tecidos biológicos por sua capacidade em decompor hidroperóxidos em radicais livres (McCLEMENTS; DECKER, 2007). Do ponto de vista prático, as reações catalisadas pelos íons metálicos Cu^{2+} e Fe^{3+} são provavelmente as mais importantes no processo de deterioração lipídica, especialmente em produtos lácteos (YANISHLIEVA-MASLAROVA, 2001).

Os metais cobre e ferro estão naturalmente presentes no leite e derivados, e assim, atuam como elementos pró-oxidantes nas reações de oxidação. Independente de se apresentarem na forma reduzida ou oxidada, esses íons são capazes de degradar os hidroperóxidos em radicais livres ou em outros produtos da deterioração oxidativa, antecipando a formação e degradação dos peróxidos (O'CONNOR; O'BRIEN, 2006).

É importante também considerar os interferentes da metodologia de determinação do índice de TBARS. Outros valores podem ser atribuídos à presença de sacarose, que pelo aquecimento (95°C), mesmo em concentrações pequenas (10 mM), duplicam os valores de absorvância (OSAWA, 2005). Essa informação atrela-se ao resultado de sólidos solúveis da fumaça líquida, que pode ter se tornado um interferente no estudo de estabilidade, mostrando um resultado falso positivo.

Valores de acidez também são utilizados para monitorar a evolução oxidativo em óleos e gorduras. Contudo não foi observado uma evolução na acidez total das amostras avaliadas (Figura 2). Esse comportamento pode ser explicado pela decomposição dos ácidos graxos livres quando submetido a altas temperaturas, dando origem aos compostos voláteis (ANS, 1999). Portanto, é possível que o intervalo de tempo entre uma análise e outra, na determinação da acidez total, foi longo, tornando-se insuficiente para detectar essa taxa de crescimento, sendo observado, apenas, com maior precisão, a formação de compostos primários e secundários.

Também foi avaliado o percentual de ácidos graxos *trans* nas manteigas de garrafa no decorrer do tempo de exposição a 110°C (Tabela 4) e verificou-se que não houve elevação nesses percentuais. Esse mesmo comportamento também foi encontrado por Ambrósio (2003) ao avaliar o percentual de ácidos graxos *trans* em manteigas de garrafa armazenada em temperatura ambiente, o que põe a manteiga de garrafa como opção segura em processos culinários sob temperaturas elevadas.

Esses compostos podem ser formados de forma natural por animais ruminantes, ou no processamento de alimentos por mecanismo induzido termicamente em operações de frituras.

Com destaque nas redes de *fast-food* que muitas vezes realizam seus processos em gordura parcialmente hidrogenada. Durante a prática, a formação de ácidos graxos *trans* está relacionada ao binômio tempo x temperatura dos óleos e gorduras. A ingestão elevada desses compostos eleva os níveis da Lipoproteína de Baixa Densidade-colesterol (LDL-c) semelhante aos ácidos graxos saturados. Além de aumentar os níveis de LDL-c, reduzem os níveis da HDL-c, alterando significativamente a razão entre LDL-c e a HDL-c, empregada como referência no controle de doenças cardiovasculares (HISSANAGA et al., 2012).

TABELA 4. Composição percentual de ácidos graxos em manteiga de garrafa defumada (área %)

