



Atividade antioxidativa do Extrato Aquoso de Alho (*Allium sativum*) com emprego em hambúrgueres de carne bovina durante o armazenamento sob resfriamento e congelamento

Taísa Cury Santos¹, Júlia Machado Bomfim de Faria¹, Aline Toledo Regadas de Almeida¹, Carlos Frederico Marques Guimarães², Eliane Teixeira Mársico², Alfredo Tavares Fernandez²

1. Discente FAVET-UFF
2. Docente Departamento MTA, FAVET-UFF

1.RESUMO

O Brasil, atualmente, se encontra entre os maiores exportadores de carne bovina no mundo, além de estar entre os maiores produtores e consumidores mundiais. O hambúrguer é um dos produtos cárneos mais consumidos no Brasil e no mundo e isso se dá devido a uma série de fatores como praticidade, preço e palatabilidade. No entanto, pela cominuição fica sujeito a alterações químicas e de microrganismos que podem comprometer a qualidade. O alho é um condimento de uso bastante comum possuindo ações antimicrobianas e antioxidativas, além de ser benéfico para a saúde. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito antioxidativo do Extrato Aquoso de Alho (EAA) em diferentes concentrações (0, 100, 500, 750 e 1000 µL/mL) em hambúrgueres bovinos conforme o armazenamento sob resfriamento (7°C) por sete dias e congelamento (-8°C) por 120 dias. A ação antioxidativa foi medida através da avaliação da coloração, do pH e do índice de TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico). Os resultados indicaram que a utilização do EAA como antioxidante foi constatada principalmente em amostras congeladas sendo proporcional a concentração do EAA podendo ser utilizado como alternativa no processamento desse alimento.

2.INTRODUÇÃO

Na indústria de alimentos, especialmente a de carnes, o prazo de validade do produto depende diretamente da capacidade de proliferação dos microrganismos e possui grande importância tanto para a indústria quanto para o consumidor (Fik; Fik, 2007). Muitas empresas têm dificuldade em comercializar a carne moída devido à sua vida útil relativamente baixa. Por conta disso, mesmo sob refrigeração, este produto se deteriora facilmente e, como preservar sua qualidade é importante para os consumidores, o produto é frequentemente armazenado sob congelamento (Gök et al., 2009).

A rápida deterioração da carne moída é consequência do processo de moagem que incorpora bactérias presentes no ar junto com oxigênio e torna o alimento um ambiente propício para a proliferação bacteriana. Sendo assim, o consumo inadequado de carne moída traz prejuízos para os consumidores porque além do produto perder suas características sensoriais, o que o torna menos atrativo, ele representa um perigo para a saúde (Fik; Fik, 2007).

O hambúrguer é um produto cárneo que participa com alta frequência da rotina alimentar de consumidores ao redor do mundo devido, principalmente, à praticidade e a rapidez que o consumidor encontra ao prepará-lo e suas características sensoriais (Ziegler et al., 2020). Os processos comuns como moagem e adição de sal utilizados na produção de hambúrgueres aumentam a formação de espécies reativas de oxigênio e, devido a isso, o resultado é um produto altamente suscetível à oxidação (Ladikos; Lougovois, 1990). Além

disso, tem sido relatado que as oxidações lipídica e proteica são a principal causa para a diminuição da qualidade dos hambúrgueres durante o armazenamento e, consequentemente, resultam na redução da vida útil do produto (Mussinan; Morello, 1998; Özvural et al., 2016; Comi et al., 2015).

A oxidação lipídica é um dos primeiros mecanismos indicativos de deterioração da carne e de produtos cárneos. Este mecanismo altera não somente a cor do alimento, como também o aroma, a textura, o sabor e seu valor nutricional (Contini et al., 2014). O processo de rancificação lipídica pode ser mensurado através do índice de TBARS que avalia o malonaldeído, um dos produtos tóxicos liberados durante a reação (Arnhold; Heck, 2014).

