

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Bruna Pavan

**Qualidade da carne de bovinos alimentados com um composto de óleos  
essenciais**

---

Pirassununga

2021

Bruna Pavan

**Qualidade da carne de bovinos alimentados com um composto de óleos  
essenciais**

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências do programa de pós-graduação em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e produtividade animal.

Orientador: Prof. Dr. Saulo da Luz e Silva.

---

Pirassununga

2021

## **Agradecimentos**

À Deus, por ter me feito chegar até onde estou e proporcionar tantas glórias ao lado de pessoas que amo.

A minha mãe. Adriana, que sempre me apoiou em cada passo dado em minha trajetória e pelas palavras de apoio em momentos difíceis. Ao meu padastro, Marcos que me acolheu e me fez filha, sempre me apoiando. Ao meu pai, Vanderlei, pelo apoio sempre. Ao meu noivo Guilherme, por toda a compreensão, apoio e momentos memoráveis.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio com uma bolsa de mestrado, a qual tornou possível a realização dessa etapa.

Ao meu orientador Professor Doutor Saulo da Luz e Silva, pela oportunidade, pela paciência e pela confiança no meu trabalho, por todo apoio e conselhos nas horas difíceis, que o fez ser mais que um orientador, que terei um enorme apreço para sempre.

A todos os professores que eu já tive a oportunidade de aprender, não somente sobre as disciplinas, mas também sobre a vida.

As professoras Dra Ana Maria Vidal e Dra Alessandra Lopes de Oliveira, e suas respectivas equipes que me acolheram em seus laboratórios para realização de análises, sempre dispostos em ajudar.

Ao professor Dr. Rodrigo Goulart, pela oportunidade em ter feito parte do seu experimento de pós-doutorado.

A todos os colegas de trabalho, funcionários e estagiários que participaram, direta ou indiretamente, desse trabalho.

A minha companheira de experimento, laboratório e de vida, Mariane, pela parceria, conselhos e ajuda em todos os momentos da elaboração deste trabalho.

Aos meus amigos pessoais, Duda, Bezerra, Ana, Danilo, Ana Vitória, Carol, Dan e Juan, por todo o companheirismo durante todos esses anos.

Aos meus amigos-família da República Curva de rio, por todo o companheirismo, conselhos e risadas compartilhadas nesses anos.

A todos citados meus sinceros agradecimentos!

## Resumo

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o efeito do fornecimento de uma mistura de óleos essenciais na dieta de bovinos sobre as características da qualidade de carne. Quarenta e oito bovinos machos não-castrados, da raça Nelore, com idade média de 15 meses e 360 kg  $\pm$  15 de peso vivo, foram utilizados em um delineamento inteiramente casualizado, com dois tratamentos e 24 repetições. Os animais foram alimentados com uma das seguintes dietas: CO - tratamento controle, sem inclusão dos óleos essenciais; OE – CO + composto de óleos essenciais - eugenol, carvacrol, cinamaldeído e extrato de pimenta contendo capsaicina. Os animais foram confinados por aproximadamente 112 dias. Após o período de confinamento os animais foram abatidos e vinte e quatro horas após o abate foram coletadas amostras do músculo Longissimus thoracis para análises de cor, perda por cocção, força de cisalhamento, lipídeos totais, oxidação lipídica, análise da estabilidade da vida útil e microbiologia. Todos os dados foram analisados utilizando o procedimento MIXED do software SAS 9.3 (SAS Institute Inc., Car, NC, EUA) com nível de significância de 5%. Não houve efeito entre o grupo da dieta controle e o grupo alimentado com o composto dos óleos essenciais para a maioria das características avaliadas. O tratamento OE aumentou a espessura de gordura subcutânea ( $P = 0,015$ ) porém não modificou o rendimento de carcaça quente e a área de olho de lombo quando comparado ao tratamento CO. Durante os tempos de maturação o grupo OE apresentou menores de força de cisalhamento ( $P = 0,052$ ) e as perdas por cocção ( $P = 0,004$ ) em comparado ao grupo CO. Não houve efeito da dieta em relação a estabilidade da carne durante o tempo de prateleira, não havendo diminuição da descoloração e oxidação lipídica quando comparado ao tratamento CO. Não houve efeito da dieta também nas análises de comprimento de sarcômero, lipídeo intramuscular totais e índice de fragmentação miofibrilar em comparação ao grupo CO. Durante a vida de prateleira, no quinto dia de exposição, houve efeito da dieta do grupo OE para diminuição dos microorganismos do grupo Pseudomonas ( $P = 0,056$ ). Não foi encontrado os compostos dos óleos essenciais utilizados na dieta dos animais na carne do grupo CO e grupo OE. Em conclusão, o fornecimento do composto de óleos essenciais na dieta dos animais, alterou a maciez e perdas por cocção, porém não teve efeito as demais características analisadas, como também não foi encontrado o composto de óleos essenciais utilizados na dieta na carne. Em geral, a inclusão desses compostos na dieta não diminui a descoloração e a oxidação lipídica na carne.

Palavras chaves: Bos indicus, vida útil, oxidação lipídica, óleos essenciais.

## **Abstract**

This work was carried out to evaluate the effect of supplying a mixture of essential oils in the diet of cattle on the characteristics of meat quality. Forty-eight non-castrated Nelore males, with an average age of 15 months and 360 kg  $\pm$  15 live weight, were used in a completely randomized design, with two treatments and 24 repetitions. The animals were fed one of the following diets: CO - control treatment, without the inclusion of essential oils; OE - CO + blend of essential oils - eugenol, carvacrol, cinnamaldehyde and pepper extract containing capsaicin. The animals were confined for approximately 112 days. After the confinement period, the animals were slaughtered and twenty-four hours after slaughter, samples of the Longissimus thoracis muscle were collected for color analysis, cooking loss, shear force, total lipids, lipid oxidation, analysis of life stability and microbiology. All data were analyzed using the MIXED procedure of the SAS 9.3 software (SAS Institute Inc., Car, NC, USA) with a significance level of 5%. There was no difference between the control CO and OE for most of the characteristics. The OE treatment increased the of subcutaneous fat thickness ( $P = 0.015$ ) but did not change the dressing percentage and the rib eye area when compared to the CO treatment. During the ageing period, the OE group showed lower shear force ( $P = 0.052$ ) and cooking losses ( $P = 0.004$ ) compared to the CO group. There was no effect of treatments on meat stability during shelf life, with no decrease in discoloration and lipid oxidation. Treatment did not affect the sarcomere length, total intramuscular lipid and myofibrillar fragmentation index. During the shelf life, on the fifth day of exposure, there was a decrease of Pseudomonas group ( $P = 0.056$ ) on the OE group. The compounds of the essential oils used in the diet of the animals were not found in the meat of the CO group and the OE group. In conclusion, the supply of a blend of EO improved tenderness and cooking losses. In general, the inclusion of these compounds in the diet does not decrease discoloration and lipid oxidation in meat.

Key words: *Bos indicus*, shelf life, lipid oxidation, essential oils.

## Sumário

Agradecimentos .....	3
Resumo.....	4
Abstract .....	5
1. Introdução.....	8
2. Revisão de literatura .....	9
2.1. Processo de Oxidação .....	11
2.2. Oxidação Lipídica.....	12
2.3. Oxidação lipídica como facilitador da oxidação da mioglobina. ....	14
2.4. Antioxidantes .....	17
2.5. Microbiologia dos carne.....	19
2.6. Óleos essenciais .....	21
3. Hipótese .....	24
4. Objetivo.....	24
5. Material e Métodos.....	24
5.1. Delineamento, animais, instalação e dieta .....	25
5.2. Abate e colheita de amostras.....	26
5.3. Análises de qualidade instrumental.....	27
5.3.1. Cor e pH.....	27
5.3.2. Perdas por cocção e força de cisalhamento.....	27
5.3.3. Comprimento de sarcômero .....	28
5.3.4. Índice de fragmentação miofibrilar (IFM) .....	28
5.3.5. Lipídeos totais .....	29
5.3.6. Vida útil e oxidação lipídica.....	29
5.4. Análises Microbianas.....	30
5.5. Cromatografia gasosa associada à espectrometria de massas (GC/MS) .....	30
5.6. Análise estatística.....	31
6. Resultados .....	32
6.1. Desempenho, características de carcaça. ....	32
6.2. Análises instrumentais .....	32
6.3. Vida útil da carne.....	34
6.4. Análises microbiológicas .....	36
6.5. Cromatografia gasosa associada à espectrometria de massas GC/MS.....	37
7.Discussão.....	38
7.1.Desempenho, características de carcaça. ....	38
7.2. Análises instrumentais .....	39

7.3. Análises microbiológicas .....	40
8. Conclusão .....	41
9. Referências.....	42
10. Apêndice.....	53

## 1. Introdução

Aspectos relacionados a qualidade dos alimentos, tem levado a um aumento do interesse dos consumidores em relação as práticas produtivas utilizadas para a produção dos mesmos. Em relação a produção de carne bovina, fatores envolvendo as práticas produtivas, o bem-estar animal, as questões ambientais e o uso de aditivos e promotores de crescimento estão entre os mais relevantes (ORNAGHI, 2020).

Devido a essas preocupações, os aditivos naturais surgem como uma alternativa em substituição aos tradicionalmente utilizados na alimentação animal, uma vez que estes poderiam, potencialmente, estarem associados ao surgimento de microrganismos resistentes. Esses aditivos naturais têm mostrado potencial para substituir antibióticos na promoção de maior desempenho animal, sem alterar ou até mesmo, melhorar a qualidade da carne (FUGITA et al., 2018; MONTESCHIO et al., 2017; RIVAROLI et al., 2016).

Nesse sentido, os óleos essenciais, utilizados exclusivamente ou em associação, têm sido bastante utilizados devido as suas propriedades antimicrobianas e antioxidantes (NIKMARAM et al., 2018). Além de efeitos positivos sobre o desempenho animal, alguns compostos dos óleos essenciais podem efetivamente reduzir ou inibir o crescimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes e, portanto, têm o potencial de se tornar uma boa alternativa aos agentes sintéticos para melhorar a estabilidade durante o tempo de prateleira (Negi, 2012; Oussalah et al., 2007).