ÁCIDOS GRAXOS	TERMOXIDAÇÃO A 110°															
	Tempo zero				24 horas				48 horas				72 horas			
	C	BHT	FC	FL	C	BHT	FC	FL	C	BHT	FC	FL	C	BHT	FC	FL
Capróico (C6:0)	1,90	1,90	1,52	1,49	1,95	1,49	1,48	1,50	1,62	1,55	1,55	1,52	1,62	1,50	1,67	1,53
Caprílico (C8:0)	1,06	1,06	0,95	0,87	1,12	0,96	0,95	0,96	1,01	0,97	0,98	0,96	1,03	0,95	1,04	0,97
Cáprico (C10:0)	2,16	2,16	1,95	1,79	2,26	1,96	1,95	1,97	2,07	1,97	2,0	1,97	2,03	1,93	2,14	1,98
Láurico (C12:0)	2,52	2,52	2,35	2,16	2,55	2,36	2,35	2,37	2,49	2,37	2,39	2,38	2,45	2,32	2,57	2,38
Mirístico C14:0)	9,96	9,96	9,25	8,68	9,98	9,26	9,25	9,31	9,83	9,28	9,34	9,32	9,57	9,16	10,16	9,32
Miristoleico (14:1) n5 cis	0,49	0,49	0,80	0,67	0,49	0,79	0,78	0,81	0,82	0,79	0,77	0,80	0,79	0,79	0,84	0,80
Pentadecanóico (C15:0)	0,96	0,96	1,56	0,99	1,24	1,54	1,52	1,55	1,5	1,58	1,57	1,57	1,65	1,21	1,55	1,57
Palmítico (C16:0)	33,11	33,11	32,23	28,55	32,31	30,74	30,36	30,65	31,68	30,84	30,85	30,41	32,97	30,35	32,87	40,41
Palmitoleico (C16:1)	0,98	0,98	1,06	0,73	0,65	1,04	1,02	1,05	1,08	1,02	1,0	1,06	1,03	1,08	1,06	1,06
Linoleico (C18:2)	1,71	1,71	1,58	3,03	1,73	1,52	2,9	1,54	3,13	1,48	1,42	1,44	—	1,59	1,97	1,44
Oleico (C18:1) n9	18,94	18,94	28,32	22,47	26,69	28,24	28,29	28,52	24,16	26,96	27,79	28,48	27,36	25,49	23,77	27,35
Elaidico (C18:1) n9 <i>trans</i>	2,68	2,68	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Vacênico (18:1) n11 <i>trans</i>	—	—	—	—	0,42	—	—	—	0,22	—	—	—	—	—	—	—
Octadecenóico n8 <i>trans</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,87	—	—	—	—	—	—
Esteárico (C18:0)	15,77	15,77	16,61	14,65	17,45	17,09	16,33	16,39	16,96	17,24	17,24	16,62	17,99	11,92	17,46	16,62

3.4. Presença de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HPA's)

Foi identificado apenas a presença de hidrocarbonetos aromáticos monocíclicos (Mesitileno, Indano, Benzeno) nas amostras de manteiga de garrafa. Esse resultado ressalta a qualidade do método de defumação realizada no estudo, em particular a defumação convencional, que foi capaz de proporcionar melhor estabilidade oxidativa, sem a ocorrência de compostos indesejáveis. Vale frisar que, embora os HPA's sejam substâncias formadas em decorrência da queima incompleta de material orgânico, esses, podem variar em quantidade e composição, conforme as condições de combustão. A combustão da matéria orgânica, por exemplo, favorece a formação desses compostos quando estão entre 500 e 900°C (CAMARGO, 2006), diferindo das características do método aplicado, garantindo a isenção desses compostos no produto

3.5. Qualidade microbiológica

As avaliações microbiológicas apresentaram resultados de $< 0,3$ NMP/g e $< 1,0 \times 10^1$ UFC/g, para as determinações de coliformes a 35 °C e 45 °C e mesófilos aeróbios viáveis, respectivamente. Estes valores atendem aos limites microbiológicos estabelecidos pela legislação vigente (BRASIL, 2001). Embora a manteiga de garrafa seja um produto com elevado teor de gordura e baixa umidade, desfavorável ao desenvolvimento de microrganismos, é importante destacar, que isso, não exclui as boas práticas de fabricação durante as etapas de processamento do produto, garantindo a ausência de contaminação.

3.6. Avaliação sensorial

A análise sensorial das amostras de manteiga foi realizada após a obtenção dos resultados microbiológicos, constatando a inocuidade das mesmas. Os valores para o índice de aceitabilidade obtidos para os atributos de qualidade sensorial das amostras de manteiga estão apresentados nas Tabela 5.