O pH da carne tem papel fundamental na determinação de sua qualidade porque influencia diversas outras características, como a cor, a capacidade de retenção de água, a textura, a suculência e a estabilidade microbiológica (Pardi et al., 2001).

O alho tem demonstrado importante papel nutricional e medicinal ao longo da História e, por muitos anos, ele tem sido consumido como alimento e usado na medicina (Tripathi, 2009). Entre os mais diversos benefícios que o alho proporciona, é possível destacar ações antiviral, antifúngica, antibiótica e antioxidante (Fonseca et al., 2014). A atividade antioxidante inerente à alguns dos componentes químicos do alho foi vastamente documentada em estudos *in vivo* (Augusti; Sheela, 1996) e *in vitro* (Rabinkov et al., 1998). De acordo com essas premissas, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito antioxidativo (TBARS, pH e coloração) de diferentes concentrações do EAA em amostras de hambúrgueres de carne bovina de acordo com a temperatura e o tempo de armazenamento sob refrigeração (7 dias) e congelamento (120 dias).

3.METODOLOGIA

O volume de Extrato Aquoso de Alho - EAA foi removido a partir de 1,2 kg de alho, submetido a descascamento e prensagem em grau e pistilo sendo obtidos 57 mL de EAA. A seguir foram obtidos os tratamentos (0%, 10%, 50%, 75% e 100%) a partir das diluições com água destilada.

A carne utilizada para formulação dos hambúrgueres foi o patinho bovino (*Quadriceps femoris*) adquirida em supermercado na data da desossa conforme embalagem. Na formulação do produto, foi usada carne moída (88%), EAA (1%) de acordo com a concentração, sal (1%) e água (10%) para que não houvesse interferência de outros aditivos e ingredientes (Kiliç et al., 2018).

Cada amostra de hambúrguer possuía em torno de 80 gramas de peso, foi embalada em polietileno e identificada de acordo com a concentração de EAA e tempo, conforme estocagem sob refrigeração à 7° C (1, 7 dias) ou congelamento à -8°C (30, 60, 90 e 120 dias).

As análises foram iniciadas a partir do 1º dia após a elaboração e nos prazos especificados, de acordo com os parâmetros: índice de TBARS, pH e cor dos hambúrgueres.

A oxidação lipídica foi inferida através da análise do índice de TBARS de acordo com Yin et al. (1993) modificada por Joseph et al. (2012). Através do método a frio, por se tratar de um método mais rápido e menos dispendioso, as amostras de 5g foram adicionadas de 22,5 mL de ácido tricloroacético (TCA) à 11% e trituradas por um minuto. Seguiu-se a centrifugação por 14 minutos a 4°C em uma velocidade de 15.000 rpm. Em ato contínuo, 1 mL da solução foi homogeneizado e misturado à 1mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) e novamente homogeneizado em agitador Vortex e mantido no escuro por 20 horas. A leitura foi realizada em espectrofotômetro com leitura a 532 nm e os resultados foram expressos em número de TBARS.

As análises de pH nas amostras foram conduzidas em pHmetro Minolta com eletrodo combinado para leitura em triplicata de cada tratamento.

A análise da coloração foi mensurada através do colorímetro Minolta modelo CR 400 operando no sistema CIELAB em que L* equivale à luminosidade e a* e b* correspondem às coordenadas de cromaticidade em que o a* variando de -80 a 0 equivale a cor verde e de 0 a 100 equivale a cor vermelha e o b* variando de -100 a 0 equivale a cor azul e de 0 a 70 equivale a cor amarela. As medidas foram realizadas em três pontos geométricos de cada amostra tomando-se a média aritmética como resultado.