Os óleos essenciais podem ser absorvidos no intestino sem que os compostos sejam degradados no rúmen devido a sua forma microencapsulada, o que permite que suas propriedades antioxidantes sejam transferidas para os tecidos (MONTESCHIO et al. , 2017). Além disso, devido aos seus efeitos moduladores no metabolismo lipídico do rúmen, os óleos essenciais podem afetar a composição de ácidos graxos do leite e da carne (MOLONEY, 2018). No entanto, seus efeitos sobre os determinantes estruturais musculares da maciez da carne ainda não foram claramente elucidados. Além disso, de acordo com Negi (2012) e Oussalah et al. (2007), diferentes compostos de origem vegetal e de óleos essenciais podem efetivamente reduzir o número ou inibir o crescimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes e, portanto, têm o potencial de se tornar uma boa alternativa aos agentes sintéticos para melhorar a estabilidade durante o tempo de prateleira.

Alguns compostos como orégano, Tomilho, Timol, Carvacrol, Eugenol, Cinamaldeído e Capsaicina possuem potencial antioxidante, afetando positivamente a qualidade da carne e melhorando sua estabilidade durante o armazenamento (BAKKALI et al., 2008; FITZGERALD et al., 2004; NAVENA et al., 2014; PEREIRA et al., 2009; KORNIEWICZ, 2007).

Desse modo, é importante a realização de estudos adicionais que possibilitem o melhor entendimento da forma de atuação desses compostos e se podem influenciar as características de qualidade de carne.

## **2. Revisão de literatura**

Características de qualidade da carne, como maciez, cor, sabor e suculência são de grande importância para indústria da carne, pois são os principais atributos buscados pelos consumidores.

A cor da carne é a principal característica buscada pelos consumidores no momento da compra, fator relacionado diretamente com a aceitação do consumidor. A oxidação de componentes da carne como lipídios e mioglobina durante o armazenamento é a causa mais importante de deterioração da carne que leva a alterações na cor, odor, sabor e maciez (BUCKLEY, MORRISSEY, & GRAY, 1995). Além da oxidação lipídica e da deterioração enzimática autolítica, a deterioração microbiana desempenha um papel significativo nesse processo de deterioração, levando a um impacto econômico e ambiental substancial (DAVE E GHALY, 2011). Como também a maciez que está entre as características sensoriais mais variáveis afetando a percepção dos consumidores e a satisfação alimentar da carne (JEREMIAH & PHILLIPS, 2000; MORGAN et al., 1991).

De um modo geral, a dieta fornecida aos animais pode ter um forte impacto na estabilidade oxidativa da carne por modular o estado oxidativo do músculo (AOUADI, 2014). Nesse sentido, os aditivos naturais podem contribuir com a estabilidade oxidativa durante a vida útil da carne devido a presença de muitos compostos com altas atividades antimicrobianas e antioxidantes (NIKMARAM et al., 2018). Como tal, os óleos essenciais têm sido amplamente explorados na nutrição animal (CRUZ et al., 2014), aumentando o desempenho dos bovinos em confinamento (SOUZA et al., 2019) e melhorando os atributos de qualidade da carne (RIVAROLI et al., 2016; MONTESCHIO et al., 2017). Além disso, melhores resultados podem ser observados

quando utilizadas misturas de óleos essenciais a fim de promover um efeito sinérgico, o qual influencia seu modo de ação no metabolismo animal e afeta a qualidade da carne bovina (PRADO et al., 2016; VALERO et al., 2014b). Compostos tais como eugenol, carvacrol, cinamaldeído e capsaicina apresentam potenciais efeitos antioxidantes e antibacterianos (NAVIKAITE-SNIPAITIENE, 2018; BASSOL, 2012; SHAKERI, 2019; JAGANATHAN et al., 2011; ROTH, 2014; DAIRAM, 2008).

Os óleos essenciais podem ser absorvidos no intestino sem que os compostos sejam degradados no rúmen devido a sua forma microencapsulada, o que permite que suas propriedades antioxidantes sejam transferidas para os tecidos (MONTESCHIO et al., 2017). Além disso, devido aos seus efeitos moduladores no metabolismo lipídico do rúmen, os óleos essenciais podem afetar a composição de ácidos graxos do leite e da carne (MOLONEY, 2018). No entanto, seus efeitos sobre os determinantes estruturais musculares da maciez da carne ainda não foram claramente elucidados. Além disso, de acordo com Negi (2012) e Oussalah et al. (2007), diferentes compostos de origem vegetal e de óleos essenciais podem efetivamente reduzir o número ou inibir o crescimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes e, portanto, têm o potencial de se tornar uma boa alternativa aos agentes sintéticos para melhorar a estabilidade durante o tempo de prateleira.

A reação do O<sub>2</sub> com a mioglobina, formando a oximioglobina, é responsável pela cor vermelha brilhante da carne, que é uma característica atrativa para o consumidor no momento da compra. No entanto, a presença de altas concentrações de oxigênio em embalagens pode aumentar a oxidação lipídica na carne (FERNANDES, 2014).

A oxidação lipídica e da mioglobina geram produtos indesejáveis que influenciam de maneira negativa as características sensoriais, tornando a carne imprópria para o consumidor. Portanto, o controle destes processos é essencial para preservar a qualidade e o prazo de validade dos produtos (FALOWO, 2014). Vários estudos têm sido realizados com o objetivo de adicionar substâncias antioxidantes e antimicrobianas diretamente na carne, ou a fornecendo-as na dieta aos animais, visando melhorar o estado antioxidante do músculo.

Aditivos tais como os antibióticos têm sido amplamente utilizados na nutrição animal e na indústria alimentar, a fim de melhorar o desempenho dos animais e também preservar a carne. Porém, seu uso tem sido questionado em função de possível toxicidade e patogenicidade em humanos e animais (HAYES, 2010). Em função disso,

alguns consumidores têm dado preferência por produtos chamados “naturais” e com efeitos benéficos para a saúde (alimentos funcionais), o que tem intensificado a busca por métodos alternativos para retardar a oxidação lipídica e reduzir a carga microbiológica em carnes, tais como o uso de antioxidantes e antimicrobianos naturais, o que poderia ser uma alternativa adequada na dieta para animais.

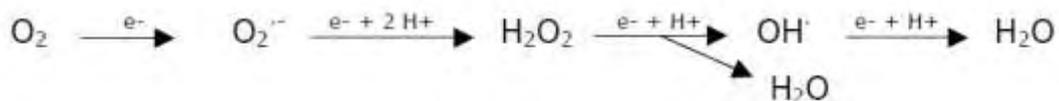
## 2.1. Processo de Oxidação

O oxigênio é um composto indispensável para a maioria dos seres vivos. Durante o metabolismo aeróbico, as mitocôndrias consomem oxigênio molecular reduzindo-o sequencialmente para produzir ATP e H<sub>2</sub>O, formando também radicais livres durante este processo. Entretanto, estes processos relacionados com o metabolismo aeróbico são indispensáveis para a vida celular, porém eles podem acarretar em danos reversíveis e até irreversíveis para as células. Os efeitos deletérios do oxigênio estão relacionados com a geração de radicais livres (SIES, 2005).

As espécies reativas ao oxigênio (ROS) estão associadas a processos degenerativos da célula em função de serem ou de gerarem radicais livres. Estes radicais são definidos por ser uma espécie química, com capacidade independente de existência e que possua um ou mais elétrons desemparelhados gerado pela perda ou ganho de elétrons, com isso, com alta reatividade (MORA, 2018).

Devido a sua configuração eletrostática, o oxigênio tende a receber um elétron de cada vez, formando compostos intermediários reativos - ROS - tais como: radical superóxido, peróxido de hidrogênio e o radical hidroxila (Figura 1).

Figura 1. Reação de oxidação e formação de radicais livres.



Fonte: Rossetto, 2006.

A formação destes ROS ocorre durante os processos biológicos celulares, ou seja, são formados fisiologicamente nos sistemas biológicos, a partir do metabolismo celular. Nos processos biológicos há uma constante produção destes radicais livres, os quais são contrabalanceados com uma produção equivalente de antioxidantes capazes de neutralizar os efeitos deletérios causados. Entretanto caso essa

neutralização não ocorra ou não seja suficiente, ocorre uma situação chamada de estresse oxidativo (LEHNINGER, 2005).

Durante um processo de estresse oxidativo, ocorrem as seguintes fases: adaptação por aumento da resposta antioxidante, dano tecidual devido à alteração que ocorre em lipídios, proteínas e carboidratos, e, por fim, a morte celular por necrose ou apoptose (LUND, 2011).

## **2.2. Oxidação Lipídica**

A fração lipídica dos alimentos está relacionada a diversas propriedades sensoriais, como aroma, cor, textura, suculência, estabilidade das proteínas e estabilidade da vida de prateleira. Os lipídios podem ser diferenciados em duas frações básicas: a fosfolipídica, que é componente das membranas celulares e de organelas e a triglicérida, que constitui os lipídios neutros, presentes em adipócitos ou no interior de células musculares, que representam uma fonte de reserva energética (ALLEN, 1981).

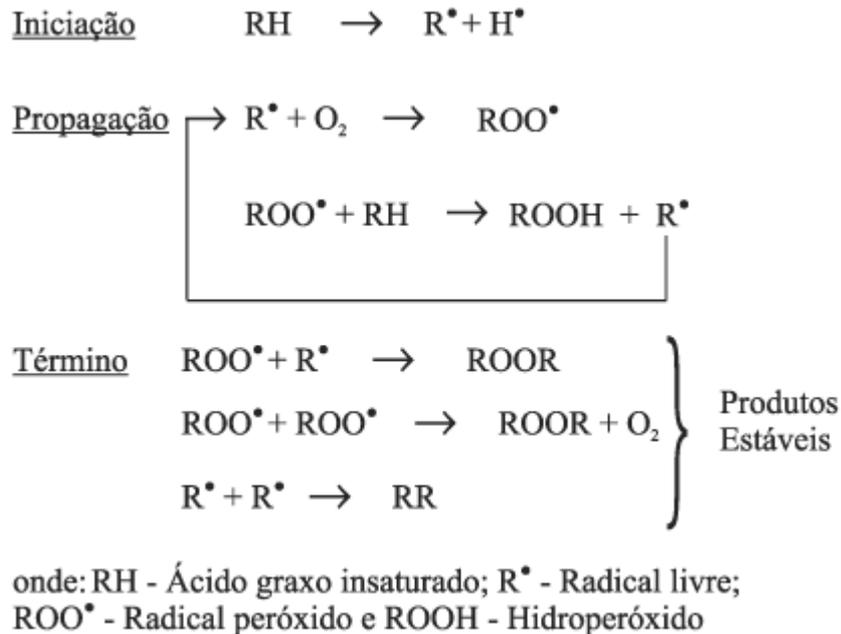
O desenvolvimento da oxidação lipídica depende de diversos e complexos fatores, os quais são relacionados com o tipo da estrutura lipídica, meio onde se encontra, número e natureza das insaturações, exposição à luz, a temperatura e presença de antioxidante, os quais determinam a estabilidade oxidativa destes (WHEATLEY, 2000).