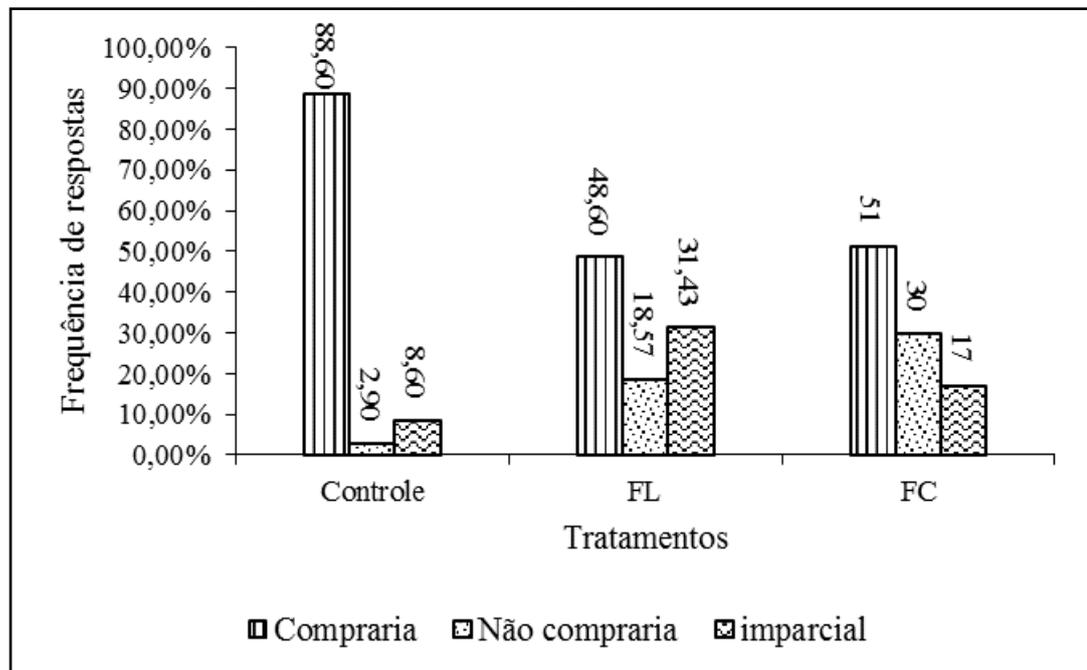
As amostras obtiveram boa aceitação, com índice de aceitabilidade (IA) superior a 70% para todos os atributos analisados. Sendo 70% o valor mínimo aceitável para IA (DUTCOSKY, 2013), pode-se afirmar que os valores obtidos foram satisfatórios.

TABELA 5. Índice de aceitabilidade (IA) de manteigas de garrafa defumada

Tratamentos	Atributos (%)				
	Sabor	Odor	Cor	Textura	Imp. Global
Controle	91	88	88	85	90
FC	74	74	83	83	78
FL	76	74	80	75	77

IA (%) = $A \times 100/B$, onde: A = nota média obtida para o produto; B = nota máxima da escala; FC = Fumaça convencional; FL = Fumaça líquida.

Com relação à intenção de compra, a Figura 3 apresenta a frequência de respostas dos consumidores em função dos tratamentos. Considerando como compraria a soma das notas 4 e 5 na escala, o tratamento-controle apresentou o maior percentual de intenção de compra (88%), seguido de FC (fumaça convencional) com 51% e FL (fumaça líquida) com 48%.

FIGURA 3. Intenção de compra de manteiga de garrafa defumada

FC = Fumaça convencional; FL = Fumaça líquida; compraria = somatória das notas 4 e 5 no teste de intenção com escala de 5 pontos; não compraria = somatória das notas 1 e 2 no teste de intenção com escala de 5 pontos.

Observa-se, também, que os avaliadores se mostraram confusos quanto a compra de manteigas defumadas, visto que muitos escolheram a nota 3 (Talvez comprasse, talvez não comprasse) na escala de intenção de compra. Os tratamentos FL e FC apresentaram 31% e 17%, respectivamente, para respostas imparciais de compra. No entanto, é importante

destacar, que todos os tratamentos apresentaram percentuais de rejeição inferiores a 50%, corroborando com os valores de aceitabilidade.

Esses valores para intenção de compra, podem ser considerados aceitáveis, visto que, se trata de uma manteiga que difere do tratamento-controle, por apresentar sabor e odor diferentes do tradicional, causando estranheza aos consumidores, que estão acostumados a um padrão e, muitas vezes, não favoráveis a mudanças drásticas.

Isso confirma que, tanto a compra quanto a rejeição a um alimento relacionam-se com o potencial de aceitação do mesmo, podendo ser utilizada como ferramenta no estudo de mercado com consumidores potenciais, principalmente no desenvolvimento de novos produtos (ESCOPELLI et al., 2016).

Analisando a correlação entre os parâmetros avaliados na análise sensorial (Tabela 6), destaca-se a correlação entre o odor e o sabor. Segundo Queiroz e Treptow (2006) o binômio sabor-odor, embora sejam avaliados individualmente, não podem ser dissociáveis na identificação e avaliação do atributo sabor (QUEIROZ; TREPTOW, 2006).

TABELA 6. Correlação de Pearson entre os atributos sensoriais e a intenção de compra das amostras de manteiga de garrafa defumada

	Sabor	Odor	Cor	Textura	ImpGlobal
Odor	0,628**				
Cor	0,405**	0,419**			
Textura	0,397**	0,321**	0,572**		
Impressão global	0,818**	0,703**	0,545**	0,518**	
Intenção de compra	-0,005ns	0,011ns	-0,060ns	0,064ns	0,038ns

** Significativo a 5% de probabilidade; ns: não significativo.

Observa-se ainda alta correlação da impressão global e o sabor/odor, indicando que foram os atributos mais considerados na avaliação da manteiga de garrafa. Também foi verificada correlação não significativa entre todos os atributos e a intenção de compra.