4.RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a tabela 1 constata-se que, com relação ao índice de TBARS, houve influência significativa da concentração de EAA presente na amostra. Os resultados obtidos no presente estudo foram semelhantes aos observados por Park e Chin (2014) que descreveram que quanto menor a concentração de EAA, maior o índice de TBARS em estudo com alho fresco em hambúrgueres de carne suína armazenados sob refrigeração. O índice de TBARS mensura a atividade enzimática referente ao ranço oxidativo onde quanto mais elevado o valor for, maior o ranço oxidativo. Foi possível observar no presente estudo que a temperatura e o período de armazenamento influenciaram diretamente no índice TBARS, juntamente com a concentração de EAA. O mesmo foi descrito por Zhang et al. (2016) em estudo similar avaliando os efeitos do extrato de alho na cor, oxidação lipídica e produtos de degradação oxidativa em carne moída crua durante o armazenamento sob refrigeração.

Pode-se verificar que, durante o armazenamento sob refrigeração, os valores obtidos são mais elevados já que a atividade enzimática não sofreu influência da temperatura, ao contrário do congelamento. O mesmo foi descrito por Aksu e Özer (2012), cujo estudo avaliou os efeitos de água liofilizada de segurelha - *Satureja hortensis* - na qualidade da carne moída. Além disso, observou-se que quanto maior a concentração de EAA, maior sua influência no quesito conservação, o que também foi descrito por Zhang et al. (2016). Contribuindo para os baixos valores encontrados, adicionamos o fato de a carne utilizada no presente estudo (*Quadriceps femoris*) ser originariamente de baixo teor de gordura. Ademais, o uso da mesma concentração de sal em todas as amostras contribuiu para uma melhor comparação já que diferentes concentrações de sal, como descrito por Lee et al. (1997) em estudo avaliando a influência do cloreto de sódio na atividade de enzimas antioxidantes e oxidação lipídica em carne suína moída congelada, influenciaram no índice de TBARS.

Tabela 1. Resultados (em média aritmética) do índice de TBARS (A_{532}) em relação ao efeito do Extrato Aquoso de Alho (EAA) em amostras de hambúrguer em diferentes tempos e temperaturas de conservação.

Concentração de EAA (Em $\mu\text{L/mL}$)	Armazenamento (em dias)					
	Sob refrigeração (7°C)			Sob congelamento (-8°C)		
	1	7	30	60	90	120
0	0.039	0.278	0.052	0.080	0.117	0.121
100	0.031	0.268	0.045	0.075	0.112	0.118
500	0.027	0.224	0.042	0.062	0.070	0.092
750	0.021	0.215	0.033	0.045	0.062	0.065
1000	0.014	0.173	0.023	0.026	0.031	0.038

Na análise do pH, de acordo com a tabela 2, observou-se uma pequena variação ao longo do tempo de armazenamento sob as temperaturas de refrigeração (7°C) e congelamento (-8°C), com ligeira influência da concentração de EAA. O mesmo foi observado por Zhang et al. (2016) e por Fik e Fik (2007) em estudo similar utilizando lactato de potássio e diacetato de sódio em carne moída armazenada sob refrigeração e Gök et al. (2009) em estudo utilizando ácido ascórbico, nitrito e sal e seus efeitos na extensão da validade de carne moída refrigerada embalada à vácuo.

O Instituto Adolfo Lutz (1985) classifica uma carne em início de decomposição, aquela cujo pH está acima de 6,4. Segundo a legislação brasileira, o pH ideal da carne para consumo é entre 5,8 e 6,2. As amostras do presente estudo apresentaram pH entre 5,30 e 5,72, encontrando-se dentro dos limites permitidos pela legislação vigente para carne *in natura* (Brasil, 1981). Portanto, pode-se afirmar que todas as amostras de hambúrguer utilizadas no presente estudo permaneceram viáveis nesse parâmetro durante todo o experimento. À isso ressalta-se não somente o uso do EAA, como também a utilização de apenas sal como tempero em todas as amostras de hambúrguer. O mesmo foi descrito por Gök et al. (2009).