Nos processos biológicos, a oxidação dos lipídeos pode ocorrer por várias vias, entre as quais a fotoxidação, a autoxidação e a oxidação enzimática (LARGUERRE et al., 2007; WÓJCIAK, 2012). Independente da via em que a oxidação lipídica se desenvolverá, haverá sempre um radical livre que reagirá com a cadeia hidrocarbonada do ácido graxo gerando um peróxido, que por sua vez reagirá sobre outra cadeia hidrocarbonada extraindo hidrogênios e originando um hidroperóxido, a cadeia carbonada a qual os hidrogênios foram retirados atuara como um novo peróxido, perpetuando o ciclo (WHEATLEY, 2000).

O processo de autoxidação é a reação direta do oxigênio molecular com compostos orgânicos, sob condições normais. O oxigênio tem uma natureza em se comportar como um birradical por ter dois elétrons desemparelhados no estado fundamental. A autoxidação de lipídios ocorre como a de muitos outros compostos orgânicos por um mecanismo de cadeia de radicais livres, que pode ser descrito em

termos de processos de iniciação, propagação e terminação (SEVANI, 1985), como mostrado na figura 2.

Figura 2. Reação de autooxidação de lipídeos e os radicais envolvidos durante a sua reação.



Fonte: Farmer, 1942.

A oxidação lipídica é um processo complexo iniciado pela peroxidação do ácido graxo insaturado nas membranas fosfolipídicas para formar produtos de oxidação primária, os hidroperóxidos. Os hidroperóxidos se decompõem em outros produtos de oxidação secundária, tais como aldeídos, cetonas, alcenos e álcoois que causam sabores e odores desagradáveis na carne. Exemplos específicos e bem conhecidos incluem hexanal, propanol, malondialdeído (SAKAI, 1998; SIU, 1978), que afetam negativamente a aceitabilidade e a qualidade geral da carne e dos produtos à base de carne (KUMAR, 2015).

A gordura animal é suscetível à oxidação, quando exposta ao oxigênio, o que resulta na produção de odores e aromas desagradáveis. Isso ocorre devido ao fato de que a fração lipídica dos alimentos está relacionada a inúmeras características sensoriais que podem sofrer alterações devido à oxidação, como mudança de cor, textura, sabor e odor. Por estes motivos a oxidação lipídica influencia na estabilidade da vida útil desses produtos podendo levar a rejeição por parte do consumidor.

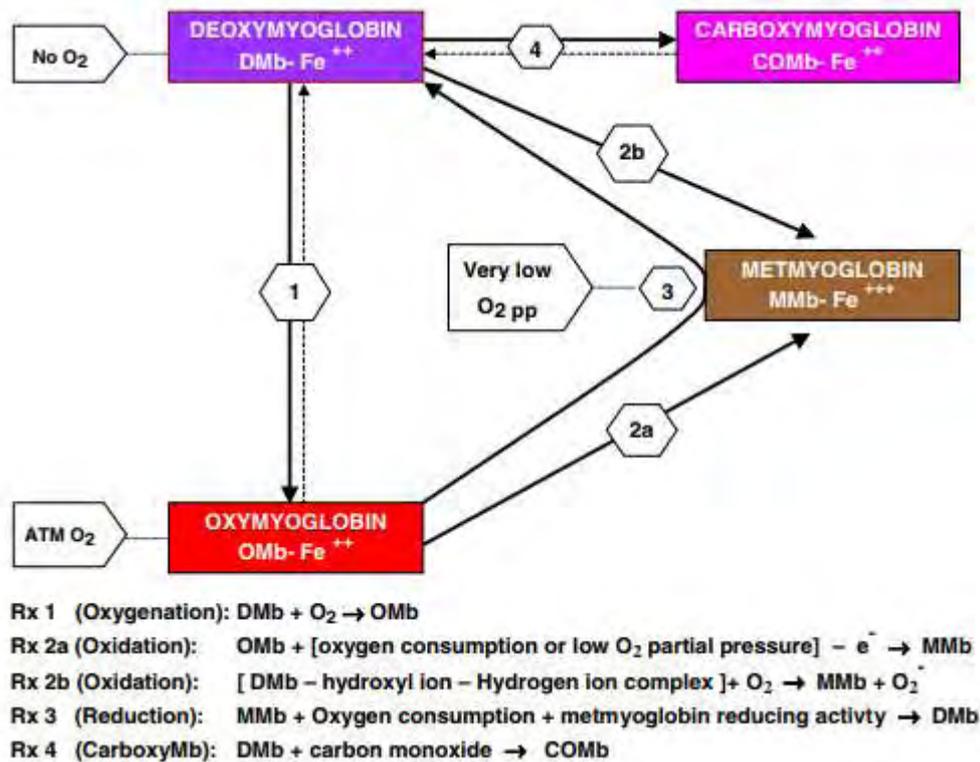
Em suma, a oxidação lipídica é a deterioração de componentes importantes dos alimentos, como ácidos graxos essenciais e vitaminas lipossolúveis, que afetam sua qualidade, aroma, sabor e valor nutricional, além de produzir substâncias potencialmente tóxicas, como malonaldeídos e óxidos de colesterol (O'GRAY et al., 1996).

### **2.3. Oxidação lipídica como facilitador da oxidação da mioglobina.**

A oxidação de proteínas também pode levar a mudanças indesejáveis nas propriedades dos produtos cárneos, como descoloração, desenvolvimento de odor estranho e odor desagradável, defeitos de textura e perda de valor nutricional (LADIKOS, 1990; MENG, 2015). Formação de grupos carbonil, oxidação e hidroxilação aromática são as principais modificações químicas conhecidas dos aminoácidos durante essa oxidação (DAVIES, 1987; STADTMAN, 1993).

A cor da carne é um fator importante, pois determina uma decisão de compra, uma avaliação das mudanças de cor resultantes do sistema de armazenamento desempenha um papel significativo ao afetar a percepção do consumidor sobre a qualidade da carne (LIU et al., 2014). A mioglobina é a proteína heme responsável pela cor da carne. A oxidação do átomo central do ferro dentro do grupo heme é responsável pela descoloração, uma mudança do oximioglobina (OxyMb) vermelho para acastanhado metamioglobina (MetMb). Quando o ferro ferroso do heme se oxida em sua forma férrica, o oxigênio é liberado e substituído por uma molécula de água, conforme ilustrado na Figura 3 (FAUSTMAN, 2010).

Figura 3. Descoloração da carne, resultante da oxidação de ambos os metais ferrosos derivados da mioglobina para ferro férrico.



Fonte: Brooks (1935), Livingston and Brown (1981) and Wallace et al. (1982).

A oxidação de proteínas é induzida diretamente por radicais livres ou indiretamente por produtos secundários do estresse oxidativo, como lipídios oxidados (Estévez, 2011). A oxidação lipídica leva a uma deterioração das qualidades sensoriais, enquanto as mudanças que ocorrem dentro das proteínas estão ligadas à deterioração dos aspectos texturais do mesmo. Enquanto a oxidação proteica influencia as propriedades físicas e químicas das proteínas, incluindo sua solubilidade, hidrofobicidade, capacidade de retenção de água, funções de gelificação e maciez, cor e valor nutritivo (Rowe, 2004; Zakrys, 2010).

As propriedades sensoriais da carne contribuem significativamente para a percepção de qualidade e valor, e isso é especialmente verdadeiro para a cor. A descoloração da carne compromete sua aparência e é devido à conversão da oximioglobina (OxyMb) em metamioglobina (MetMb). Nesta alteração em que resulta de uma diminuição da estabilidade da reação de oxi-redução em vez da oxidação de resíduos de aminoácidos específicos. Em relação da oxidação de ácidos graxos insaturados em fosfolipídios e triacilgliceróis, contribuirá para os sabor estranho (*off flavor*).

Os mecanismos pelos quais a oxidação lipídica poderia aumentar a oxidação da mioglobina foram explicados principalmente na reatividade de produtos primários e

secundários derivados de ácidos graxos insaturados. Sendo assim, as reações bioquímicas responsáveis pela oxidação da mioglobina e dos lipídeos, geram produtos que podem acelerar a oxidação dos mesmos de maneira recíproca (FAUSTMAN, 2010). Neste sentido, trabalhos com bovinos suplementados com dietas enriquecidas com ácidos graxos polinsaturados geraram uma carne mais suscetível à oxidação e descoloração lipídica (NUTE, 2007).

Greene et al, (GREENE, 1969; GREENE, 1971) foram pioneiros em estudos relacionados com o aumento simultâneo na oxidação lipídica e descoloração na carne, que em seguida representou um suporte significativo para uma interação entre os processos de oxidação lipídica e descoloração que tem sido proporcionado pela mediação antioxidante de ambos os processos. Por exemplo, sabe-se, há anos, que o antioxidante lipossolúvel,  $\alpha$ - tocoferol, retarda a oxidação lipídica em carnes de várias espécies (FAUSTMAN, 2004). No entanto, a observação de que  $\alpha$ -tocoferol também retardou a descoloração da carne, um processo envolvendo a oxidação de proteína solúvel em água, forneceu evidências de uma forte ligação entre a oxidação lipídica e proteica (CHAIJAN, 2008)

Outras alterações devido à oxidação levam alterações na hidrofobicidade que alteram a agregação de proteínas e diminuem a solubilidade das proteínas afetando assim propriedades tecnológicas como capacidade de formação de gel, propriedades de emulsificação e capacidade de ligação à água. A presença de aminoácidos modificados em uma proteína pode impedir a atividade de endoproteases em carne fresca e, portanto, pode impactar negativamente a maciez da carne. Além disso, essas modificações podem afetar a atividade das peptidases, alterando seu reconhecimento de substratos e, assim, modificando a qualidade final dos alimentos processados (MORA , 2018).