Essas respostas justificam o alto percentual de consumidores que se mostraram indiferentes quanto a comprar ou não a manteiga defumada, no teste de atitude, visto que, embora o sabor e odor tenham sido os atributos mais considerados na avaliação sensorial, esses, se distanciam das características tradicionais do produto, causando estranheza, que por sua vez, acaba por expressar indecisão.

4. CONCLUSÃO

A defumação pelo método convencional proporcionou melhor estabilidade oxidativa a manteiga de garrafa, com efeito similar ao antioxidante sintético BHT.

O uso de fumaça líquida na defumação de manteiga foi eficiente no controle oxidativo apenas no armazenamento a 60 °C.

A manteiga de garrafa defumada pode ser vista como um nicho alternativo na produção de manteiga, visto que apresentou boa aceitação e intenção de compra.

Os métodos utilizados para a defumação de manteiga de garrafa garantem segurança quanto a produção de HPA's.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ambrósio, CLB., Guerra, NB e Mancini Filho, J (2001). Características de identidade, qualidade e estabilidade da manteiga de garrafa. Parte I. Características de identidade e qualidade. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 21, 314-320. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612001000300011>

Ambrósio, CLB., Guerra, NB e Mancini Filho, J (2003). Características de identidade, qualidade e estabilidade da manteiga de garrafa. Parte II - estabilidade. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 23, 351-354. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612003000300009>

Augusta, IM e Santana, DMN (1998). Avaliação da Qualidade de manteigas tipo Extra comercializadas no estado do Rio de Janeiro. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 18, 379-81. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20611998000400003>.

Ans, VG., Mattos, ES e Jorge, N (1999). Avaliação da Qualidade dos óleos de fritura usados em restaurantes, lanchonetes e similares. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 19, 413-419. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20611999000300021>.

Brasil (2001). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 30 de 26 de junho de 2001** - Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade da Manteiga de Garrafa; Queijo de Coalho e Queijo de Manteiga.

Brasil (2003). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003** - Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água.

Brasil (1996). **Portaria no 146, de 07 de março de 1996**. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. Diário Oficial da União, Brasília, 11 de março de 1996, p. 3977, Seção 1.

Camargo, MCR., Tfouni SAV e Vitorino, SHP (2006). Determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAS) em guaraná em pó (*Paullina cupana*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 26, 230-237. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612006000100036>.

CNS. Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde. Resolução nº.196, de 10 de Outubro de 1996. **Diário Oficial da União**, de 16 de Outubro, 1996.

Chaves, MCV., Gouveia, JPG, Almeida, FAC, Leite, JCA e Silva, FLH (2004). Caracterização físico-química do suco da acerola. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, 4.

Clemente, MG., Abreu, LR, Pinto, SM e Rezende, CPA (2009). Perfil Dos ácidos Graxos de “Manteigas de Garrafa” Produzidas Na Região de Salinas - Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, 33, 1615–1620. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542009000600022>.

Dana, D e Saguy IS (2001). Frying of nutritious food: obstacles and feasibility. **Food Science and Technology Research**, 7, 265-279. DOI: 10.3136/fstr.7.265.

Dutcosky, SD (2013). **Análise sensorial de alimentos**. (4ª ed). Curitiba: Champagnat.

El-Shourbagy, GA e El-Zahar, KM (2014). Oxidative stability of ghee as affected by natural antioxidants extracted from food processing wastes. **Annals of Agricultural Sciences**, 59, 213–220. <https://doi.org/10.1016/j.aogas.2014.11.008>.

Escopelli, KS., Célia, AP., Pinto, AT e Schmidt, V (2016). Aceitabilidade e intenção de compra de queijo tipo pecorino produzido com leite ovino. **Higiene Alimentar**, 30, 119-122.

Gonçalves, AA e Hernández, CP (1998). Defumação líquida de Anchova (*Pomatomus saltatrix*): Efeito do processamento nas propriedades químicas e microbiológicas. **Artigo científico, Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, 438-433. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20611998000400016>.

Hissanaga, VM., Proença, RPC e Block, JM. (2012). Ácidos graxos *trans* em produtos alimentícios brasileiros: uma revisão sobre aspectos relacionados à saúde e à rotulagem nutricional. **Revista de Nutrição**, 25, 517-530. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-52732012000400009>.