Tabela 2. Resultados do pH (média aritmética) em relação ao efeito do Extrato Aquoso de Alho (EAA) em amostras de hambúrguer em diferentes tempos e temperaturas de conservação

Concentração de EAA (Em µL/mL)	Armazenamento (em dias)					
	Sob refrigeração (7 ^o C)			Sob congelamento (-8 ^o C)		
	1	7	30	60	90	120
0	5.32	5.48	5.55	5.59	5.53	5.72
100	5.32	5.32	5.34	5.36	5.36	5.43
500	5.30	5.31	5.33	5.35	5.31	5.34
750	5.30	5.31	5.33	5.35	5.36	5.39
1000	5.30	5.32	5.36	5.37	5.37	5.40

Conforme a tabela 3, com relação a análise da coloração, pode-se verificar que as concentrações de EAA não influenciaram L*, a* e b* durante o resfriamento ao passo que, no congelamento, essa influência pareceu ser positiva de acordo com a concentração e tempo mantendo os valores próximos às amostras de 1 dia sob refrigeração com exceção do valor a*. Mesmo assim, os valores obtidos nas amostras congeladas foram melhores que aqueles obtidos pelas amostras com ausência de EAA.

A concentração de EAA teve ligeira influência na proteção do brilho, mesmo quando em baixas concentrações. Os valores de a* diminuíram consideravelmente entre o armazenamento sob refrigeração e sob congelamento e os valores de b* oscilaram, principalmente entre a amostra controle e as amostras tratadas com EAA e entre as amostras tratadas com 100 e 500 µL/mL. Resultados similares foram descritos por Zhang et al. (2016) em carne bovina moída crua e Park e Chin (2014) com petiscos suínos ambos mantidos sob refrigeração. À isso pode-se atribuir a influência da diminuição do teor de oxigênio pela atividade oxidativa, o que ocasiona a transformação de oximioglobina, responsável pela coloração avermelhada atrativa da carne, em metamioglobina, responsável pela coloração marrom indesejável pelos consumidores.

O sal é adicionado nas formulações porque contribui com o sabor dos alimentos e com sua conservação. Por outro lado, o sal também atua como catalisador da reação de oxidação lipídica em carnes refrigeradas ou congeladas, influenciando diretamente na vida útil do produto (Tan; Shelef, 2002). Além disso, ele reduz o teor de oxigênio e, como consequência, o brilho das amostras diminui, o que justifica os baixos valores de L* encontrados. De certa forma, como observado no presente estudo, as oscilações de L* relatadas por Park e Chin (2014) foram descritas como não significativas.

Em um estudo realizado na China, o extrato de alho apresentou efeitos significativos na manutenção da cor e na inibição da degradação proteica e da oxidação lipídica da carne

moída quando armazenada sob refrigeração (Zhang et al., 2016). No Brasil, o uso do extrato de alho nas concentrações de 5%, 10% e 15% nos tanques de resfriamento de carcaças de frango proporcionou a redução bacteriana, mas houve despigmentação da pele quando comparadas às carcaças do grupo controle (Moura, 2002), o que pode ser prejudicial para a indústria porque cores incomuns caracterizam um produto menos atrativo para os consumidores finais.

Os resultados obtidos permitiram afirmar que quanto maiores as concentrações de EAA, melhores os efeitos antioxidantes. Um efeito negativo sensorial do alho foi refutado em pesquisa de Santos et al. (2019) que detectaram em análise sensorial que houve boa aceitabilidade e intenção de compra positiva para as amostras, com destaque para aquelas com maior concentração de EAA (1000 μ L/mL) em hambúrgueres de carne bovina.