Como promotor da oxidação em alimentos de origem animal, acredita-se que o ferro tenha uma alta atividade catalítica (KANNER, 1994). No entanto, o conhecimento das proporções aproximadas entre as formas químicas do ferro é de grande importância, devido às fortes diferenças apresentadas pelo ferro heme (HI) e pelo ferro não-heme (NHI) em termos de promoção da oxidação e biodisponibilidade dos lipídeos. O NHI é considerado um dos mais importantes promotores de oxidação no sistema de carnes (KANNER, 1994). A deterioração oxidativa de algumas proteínas particulares, como a mioglobina, poderia promover a degradação do grupo heme e a subsequente liberação de ferro (ESTEVEZ, 2007)

Do ponto de vista bioquímico, a oxidação de OxyMb em MetMb gera intermediários reativos capazes de aumentar a oxidação de OxyMb e/ou ácidos graxos insaturados. Especificamente, o ânion superóxido é formado (GOTOH, 1976) e este rapidamente é transformado em peróxido de hidrogênio. Este último pode reagir com MetMb gerado simultaneamente nesta sequência de oxidação (TAJIMA, 1987) para formar um complexo MetMb ativado capaz de aumentar a oxidação lipídica (KANNER, 1985) que é atribuído à ferrimioglobina (GEORGE, 1952). Os hidroperóxidos de alquila são similares ao peróxido de hidrogênio no que diz respeito à sua capacidade de interagir com o MetMb (GEORGE, 1953). MetMb-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (HAREL, 1985; KANNER, 1985) e ferrimioglobina (BARON, 2002) foram documentados como potentes contribuintes para a oxidação lipídica na carne.

A oxidação de proteínas ocorre principalmente via reações de radicais livres nas quais, os radicais peroxila gerados nos primeiros estágios de oxidação de PUFA, podem retirar os átomos de hidrogênio das moléculas de proteínas, levando à formação de radicais proteicos. A formação de complexos não covalentes entre produtos de oxidação lipídica e resíduos de aminoácidos reativos, bem como a presença de algum metal em particular, como cobre e ferro, também pode levar à geração de radicais proteicos (ESTEVEZ, 2007).

#### **2.4. Antioxidantes**

Para amenizar, retardar ou inibir estes processos oxidativos, é necessária a ação dos antioxidantes, seja por meio da própria defesa fisiológica do organismo animal, ou de um antioxidante exógeno. Um antioxidante é uma substância que em baixas concentrações atrasa ou previne a oxidação de um substrato. Os compostos antioxidantes atuam por meio de vários mecanismos químicos, como a transferência de átomos de hidrogênio, transferência de elétrons simples e a capacidade de quelar metais de transição. Em geral, as moléculas antioxidantes podem reagir por múltiplos mecanismos ou por um mecanismo predominante. A estrutura química da substância antioxidante permite a compreensão do mecanismo da reação antioxidante.

Os sistemas biológicos possuem mecanismos antioxidantes para controlar os danos de naturezas enzimáticas e não enzimáticas que permitem que as ROS sejam inativadas. Os antioxidantes endógenos são enzimas, como a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), a glutathione peroxidase, ou compostos não enzimáticos,

como a bilirrubina e a albumina. Quando um organismo é exposto a uma alta concentração de ROS, o sistema antioxidante endógeno fica comprometido e, conseqüentemente, não garante a proteção completa do organismo. Entre os antioxidantes exógenos mais importantes estão os compostos fenólicos (óleos essenciais), carotenoides e vitaminas e alguns minerais como o selênio e o zinco.

No caso dos processos antioxidantes em que não se tem reações envolvendo enzimas, o processo da ação antioxidante ocorre com a captura dos radicais livres para evitar a reação radical de iniciação. Neste processo, ocorre a neutralização dos radicais ou a captura deles com a doação de elétrons e, durante esse processo, os antioxidantes se tornam radicais livres, mas eles são menos reativos que o radical livre inicial. Radicais livres de antioxidantes são facilmente neutralizados por outros antioxidantes neste grupo.

As células utilizam uma série de compostos antioxidantes ou depuradores de radicais livres, como vitamina E, vitamina C, carotenos, ferritina, ceruloplasmina, selênio, glutathione reduzida (GSH), manganês, ubiquinona, zinco, flavonóides, coenzima Q, melatonina, bilirrubina, taurina e cisteína. Os flavonóides que são extraídos de certos alimentos, interagem diretamente com as espécies reativas para produzir complexos estáveis ou com menor reatividade, enquanto em outros alimentos, eles realizam a função de co-substrato na ação catalítica de algumas enzimas.

No sistema enzimático, as enzimas que reparam ou eliminam as biomoléculas que foram danificadas por ROS, como lipídios, proteínas e DNA, constituem os sistemas de reparo. Exemplos comuns destes processos, incluem sistemas de enzimas de reparo de DNA (polimerases, glicosilases e nucleases) e enzimas proteolíticas (proteínases, proteases e peptidases) encontradas tanto no citosol quanto nas mitocôndrias de células de mamíferos. Exemplos específicos destas enzimas são GPx, glutathione redutase (GR) e metionina sulfóxido redutase (MSR). Essas enzimas atuam como intermediárias no processo de reparo do dano oxidativo causado pelo ataque do excesso de ROS.

A principal característica de um sistema composto ou antioxidante é a prevenção ou detecção de uma cadeia de propagação oxidativa, estabilizando o radical gerado, ajudando a reduzir o dano oxidativo no corpo humano (Namiki, 1990). Gordon (1990) forneceu uma classificação de antioxidantes, mencionando essa característica. Existem dois tipos principais de antioxidantes, o primário (quebrando a

reação em cadeia, sequestradores de radicais livres) e o secundário ou preventivo. Os mecanismos antioxidantes secundários podem incluir a desativação de metais, a inibição de hidroperóxidos lipídicos interrompendo a produção de voláteis indesejáveis, a regeneração de antioxidantes primários e a eliminação do oxigênio. Portanto, os antioxidantes podem ser definidos como substâncias que, em baixas quantidades, agem impedindo ou retardando a oxidação de materiais facilmente oxidáveis, como as gorduras.

Os compostos fenólicos constituem um amplo grupo de substâncias químicas, com diversas estruturas químicas e diferentes atividades biológicas, abrangendo mais de 8.000 compostos diferentes, que são uma parte significativa da dieta humana e animal (Martínez, 2000). Os compostos fenólicos reduzem ou inibem os radicais livres pela transferência de um átomo de hidrogênio, de seu grupo hidroxila. O mecanismo de reação de um composto fenólico com um radical peroxil ( $\text{ROO} \cdot$ ) envolve uma transferência combinada do cátion de hidrogênio do fenol para o radical, formando um estado de transição de uma ligação H-O com um elétron.

Em suma, antioxidantes são utilizados nos alimentos para retardarem ou inibirem a oxidação de lipídeos e outras biomoléculas. Embora utilizados em baixas concentrações em relação ao teor de lipídios e proteínas, sua ação é significativa na prevenção dos processos oxidativos (COTRIM, 2011). Os antioxidantes representam uma alternativa na prevenção da oxidação em produtos cárneos, por retardar os processos de autooxidação ou por inibir a formação dos radicais livres durante a etapa inicial da reação de oxidação, ou ainda pela interrupção da etapa de propagação, protegendo os lipídeos presentes na carne e também estabilizando as moléculas de mioglobina (O'GRADY, 1996).

## **2.5. Microbiologia dos carne**

Além das alterações que ocorrem na carne devido aos processos de oxidação, existe também o problema causado durante o armazenamento refrigerado, em que a carne crua sofre deterioração por meio da deterioração microbiana (CANDO, 2014). A carne é o tecido muscular composto de água, proteínas, lipídios, minerais e uma pequena proporção de carboidratos. A carne e os produtos derivados da carne são suscetíveis à deterioração da qualidade devido à sua rica composição nutricional (DEVATKAL, 2012)

Problemas causados durante o período de refrigeração da carne são as contaminações microbiológicas que ocorrem a partir da esfola, durante o abate, até a embalagem da carne e chegada a mesa do consumidor.

A deterioração da carne refrigerada pode ser causada em parte pelas *Pseudomonas*, que são bactérias responsáveis pelos aromas anormais, descoloração e produção de gás. Porém, existem também aquelas que estão associadas a doenças que podem ser transmitidas para os seres humanos, como as toxinfecções, tais como *Salmonella*, *E.coli* e enterobactérias em geral, além dos microrganismos psicotróficos, que possuem maior facilidade para se desenvolver no ambiente durante o armazenamento refrigerados das carnes, tanto na indústria quanto no varejo.

Um conhecido mecanismo de atividade antibacteriana está ligado à sua hidrofobicidade, que perturba a permeabilidade das membranas celulares e a homeostase celular tendo como consequência a perda de componentes celulares, influxo de outras substâncias, ou mesmo morte celular (BRENES, 2010; SOL, 2012; WINDISCH, 2008; O'BRYAN, 2015). Sabe-se que as bactérias Gram-negativas são mais tolerantes às ações de óleos essenciais do que bactérias Gram-positivas devido aos seus constituintes hidrofílicos na membrana externa (BRENES, 2010; GIANNENAS, 2013; SEOW, 2014).

Segundo Negi (2012) e Oussalah et al. (2007), diferentes compostos de origem vegetal e de óleos essenciais podem efetivamente reduzir o número ou inibir o crescimento de microrganismos patogênicos e de deterioração, e, assim, ter o potencial para se tornar uma alternativa aos agentes sintéticos. De fato, plantas e muitas frutas pequenas contêm grandes quantidades de compostos fenólicos que são mais eficazes para inibir as bactérias gram-negativas (MANGENA, 1999; MARINO, 2001)

A eficácia antimicrobiana dos polifenóis e seu espectro de atividade dependem de sua estrutura química (estrutura do esqueleto, número e posições dos grupos OH) e concentração utilizada (polifenóis). Sabe-se que as bactérias expressam diferentes graus de resistência a presença dos óleos essenciais. Devido à sua natureza hidrofóbica, os óleos essenciais tendem a afetar maior número de bactérias Gram-positivas, como *B. cereus*, *Staphylococcus aureus* e *L. monocytogenes*, seguidos por bactérias Gram-negativas, como *E. coli*, *S. Typhimurium* e *Pseudomonas aeruginosas* (BURT, 2004).