Instituto Adolfo Lutz, IAL (2008). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4. ed. São Paulo: **Instituto Adolfo Lutz**.

Lingbeck, JM., Cordero, P, O’ Bryan, CA, Johnson, MG, Ricke, SC e Crandall, PG (2014). Functionality of liquid smoke as an all-natural antimicrobial in food preservation. **Meat Science**, 97, 197–206. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.02.003>

Montazeri, N., Oliveira, ACM, Himelbloom, BH, Leigh, MB e Crapo, CA. Chemical characterization of commercial liquid smoke products (2013). **Food Science & Nutrition**, 1, 102–115. <https://doi.org/10.1002/fsn3.9>.

McClement’s, DJ e Decker, EA. Lipids. In: Damodaran, S., Parkin, KL e Fennema, OR. **Food chemistry**. 4. ed. USA: CRC Press, 2007. 155-216.

Nassu, RT., Araújo, RS, Borges, MF, Lima, JR, Macêdo, BA, Lima, MHP e Bastos, MSR (2001). Diagnóstico das condições de processamento de produtos regionais do leite no Estado do Ceará. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical.

Nassu, TR., Araújo, RS, Guedes CGM e Rocha, GA (2003). Diagnóstico das condições de processamento e caracterização físico-química de queijos manteiga no Rio Grande do Norte. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2003.

Osawa, CC., Felício, PE e Gonçalves, LAG (2005). Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. *Química Nova*, 28, 655-663. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422005000400019>.

O'Connor, TP e O'Brien, NM. Lipid oxidation. In: Fox, PF e McSweeney, PLH. **Advanced dairy chemistry – lipids**. 3. ed. USA: Springer, 2006. p. 557-600.

Queiroz, MI e Treptow, RO (2006). *Análise sensorial para a avaliação da qualidade dos alimentos*. (1ª ed). Rio Grande: Editora da FURG.

Rozum, JJ (2007). Introduction to smoke condensates. Pp. 63– 64 in D. E. Kramer and L. Brown, eds. **International smoked seafood conference proceedings**. Alaska Sea Grant College Program, Anchorage, AK.

Rozum, JJ (2009). *Ingredients in meat products, properties, functionality and applications*. New York, New York: Springer Science LLC.

Santos, RD (2009). **Compostos fenólicos de ervas *Lamiaceae* na estabilidade oxidativa da manteiga e avaliação da toxicidade de extrato de alecrim (*rosemarinus officinalis* L.)**. Tese de doutorado – Londrina, PR.

Soares, PM., Silva PF, Puton, BMS, Brustolin, AP, Cansio, RL, Dallago, RM e Valdug, E (2016). Antimicrobial and antioxidant activity of liquid smoke and its potential application to bacon. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 38, 189–197. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.10.007>.

Soldera, S., Sebastianutto, N e Bortolomeazzi, R (2008). Composição de compostos fenólicos e atividade antioxidante de aromatizantes comerciais de fumo aquoso. *Revista de Química Agrícola e Alimentar*, 56, 2727–2734. <http://dx.doi.org/10.1590/0100-29452016411>.

Silva, JÁ (2000). *Tópicos da tecnologia de alimentos*. São Paulo: Varela.

Tepić, A., Zeković, Z, Kravić, S e Mandić, A (2009). Pigment content and fatty acid composition of paprika oleoresins obtained by conventional and supercritical carbon dioxide extraction. *CyTA – Journal of Food*, 7, 95–102. <https://doi.org/10.1080/19476330902940382>.

Varlet, V., Serot, T e Prost, C (2010). **Smoke flavoring technology in seafood**. Pp. 233–254 in L. M. L. Nollet and F. Toldra, eds. Handbook of seafood and seafood products analysis. CRC Press, Boca Raton, FL.

Vaz, LP (2015). **Caracterização físico-química e sensorial de manteiga da terra durante armazenamento controlado**. Dissertação (Mestrado) - UFPB/CT. João Pessoa.

Kirschnik, PG e Macedo-Viegas, EM (2009). Efeito da lavagem e da adição de aditivos sobre a estabilidade de carne mecanicamente separada de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

durante estocagem a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 29, 200-206.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612009000100031>.

Yanishlieva-Maslarov, ANV (2001). Inhibiting oxidation. In: Pokorny, J; Yanishlieva, N.; Gordon, M. **Antioxidants in food: practical application**. USA: CRC Press. p. 22-69.