Tabela 3. Resultados (em média aritmética) da avaliação da cor (L*, a*, b*) em relação ao efeito do Extrato Aquoso de Alho (EAA) em amostras de hambúrguer em diferentes tempos e temperaturas de conservação

Concentração de EAA (Em µL/mL)	Armazenamento (em dias)																	
	Sob refrigeração (7°C)									Sob congelamento (-8°C)								
	1			7			30			60			90			120		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
0	38,89	21,59	14,65	37.03	19.72	13.07	34.63	13.51	10.55	33.67	9.51	10.73	33.09	8.40	9.44	33.36	8.10	8.43
100	42.18	25.16	16.59	40.06	22.66	16.16	38.58	14.55	11.87	34.91	15.57	11.45	35.57	14.56	11.57	37.19	11.27	12.06
500	40.67	22.10	15.23	40.10	19.99	13.04	36.81	13.75	10.61	36.77	13.40	10.06	39.28	15.03	11.30	36.37	8.40	9.50
750	41.62	15.79	11.91	40.08	14.74	13.54	37.60	12.82	11.15	36.50	12.71	11.73	37.57	13.43	12.48	38.08	9.69	9.36
1000	37.75	15.68	11.31	35.81	13.69	10.76	38.80	15.27	12.63	37.85	10.49	13.01	37.92	12.96	13.50	36.60	10.45	11.03

5.CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos foi possível concluir que as atividades antioxidantes foram efetivas e proporcionais de acordo com a concentração de EAA, sendo mais eficiente no armazenamento em congelamento em relação ao resfriamento quando avaliado o número de TBARS e a coloração. No que se refere ao pH, constatou-se a eficiência da atividade antioxidante do EAA em todas as concentrações utilizadas, tanto na conservação sob resfriamento quanto sob congelamento. O EAA constituiu-se uma alternativa para melhorar a conservação desse produto cárneo.

7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AUGUSTI, K. T.; SHEELA, C. G.; Antiperoxide effect of S-allyl cysteine sulfoxide, an insulin secretagogue, in diabetic rats. **Experientia**. v. 52, n. 2, 1996, Pages 115-120.

ARNHOLD, A. L.; HECK, T. G.; Método de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), e sua importância para a avaliação da peroxidação lipídica em diversas aplicações. **XXII Seminário de Iniciação Científica**. Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - UNIJUÍ. 2014.

BRASIL, RIISPOA. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária dos produtos de Origem Animal. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. 1981.

COMI, G.; TIRLONI, E.; ANDYANTO D.; MANZANO, M.; IACUMIN, L.; Use of bio-protective cultures to improve the shelf-life and the sensorial characteristics of commercial hamburgers. **LWT - Food Science and Technology**. v. 62, n. 2, 2015, Pages 1198–1202.

CONTINI, C.; ÁLVAREZ, R.; O’SULLIVAN, M.; DOWLING, D. P.; GARGAN, S. O.; MONAHAN, F. J.; Effect of an active packaging with citrus extract on lipid oxidation and sensory quality of cooked turkey meat. **Meat Science**. v. 96, n. 3, 2014, Pages 1172-1176.

FIK, M.; FIK A. L; Microbiological and sensory changes in minced beef treated with potassium lactate and sodium diacetate during refrigerated storage. **International Journal of Food Properties**. v. 10, 2007, Pages 589-598.

FONSECA, G. M.; PASSOS, T. C.; NINAHUAMAN, M. F. M. L.; CAROCI, A. S.; COSTA, L. S; Avaliação da atividade antimicrobiana do alho (*Allium sativum* Liliaceae) e de seu extrato aquoso. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. v. 16, n. 3, supl. I, 2014, Pages 679-684.

GÖK, V.; KAYAARDI, S.; OBUZ, E.; Extending the chilled shelf life of vacuum-packaged ground beef using ascorbic acid, nitrite or salt. **Journal of Muscle Foods**. v. 20, n. 2, 2009, Pages 211-226.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3^a ed., v.1, 1985, Pages 286-533.

JOSEPH, P.; SUMAN, S.P.; RENTFROW, G.; LI, S.; BEACH, C.M. Proteomics of muscle-specific beef color stability. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 60, n. 12, 2012, Pages 3196-3203..