As propriedades antibacterianas destes compostos estão em parte associadas ao seu efeito lipofílico, levando a acumulação em membranas e a eventos subsequentes associados à membrana, como depleção de energia (CONNER, 1993).

Os lipopolissacarídeos da superfície da membrana externa das bactérias Gram-negativas repelem óleos essenciais. As *Pseudomonas aeruginosas* são resistentes a muitos antissépticos e desinfetantes, pois possui um nível mais alto de magnésio em sua membrana externa (KONÉ, 2018). Níveis mais altos de magnésio na membrana podem aumentar o *crosslinking* entre os lipossacarídeos, portanto, reduzem o tamanho das porinas e, finalmente, limitam a migração de moléculas através da membrana bacteriana (MCDONNELL, 1999).

Entre as causas mais frequentes de contaminação dos alimentos, destacam-se a manipulação e conservação inadequadas e a contaminação cruzada entre produtos crus e processados. Os microrganismos provocam alterações nos alimentos, tais como fermentação, putrefação, modificação na aparência ou podem simplesmente utilizá-los como veículo de disseminação de doenças.

O termo antimicrobiano abrange os antibióticos, desinfetantes, higienizantes, antimicrobianos alimentares, além de outras substâncias bactericidas. Os antimicrobianos alimentares são utilizados com a intenção de inibir o crescimento microbiano ou retardar a deterioração dos alimentos e assim, prolongar a vida útil de alimentos (OUSSALAH, 2005).

## **2.6. Óleos essenciais**

Devido a problemas como oxidação lipídica, da mioglobina e contaminações microbiológicas, que são importantes pontos tanto para a indústria da carne, como também para o consumidor, há um crescente interesse em aditivos alimentares naturais, o que tem desafiado a comunidade científica para inovar em sistemas alternativos de conservação de alimentos e melhorar a qualidade da carne (UTRERA, 2015). Óleos essenciais são compostos naturais, com propriedades antimicrobianas e antioxidantes e apresentam-se como aditivos alternativos a fim de inibir o crescimento microbiano e retardar processos oxidativos em alimentos.

Quimicamente, os óleos essenciais são misturas variáveis de terpenóides que incluem principalmente monoterpenos (C10) e sesquiterpenos (C15), embora diterpenos (C20) também possam estar presentes. Eles também incluem uma

variedade de hidrocarbonetos alifáticos de baixo peso molecular, ácidos, alcoóis, aldeídos, ésteres acíclicos ou lactonas, tocoferóis e compostos fenólicos (DORMAN & DEANS, 2000). Estes produtos podem atuar como antimicrobianos e antioxidantes, beneficiando o sistema imunológico e digestivo dos animais, que se reflete em seus índices de desempenho e qualidade da carne (BENCHAAAR, 2008; JAYASENA & JO, 2013).

Essas substâncias podem atuar como sequestrantes de radicais livres e quelantes de íons metálicos por meio de ligações com proteínas de alimentos, embora essas interações dependam da estrutura química e da quantidade do antioxidante, bem como das características da proteína e da intensidade das reações oxidativas. Por outro lado, extratos de plantas e frutas também contêm vitaminas e minerais, que são considerados antioxidantes naturais devido à sua função como co-fatores de enzimas antioxidantes (COTELLE, 2001).

Além disso, quando uma mistura (*blend*) é usada, os óleos essenciais podem ter um efeito sinérgico, influenciando seu modo de ação sobre o metabolismo animal e afetando a qualidade da carne bovina (PRADO, 2016; VALERO, 2014). Portanto, óleos essenciais e extratos de ervas têm sido utilizados como uma alternativa de interesse técnico e científico, devido às suas aplicações, incluindo a conservação de alimentos frescos e processados (YUAN, 2016)

A atividade antioxidante dos óleos essenciais é uma das características mais investigadas. O uso de antioxidantes sintéticos despertou o interesse de substituir estes químicos por aditivos naturais com capacidade antioxidante, como óleos (FILIP, 2016).

Óleos essenciais podem ser obtidos a partir de várias partes de plantas, como folhas, flores, raízes, entre outros (AQUINO, 2010; JOSHI, 2013; DUSKOVA, 2016). Além disso, alguns estudos têm demonstrado que os óleos essenciais podem influenciar a qualidade da carne (RIVAROLI, 2016) e melhorar a estabilidade da carne durante a vida útil (JAYASENA & JO, 2013; LUCERA, 2012)

A atividade antimicrobiana de óleos essenciais também tem sido avaliada em ensaios *in vitro* que mostraram que o Timol, Eugenol e Carvacrol têm alta atividade antimicrobiana contra bactérias patogênicas como *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*, ambas potenciais fatores de risco de infecções entéricas (BASSOL, 2012; FRANZ, 2010; HIPPENSTIEL, 2011). O Timol, Eugenol e Carvacrol são estruturalmente semelhantes e demonstraram exercer efeitos antimicrobianos

sinérgicos ou aditivos, quando combinados em concentrações mais baixas (BASSOL, 2012).

Em relação ao Carvacrol, a existência de grupos hidroxílicos fenólicos e cadeia de polieno estendida de duplas ligações conjugadas em astaxantina, são responsáveis por suas atividades antimicrobiana e antioxidante (HIGUERA, 2006; Xu, 2008). Além disso, espécies de plantas contendo Timol e Carvacrol apresentam alto potencial antioxidante devido à presença de terpenos fenólicos (BAKKALI, 2008).

Já o Cinamaldeído é um composto bioativo isolado da casca de *Cinnamomum cassia* (HANCI, 2016), enquanto que o Eugenol é um composto fenilpropanóide presente no mel e óleo essencial de especiarias como *Syzygium aromaticum*, *Cinnamomum verum* e Pimenta racemosa (JAGANATHAN et al., 2011). Ambos os compostos têm sido usados em práticas médicas tradicionais devido ao seu potencial antifúngico, antibacteriano, anti-inflamatório, antimutagênico e efeitos antioxidantes (JAGANATHAN et al., 2011; ROTH, 2014).

No caso do Eugenol, a atividade antioxidante do óleo essencial de cravo é atribuída principalmente a ele. O efeito antioxidante do Eugenol foi avaliado na presença de compostos lipídicos, estudando a formação de componentes primários (hidroperoxidienos) e secundários (malonaldeído) do processo oxidativo (RUBERTO, 2000; WEI, 2010)

Outro princípio ativo que tem sido explorado é a Capsaicina que mostrou ter ações antioxidantes (DAIRAM, 2008). A Capsaicina (trans-8-metil-N-vannilil-6-nonamida) é o princípio ativo encontrado em pimentas vermelhas do gênero da planta *Capsicum*. Segundo KOGURE (2002) esse componente alcaloide inibe potencialmente várias peroxidações lipídicas, elimina diretamente diferentes radicais tóxicos e dificulta tanto o acúmulo de espécies ativas de oxigênio, como a reação de radical em cadeia de maneira dependente da concentração. Entretanto, não foram encontrados estudos que tenham avaliado o efeito do fornecimento desse composto em dietas de bovinos, para avaliar seus efeitos sobre características de qualidade da carne.

A dieta dos animais criados para produção de alimentos tem grande influência na estabilidade oxidativa do produto alimentar final. Assim, estratégias nutricionais que reduzam a oxidação das carnes e derivados, geralmente implicam na redução de ácidos graxos polinsaturados nos tecidos animais e suplementação alimentar com

tocoferóis ou carotenoides, a partir de extratos vegetais, o que também melhora as propriedades sensoriais dos alimentos (MORA, 2018).

Prolongar o prazo de validade dos produtos cárneos é importante tanto para indústria frigorífica quanto para os consumidores, e pode ser conseguido por meio da proteção contra descoloração, oxidação lipídica e crescimento microbiano. Embora os processos de oxidação possam ser evitados pelo uso de antioxidantes, sua aplicação direta sobre cortes de carne é proibida em muitos países (JUNG, 2009)

Portanto, a utilização de óleos essenciais para melhorar a qualidade da carne pode ser promissor devido à sua aceitação pelos consumidores do que os conservantes sintéticos. Desta forma, a qualidade da carne pode ser influenciada pela inclusão de óleos essenciais em dietas de bovinos, sendo estes compostos integrados na carne para alterar a estabilidade oxidativa e também reduzir a sua carga microbiológica de carnes (WENK, 2003).

### **3. Hipótese**

A inclusão de um composto de óleos essenciais contendo Eugenol, Carvacrol, Cinamaldeído e extrato de pimenta contendo Capsaicina na dieta de bovinos confinados reduz a carga microbiológica, a oxidação lipídica, e conseqüentemente, aumenta a vida útil e a estabilidade da cor da carne.

### **4. Objetivo**

O trabalho foi desenvolvido para avaliar o efeito do fornecimento de uma mistura de óleos essenciais contendo Eugenol, Carvacrol, Cinamaldeído e extrato de pimenta contendo Capsaicina na dieta de bovinos confinados, sobre características de qualidade e estabilidade da carne.

### **5. Material e Métodos**

Todos os procedimentos realizados neste experimento foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da FZEA da Universidade de São Paulo (Protocolo nº 7957310817).

### 5.1. Delineamento, animais, instalação e dieta

Foram utilizados 48 bovinos machos não-castrados, da raça Nelore, com idade média de 15 meses e  $360 \pm 10$  kg de peso vivo, provenientes do rebanho da Universidade de São Paulo de Pirassununga/SP. Os animais foram distribuídos em dois tratamentos, em um delineamento inteiramente casualizado: CO - tratamento controle, sem inclusão dos óleos essenciais; OE - tratamento contendo uma mistura de óleos essenciais - Eugenol, Carvacrol, Cinamaldeído e extrato de pimenta contendo Capsaicina.

As dietas foram formuladas visando atender as exigências de manutenção e crescimento de bovinos conforme o NRC (2016; Tabela 1). Ambas as dietas possuíam a mesma formulação, entretanto na dieta do grupo OE foi adicionado o composto de dos óleos essenciais, fornecido através do produto comercial Activo Premium® (Grasp, Curitiba, Paraná, Brasil), na proporção 150 mg/kg/MS.

A alimentação foi oferecida uma vez ao dia pela manhã (08:00 h). Os animais foram pesados ao início e ao fim do período experimental, após 14 horas de jejum alimentar.

Tabela 1 – Composição da dieta experimental (% na MS)

Ingredientes	%
Silagem de milho	30,00
Milho moído	62,58
Farelo de soja	3,98
Ureia	1,30
Calcário	0,94
Cloreto de potássio	0,12
Núcleo mineral <sup>1</sup>	1,07
Composição química	
Matéria seca	62,5
Proteína bruta	14,0
NDT	78,5
Extrato etéreo	3,6
Fibra em detergente neutro	23,6

<sup>1</sup> Núcleo mineral: 66 g/kg de cálcio, 28 g/kg de fósforo, 141 g/kg de sódio, 42 g/kg de enxofre, 19 g/kg de magnésio, 1230 mg/kg de cobre, 28 mg/kg de cobalto, 11,5 mg/kg de selênio, 3670 mg/kg de zinco, 57 mg/kg de iodo, 752 mg/kg de manganês, 165.500 UI/kg de vitamina A, 2.350 mg/kg de monensina

sódica. O núcleo mineral utilizado no tratamento OE continha a adição de 14.100 mg/kg de Activo Premium (Grasp, Curitiba, Paraná, Brasil) para que os animais recebessem 150 mg/kg/MS e 2.350 mg/kg de monensina sódica.

## 5.2. Abate e colheita de amostras

Após o período de confinamento, os animais foram abatidos no abatedouro da Prefeitura do campus da USP de Pirassununga. O abate foi realizado de acordo com procedimentos humanitários, conforme exigido pela legislação brasileira (BRASIL, 1987).

O peso de carcaça quente (PCQ) foi determinado pela soma dos pesos das meias-carcaças logo após o abate e o peso de carcaça fria (PCF) foi determinado com a soma dos pesos das meias-carcaças após 24 horas de resfriamento (0 - 2 °C). O rendimento de carcaça quente (RCQ) foi calculado pela divisão do PCQ pelo peso final de abate dos animais, multiplicado por 100.

Após o período de resfriamento de 24 horas (0 - 2°C), a meia-carcaça esquerda foi dividida na região entre a 12ª e a 13ª costelas, onde foram colhidas três amostras (2,5 cm de espessura) do músculo *Longissimus thoracis* (LT) para análise de maciez, no sentido cranio-caudal. Adicionalmente, foram colhidas 5 amostras (1,5 cm de espessura), para a determinação da vida útil da carne e cromatografia gasosa associada a espectrometria de massas.

Uma imagem do músculo LT entre a 12ª e a 13ª costelas foi obtida utilizando uma câmera digital acoplada a um dispositivo usado para manter uma distância fixa (10cm) das imagens, para determinação da área do lombo (AOL) e espessura de gordura subcutânea (EGS). As imagens foram obtidas e interpretadas utilizando o software Lince® (M&S Consultoria Agropecuária, Pirassununga, São Paulo, Brasil).

As três amostras de 2,5 cm de espessura foram identificadas e embaladas a vácuo individualmente. Após a desossa, duas dessas amostras foram levadas ao laboratório para realização das análises instrumentais de qualidade de carne e IFM (D0), a outra amostra foi maturada (0 – 4°C) por 6 dias (sete dias após o abate – D6), para posterior realização das mesmas análises do D0. A terceira amostra foi utilizada para a realização da análise de comprimento de sarcômero.

### **5.3. Análises de qualidade instrumental**

#### **5.3.1. Cor e pH**

Durante os tempos 0 e 6 de maturação e também durante os dias utilizados na análise de vida útil (0, 3, 5 e 7) foram realizadas medições da cor e pH. As amostras dos tempos 0 e 6 de maturação foram retiradas das embalagens e deixadas expostas ao oxigênio por 30 minutos em temperatura de 4°C a 6°C. Em seguida, foi realizada uma avaliação objetiva da cor da carne utilizando o sistema CIELab (CIE, 1986) utilizando um espectrofotômetro portátil, modelo CM2500d (Konica Minolta Brasil, São Paulo, Brasil) com iluminante padrão A, ângulo de observação de 10° e abertura do obturador de 30 mm. Valores finais de L\* (luminosidade), a\* (intensidade de vermelho) e b\* (intensidade de amarelo) de cada amostra foram obtidos por meio da média de três medidas e também a mensuração do pH nos mesmos tempos, utilizando um peagâmetro digital (Hanna Instruments – modelo HI99163, São Paulo Brasil).

#### **5.3.2. Perdas por cocção e força de cisalhamento**

Após a avaliação da cor das amostras dos tempos 0 e 6 de maturação foram pesadas e assadas em um forno elétrico industrial (Modelo F130/L – Fornos Elétricos Flecha de Ouro Ind. e Com. Ltda, São Paulo, Brasil) equipado com um termostato a 170°C. A temperatura interna dos bifes foi monitorada por meio de termômetros individuais (RISEPRO® – Modelo Black ET925-2BK, RISEPRO, Estados Unidos da América). Ao atingirem temperatura interna de 40°C, as amostras foram viradas e deixadas até atingirem temperatura interna de 71°C, conforme recomendado pela American Meat Science Association (AMSA, 2015).

Em seguida, as amostras foram retiradas do forno e permaneceram em temperatura ambiente ( $\pm 25^\circ\text{C}$ ) até resfriarem, quando foram novamente pesadas para determinação das perdas por cocção. Posteriormente, as amostras foram envolvidas em filme plástico e colocadas em geladeira (4 a 6°C) por 12 horas, logo após foram retirados de seis a oito cilindros (1,27 cm de diâmetro) de cada amostra no sentido longitudinal da fibra para determinação da força de cisalhamento utilizando o equipamento TMS-PRO analisador de textura (Food Technology Corporation, Sterling, Virginia, USA) acoplado com um dispositivo de cisalhamento Warner–

Bratzler com velocidade fixada em 200 mm/min (AMSA, 2015). A força de cisalhamento de cada amostra foi considerada como a média das seis repetições.

### **5.3.3. Comprimento de sarcômero**

Seis cilindros (1,27 cm de diâmetro) foram retirados de cada amostra que foi previamente separada para esta análise, colocados em um recipiente plástico contendo 0,2 M de solução de sacarose, e fixados durante a noite a 4°C para determinar o comprimento do sarcômero, pelo método de difração a *laser* usando o equipamento Laser de Neônio Hélio Modelo 05-LHR-021 (Melles Griot, Carlsbad, CA, EUA), segundo metodologia proposta por Cross, West, & Dutson (1981). De cada amostra foram medidos 36 comprimentos de sarcômeros. O comprimento do sarcômero foi determinado pela média das 36 medidas.

### **5.3.4. Índice de fragmentação miofibrilar (IFM)**

O IFM foi determinado de acordo com Culler et al. (1978). Foram utilizadas amostras de 3 gramas, as quais foram picadas com bisturi, retirando-se qualquer tecido conjuntivo ou gordura aparente. As amostras foram homogeneizadas no Turrax em três seções de 30 segundos cada, com 30 mL da solução de extração contendo KCl 100mM, fosfato de potássio 20mM, EDTA 1mM, MgCl<sub>2</sub> 1mM e azida sódica 1mM. Em seguida, a solução homogeneizada foi centrifugada por 15 minutos em 2.300 G, a 4°C. Após descartar o sobrenadante, o precipitado foi disperso com 30 mL da solução de extração, agitado com um bastão de vidro e centrifugado novamente, esta operação foi repetida mais uma vez. Após descartar o sobrenadante, ao precipitado foram adicionados 15 mL da solução de extração e a suspensão obtida foi passada através de peneira de polietileno para remoção do tecido conectivo. Na suspensão de miofibrilas foi determinada a concentração de proteína pelo método do biureto, descrito por Gornall et al. (1949). Uma alíquota da suspensão de miofibrilas foi diluída com a solução de extração até uma concentração proteica de  $0,5 \pm 0,05$  mg/mL. A suspensão diluída de miofibrilas foi agitada e colocada na cubeta, sendo logo em seguida feita a leitura da densidade ótica a 540 nm em um espectrofotômetro (Espectrofotômetro Digital 325-1000NM, Modelo GT7220, Global Analyzer, Canadá).

Para obtenção do índice de fragmentação miofibrilar foi multiplicado o valor obtido de densidade ótica a 540 nm por 200 de acordo com Culler et al. (1978).

### **5.3.5. Lipídeos totais**

Amostras com cerca de 3,0 g da amostra foram pesadas e posteriormente homogeneizadas em um processador (Mixer Walita Modelo RI1364 com microprocessador, Phillips do Brasil LTDA, Varginha, Brasil). Os lipídeos foram extraídos por homogeneização da amostra com uma solução de clorofórmio: metanol: água destilada (2: 1: 0,8). Em seguida, NaCl a 1,5% foi adicionado para que os lipídios fossem isolados e determinados por gravimetria, conforme metodologia proposta por (Bligh & Dyer, 1959).

### **5.3.6. Vida útil e oxidação lipídica**

O teste de vida útil de prateleira foi realizado conforme o método proposto por Vatansever *et al.* (2000), utilizando amostras de carne de 1,5 cm de espessura. Inicialmente, as amostras foram expostas ao ambiente por 30 minutos de 4 °C a 6 °C e, em seguida, foi realizada avaliação objetiva da cor, conforme descrito anteriormente.

Em seguida, as amostras foram colocadas em bandejas de poliestireno contendo papel absorvente e embrulhadas em papel filme permeável ao oxigênio por 0, 3, 5 e 7 dias sob condições simuladas de exposição no varejo (4 °C e iluminação de 1.000 lux). Após o término de cada período foram avaliados a cor e o pH e amostras foram coletadas para a determinação da oxidação lipídica e análises microbianas.

As amostras para oxidação lipídica foram trituradas e homogeneizadas em ultraturrax e analisadas para o teste de substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) de acordo com a metodologia proposta por Vyncke (1975) e modificada por (Sorensen & Jorgensen, 1996). As leituras de absorbância foram realizadas a 530 nm e 632 nm no espectrofotômetro Multiscan Go FI-01620 (ThermoFisher, Vantaa, Finlândia), conforme metodologia proposta por Vyncke (1975) e modificada por Sorensen e Jorgensen (1996).

#### **5.4. Análises Microbianas**

Para avaliação do perfil microbiológico foram realizadas contagens padrão em placas de microrganismos mesófilos, psicotróficos, enterobactérias, pseudomonas e bactérias ácido lácticas (APHA, 2001). Primeiramente, foram pesados 25 gramas de carne e colocado em garrafas com água peptonada a 0,1%, em seguida, a diluição inicial foi obtida a partir da própria referida solução, enquanto a diluição 10<sup>-1</sup> foi obtida a partir da mistura de 1 ml da referida solução com 9 ml de água peptonada a 0,1% e assim sucessivamente até alcançar a diluição necessária para cada tempo.