KILIÇ, B.; ŞİMŞEK, A.; CLAUS, J. R.; KARACA, E.; BILECEN, D.; Improving lipid oxidation inhibition in cooked beef hamburger patties during refrigerated storage with encapsulated polyphosphate incorporation. **LWT - Food Science and Technology**. v. 92, 2018, Pages 290–296.

LEE, S. K.; MEI, L.; DECKER, E. A.; Influence of sodium chloride on antioxidant enzyme activity and lipid oxidation in frozen ground pork. **Meat Science**. v. 46, n. 4, 1997, Pages 349-355.

LADIKOS, D.; LOUGOVOIS, V.; Lipid oxidation in muscle foods: A review. **Food Chemistry**. v. 35, n. 4, 1990, Pages 295-314.

MOURA, K. A; Efeito do extrato aquoso de alho sobre a qualidade de frangos resfriados. **Locus repositório institucional da UFV**. Dissertação de mestrado. Programa de pós graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Viçosa. 2002.

MUSSINAN, C. J.; MORELLO, M. J.; Flavor analysis: developments in isolation and characterization. **American Chemical Society**. 1st ed., 1998, Pages 343-358.

ÖZVURAL, E. B.; HUANG, Q.; CHIKINDAS, M. L.; The comparison of quality and microbiological characteristic of hamburger patties enriched with green tea extract using three techniques: Direct addition, edible coating and encapsulation. **LWT - Food Science and Technology**. v. 68, 2016, Pages 385-390.

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne: Tecnologia da sua obtenção e transformação**. Goiânia: CEGRAF - UFG; Niterói: Universidade Federal Fluminense - UFF. v. 1, 2001, Page 623.

PARK, S. Y.; CHIN K. B.; Effect of Fresh Garlic on Lipid Oxidation and Microbiological Changes of Pork Patties during Refrigerated Storage. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**. v. 34, n. 5, 2014, Pages 638-646.

RABINKOV, A.; MIRON, T.; KONSTANTINOVSKI, L.; WILCHEK, M.; MIRELMAN, D.; WEINER, L.; The mode of action of allicin: trapping of radicals and interaction with thiol containing proteins. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**. v. 1379, n. 2, 1998, Pages 233-244.

SANTOS, T. C.; ALMEIDA, A.T.R.; SILVA, H. L. A.; FRANCO, R. M.; FERNANDEZ, A.T. Avaliação do Potencial Antibacteriano do Extrato Aquoso de Alho (*Allium sativum*) em Hambúrgueres de carne bovina e sua Correlação com a qualidade sensorial. **Anais do IX Congresso Latino Americano e XV Congresso Brasileiro de Higienistas de Alimentos**. Maceió, 2019.

TAN, W; SHELEF, L. A.; Effects of sodium chloride and lactates on chemical and microbiological changes in refrigerated and frozen fresh ground pork. **Meat Science**. v. 62, n. 1, 2002, Pages 27-32.

TRIPATHI, K.; A review - Garlic, the spice of life -(Part-I). **Asian Journal of Research in Chemistry**. v. 2, n. 1, 2009, Pages 08-13.

YIN, M. C.; FAUSTMAN, C.; RIESEN, J. W.; WILLIAMS, S. N. α -tocopherol and ascorbate delay oxymyoglobin and phospholipid oxidation in vitro. **Journal of Food Science**. 1993, Pages 1273-1276, 1281.

ZHANG, X.; MENG, Q.; HE, L.; ZHAO, L.; REN, L.; Effects of garlic extract on color, lipid oxidation and oxidative breakdown products in raw ground beef during refrigerated storage. **Italian Journal of Food Science**. v. 28, n. 1, 2006, Pages 139-147.

ZIEGLER, V.; UGALDE, M. L.; VEECK, I. A.; BARBOSA, F. F.; Nutritional enrichment of beef burgers by adding components of non-conventional food plants. **Brazilian Journal of Food Technology**. v. 23, 2020, Epub.