Diluições sucessivas de 10 a 10<sup>-5</sup> foram preparadas, e em cada tempo (0, 3, 5 e 7) utilizou-se 3 diluições que mais se adequaram a cada tempo avaliado que foram determinadas por um teste piloto realizado anteriormente (Apêndice 1). Posteriormente, as amostras diluídas foram semeadas em ágar-padrão para a contagem. Mesófilos e Psicotróficos foram semeados usando o Plate Count Agar (PCA; Compendium, 2001). A incubação para contagem de mesofilos ocorreu a 35°C, por 48 horas, enquanto para psicotróficos 7°C por 10 dias. Para Enterobactérias foram semeadas as amostras no agar Violet Red Bile Glucose Agar (VRBG, Oxoid), e incubado a 35°C por 24 horas. Para Pseudomonas foram semeadas as amostras no ágar Cetrimide, e incubado a 20°C por 24 horas. E para as bactérias ácidas lácticas, o meio utilizado para semear foi o De Man, Rogosa and Sharpe (MRS), a 30°C, por 48 horas.

As contagens foram realizadas em contador de colônias, segundo a técnica-padrão, e o número de unidades formadoras de colônia (CFU), foi multiplicado pelo fator de diluição utilizado em cada amostra e em cada tempo (Compendium, 2001).

#### **5.5. Cromatografia gasosa associada à espectrometria de massas (GC/MS)**

Amostras do músculo LT foram obtidas no momento da desossa e congeladas a -20 graus, ainda congelada, foram retiradas 3 gramas de cada amostra e fatiadas. Em seguida, essas amostras de carne foram colocadas em um frasco de vidro de 20 ml e tampadas com um septo de PTFE (fibra de vidro com politetrafluoretileno).

Para a extração de compostos voláteis foi utilizada a técnica de microextração de fase (SPME). O frasco com a amostra foi colocado em banho-maria

a 60 °C ( $\pm 2$  °C) por 10 minutos, a 75  $\mu$ m de fibra PVB / PDMS (Supelco, Bellefonte, PA), depois exposto ao espaço livre sobre a amostra a 60 °C ( $\pm 2$  °C) por 30 minutos.

Terminado o tempo de adsorção, a fibra foi removida do frasco para injetáveis e imediatamente inserido no cromatógrafo gasoso (GC) (TRACE 2000, Thermo-Finnigan, San Jose, CA) ajustado em 250°C e o tempo de dessorção foi de 4 minutos. O injetor operou no modo sem divisão a uma temperatura de 250 °C e foi fornecido com um revestimento de entrada de 0,75 mm (Supelco, Bellefonte, PA).

Hélio foi usado como gás de arraste com uma vazão de 1,0 ml / min. Os compostos voláteis foram separados usando uma coluna Supelco SPB 5 (30 m 0,32 mm 1  $\mu$ m). A temperatura do forno do GC foi aumentada da seguinte maneira: 40°C mantido por 5 minutos; até 230° C com uma taxa de 3° C/minuto e mantida a 230° C por 5 minutos, com um programa total de aquisição de 73 minutos. A interface GC / MS foi aquecida a 280° C. Espectros de massa de compostos voláteis foram gerados por um equipamento com uma armadilha de íons (Polaris Q, Thermo-Finnigan, San Jose, CA). A aquisição foi realizada no modo de impacto eletrônico (EI) (70 eV) por 10 microscans/s, digitalizando a faixa de massa de 33 a 230 m/z. A identificação dos compostos foi realizada por comparação com espectros de massa da Biblioteca Espectral de Massa NIST 7 (2000).

## 5.6. Análise estatística

Os dados foram analisados por análise de variância, utilizando o procedimento *Mixed* do software PROC MIXED SAS 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC), em delineamento inteiramente casualizado, considerando os tratamentos (CO e OE) como efeito fixo, com 24 repetições por tratamento. Os dados de pH, cor, maciez, PPC, TBARS e vida útil foram avaliados como medidas repetidas no tempo, considerando os efeitos fixos de tratamento, tempo e a interação tempo x tratamento e o abate como efeito aleatório. As estruturas de covariância dos resíduos foram testadas para cada característica e a que apresentou melhor ajuste foi usada (CROWDER e HAND, 1990). As contagens de microrganismos foram convertidas para o logaritmo base 10 do número de unidades formadoras de colônias. A análise estatística das contagens foi realizada por meio de análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ) segundo Banzatto e Kronka, (2006). Todos os dados foram avaliados por um procedimento de modelo linear geral

utilizando o PROC MIXED (SAS Institute) no pacote estatístico SAS versão 9.1.3 com nível de significância de 5%.

## 6. Resultados

### 6.1. Desempenho, características de carcaça.

Não houve diferença entre os tratamentos no peso ao abate, como também no PCQ, RCQ e AOL (Tabela 2). Entretanto, a EGS foi maior nos animais do tratamento OE ( $P = 0,0154$ ).

Tabela 2. Médias, erros-padrões da média (EPM) e probabilidades ( $Pr>F$ ) das características de carcaça em função dos tratamentos.

Características	Controle	Óleos essenciais	EPM	Valor P
Peso Final, kg	562,7	571,9	18,90	0,140
Peso de carcaça quente, kg	324,1	329,1	11,00	0,192
Rendimento de Carcaça, %	58,0	58,0	0,27	0,875
Área de olho de lombo, cm <sup>2</sup>	72,2	72,4	4,70	0,891
Espessura de gordura subcutânea, mm	2,0	3,0	0,36	0,015

### 6.2. Análises instrumentais

Não houve interação tratamento x tempo para as características de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), pH, PPC, FC e IFM (Tabela 3). A suplementação com OE também não influenciou os valores de  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , pH e FC, entretanto, os animais do tratamento OE apresentaram uma menor PPC ( $P = 0,004$ ) em relação ao tratamento CO. O efeito do tempo aumentou os valores de cor, pH, PPC e diminuiu os valores de. O comprimento de sarcômero também não foi influenciado pelos tratamentos ( $P = 0,233$ ), como também a quantidade de lipídeos totais intramuscular ( $P = 0,465$ ; Tabela 4).

Tabela 3. Médias, erros-padrões da média e probabilidades (Pr>F) das características de qualidade da carne, em função dos tratamentos e tempo de maturação.

Característica	Tempo de maturação	Óleos essenciais	Média	Pr > F			
				Controle	Tratamento	Tempo	Tratamento x Tempo
<b>L*</b>	0	43,9 ± 0,43	43,8 ± 0,44	43,8 ± 0,31			
	6	47,3 ± 0,43	46,4 ± 0,45	46,8 ± 0,31	0,252	<0,001	0,337
	média	45,6 ± 0,31	45,1 ± 0,32				
<b>a*</b>	0	22,9 ± 0,29	23,2 ± 0,30	23,1 ± 0,21			
	6	24,5 ± 0,29	24,8 ± 0,30	24,6 ± 0,21	0,347	<0,001	0,99
	média	23,7 ± 0,20	24 ± 0,21				
<b>b*</b>	0	15,6 ± 0,32	15,8 ± 0,32	15,7 ± 0,23			
	6	18,4 ± 0,21	18,2 ± 0,22	18,3 ± 0,15	0,992	<0,001	0,527
	média	17,0 ± 0,19	17,0 ± 0,19				
<b>pH</b>	0	5,4 ± 0,01	5,4 ± 0,010	5,4 ± 0,007			
	6	5,4 ± 0,01	5,4 ± 0,010	5,4 ± 0,007	0,732	<0,001	0,796
	Média	5,4 ± 0,01	5,4 ± 0,007				
<b>Perdas por cocção, %</b>	0	28,1 ± 0,83	26,2 ± 0,84	27,1 ± 0,68			
	6	29,5 ± 0,71	27,8 ± 0,71	28,6 ± 0,61	0,004	0,017	0,869
	Média	28,8 ± 0,64	26,9 ± 0,65				
<b>Força de cisalhamento, N</b>	0	63,9 ± 1,43	60,1 ± 1,36	61,9 ± 0,98			
	6	52,3 ± 1,97	49,5 ± 1,87	50,9 ± 1,36	0,052	<0,001	0,774
	Média	58,1 ± 1,21	54,8 ± 1,16				
<b>Índice de fragmentação miofibrilar</b>	0	42,1 ± 9,41	30,4 ± 9,10	36,3 ± 8,93			
	6	53,3 ± 9,41	51,7 ± 9,10	52,5 ± 8,93	0,062	<,0001	0,152
	Média	47,7 ± 9,09	41,1 ± 8,78				

L\* = luminosidade (preto a branco); a\* = intensidade de vermelho (verde a vermelho); b\* = intensidade de amarelo (azul a amarelo).

Tabela 4. Médias, erros-padrões da média (EPM) e probabilidades (Pr>F) das características de comprimento de sarcomêro e lipídeos totais, em função dos tratamentos.

<b>Característica</b>	<b>Controle</b>	<b>Óleos essenciais</b>	<b>EPM</b>	<b>Valor P</b>
<b>Comprimento de sarcomêro, <math>\mu\text{m}</math></b>	1,79	1,82	0,02	0,233
<b>Lipídeos totais, %</b>	2,1	1,9	0,19	0,465

### **6.3. Vida útil da carne**

Não houve interação entre os tratamentos e o tempo de exposição na prateleira para cor, pH e TBARS (Tabela 5). Os valores de cor da carne diminuiram ( $P < ,0001$ ) enquanto a formação de TBARS aumentou ( $P = 0,987$ ) durante o tempo de exposição no varejo. Durante o tempo de armazenamento, os valores de pH aumentaram sem diferenças entre CO e OE.

Tabela 5. Médias, erros-padrões da média e probabilidades (Pr>F) das características de cor e oxidação lipídica da carne sob condições simuladas de exposição em varejo.

Característica	Tempo de maturação	Controle	Óleos essenciais	Média	Pr > F		
					Tratamento	Tempo	Tratamento x Tempo
<b>L*</b>	0	43,8 ± 0,46	44,1 ± 0,47	43,9 ± 0,33	0,115	<,0001	0,036
	3	46,4 ± 0,59	45,5 ± 0,60	45,9 ± 0,43			
	5	45,9 ± 0,67	45,0 ± 0,67	45,4 ± 0,48			
	7	44,8 ± 0,79	42,2 ± 0,78	43,4 ± 0,55			
	Média	45,2 ± 0,44	44,2 ± 0,45				
<b>a*</b>	0	24,6 ± 0,27	24,7 ± 0,28	24,6 ± 0,20	0,108	<,0001	0,166
	3	22,0 ± 0,29	21,8 ± 0,30	21,9 ± 0,21			
	5	20,9 ± 0,40	20,6 ± 0,40	20,7 ± 0,28			
	7	18,8 ± 0,53	17,0 ± 0,54	17,9 ± 0,38			
	Média	21,5 ± 0,29	21,0 ± 0,23				
<b>b*</b>	0	17,8 ± 0,29	17,7 ± 0,30	17,7 ± 0,21	0,03	<,0001	0,331
	3	18,0 ± 0,23	17,6 ± 0,24	17,8 ± 0,17			
	5	17,7 ± 0,29	17,3 ± 0,29	17,5 ± 0,21			
	7	16,3 ± 0,42	14,9 ± 0,43	15,6 ± 0,30			
	Média	17,5 ± 0,19	16,9 ± 0,19				
<b>pH</b>	0	5,4 ± 0,01	5,4 ± 0,01	5,4 ± 0,01	0,07	<,0001	0,109
	3	5,4 ± 0,01	5,4 ± 0,01	5,4 ± 0,01			
	5	5,5 ± 0,01	5,5 ± 0,01	5,5 ± 0,01			
	7	5,5 ± 0,02	5,6 ± 0,02	5,5 ± 0,01			
	Média	5,5 ± 0,01	5,5 ± 0,01				
<b>TBARS (mg MDA/kg)</b>	0	0,2 ± 0,06	0,2 ± 0,06	0,2 ± 0,06	0,809	0,987	0,893
	3	0,2 ± 0,06	0,2 ± 0,06	0,2 ± 0,06			
	5	0,2 ± 0,06	0,2 ± 0,06	0,2 ± 0,06			
	7	0,2 ± 0,06	0,2 ± 0,06	0,2 ± 0,06			
	Média	0,2 ± 0,06	0,2 ± 0,06				

L\* = luminosidade (preto a branco); a\* = intensidade de vermelho (verde a vermelho); b\* = intensidade de amarelo (azul a amarelo); TBARS = substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico; MDA = malonaldeído.

#### 6.4. Análises microbiológicas

Não houve interação entre os tratamentos e o tempo de exposição na prateleira para as contagens de Mesófilos, Enterobactérias, *Bactérias Ácido-Láticas* e *Psicotróficos* (Tabela 6). No entanto, para *Pseudomonas* houve uma maior contagem no tratamento OE. O efeito do tempo em Mesófilos, Enterobactérias, *Bactérias Ácido-Láticas*, *Psicotróficos* e *Pseudomonas* foram observados. Os valores de contagem de todos esses microorganismos presentes na carne aumentaram durante o tempo de exibição no varejo.

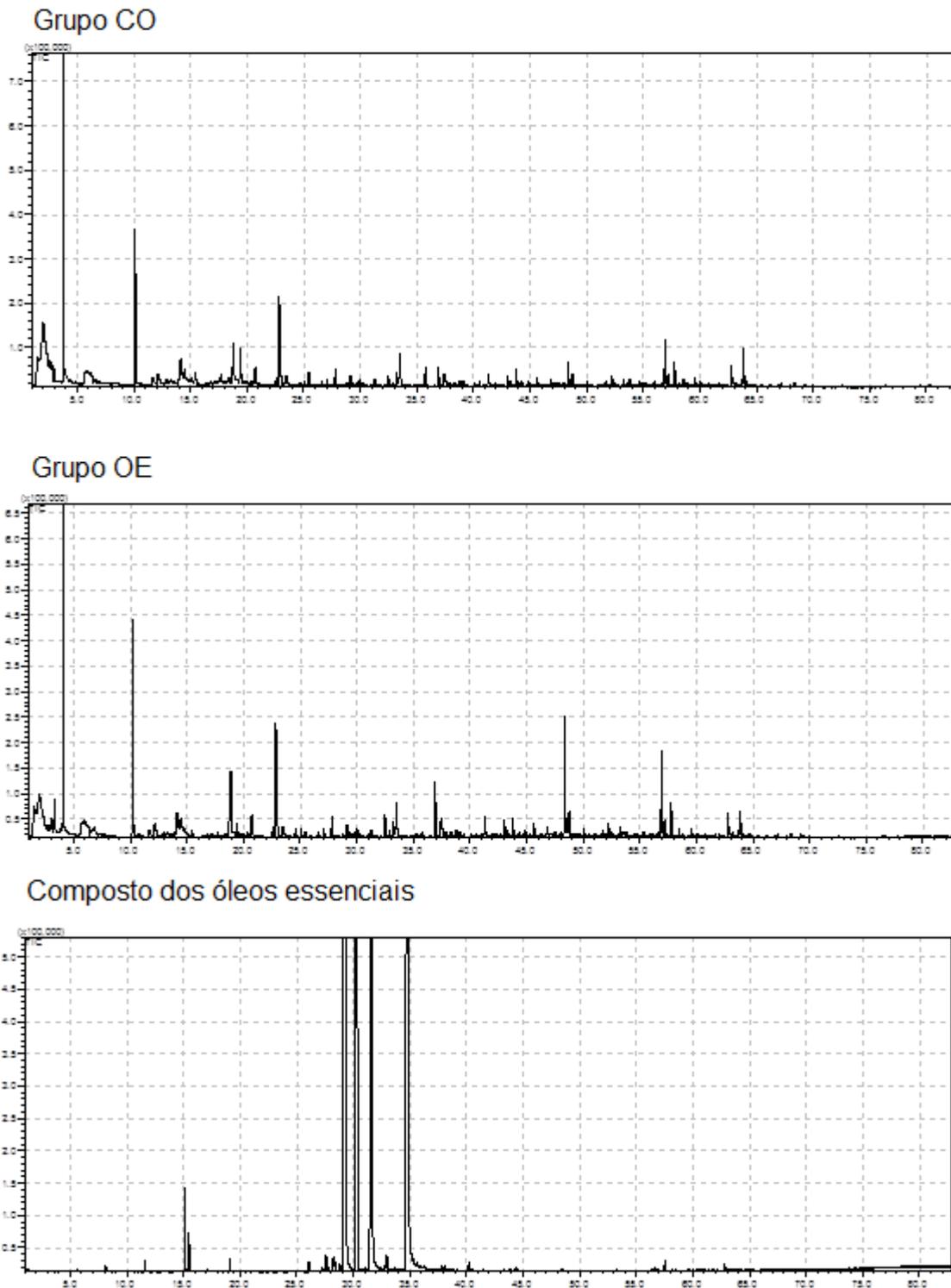
Tabela 6. Médias, erros-padrões da média e probabilidades ( $Pr > F$ ) das UFC nos dias 0, 3, 5 e 7 da carne sob condições simuladas de exposição em varejo

Microorganismo	Tempo	Controle	Óleos essenciais	Média	Pr > F		
					Tratamento	Tempo	Tratamento x Tempo
Mesófilos	0	2,2 ± 0,22	2,3 ± 0,22	2,2 ± 0,2	0,616	<0,001	0,082
	3	2,9 ± 0,25	2,8 ± 0,26	2,8 ± 0,21			
	5	3,8 ± 0,31	4,5 ± 0,29	4,1 ± 0,24			
	7	5,8 ± 0,38	4,8 ± 0,47	5,3 ± 0,32			
	Média	3,7 ± 0,21	3,6 ± 0,22				
Enterobactérias	0	1,9 ± 0,25	1,8 ± 0,24	1,9 ± 0,17	0,359	<0,001	0,338
	3	2,1 ± 0,13	2,3 ± 0,14	2,2 ± 0,1			
	5	2,8 ± 0,35	3,7 ± 0,34	3,3 ± 0,24			
	7	5,2 ± 0,44	5,0 ± 0,52	5,1 ± 0,34			
	Média	3,0 ± 0,16	3,2 ± 0,17				
Bactérias Ácido-Láticas	0	2,3 ± 0,38	2,3 ± 0,39	2,3 ± 0,36	0,546	<0,001	0,461
	3	4,0 ± 0,47	3,3 ± 0,45	3,7 ± 0,40			
	5	4,4 ± 0,49	4,9 ± 0,47	4,6 ± 0,41			
	7	5,6 ± 0,77	6,6 ± 0,68	6,1 ± 0,56			
	Média	4,1 ± 0,38	4,3 ± 0,37				
Psicotróficos	0	0,3 ± 2,22	-0,2 ± 2,23	0,1 ± 2,11	0,414	<0,001	0,956
	3	1,9 ± 2,04	1,7 ± 2,06	1,9 ± 2,02			
	5	3,0 ± 1,99	2,9 ± 1,99	2,9 ± 1,99			
	7	4,1 ± 2,01	3,7 ± 2,02	3,9 ± 2,00			
	Média	2,3 ± 2,00	2,0 ± 2,00				
Pseudomônas	0	1,2 ± 1,44	3,4 ± 1,33	2,3 ± 1,22	0,69	<0,001	0,056
	3	4,1 ± 1,83	4,3 ± 1,83	4,2 ± 1,46			
	5	12,8 ± 1,49	9,7 ± 1,52	11,3 ± 1,29			
	7	13,7 ± 1,48	15,7 ± 2,03	14,7 ± 1,44			
	Média	7,9 ± 1,10	8,3 ± 1,12				

\*As contagens das unidades formadoras de colônias foram transformadas em Log<sub>10</sub>.

## 6.5. Cromatografia gasosa associada à espectrometria de massas GC/MS

Figura 4. Gráficos gerados pelo cromatógrafo associado ao espectrômetro de massas para a carne do grupo controle, carne do grupo óleo essencial e o gráfico gerado pelo composto do óleo essencial utilizado na dieta puro, quando passado neste equipamento.



## **7.Discussão**

### **7.1.Desempenho, características de carcaça.**

O uso de óleos essenciais tem mostrado alterar o metabolismo ruminal (WILSON et al., 2020) melhorado a eficiência alimentar e a performance dos animais (ORNAGHI et al., 2017). Entretanto, a inclusão do composto de óleos essenciais não influenciou o peso de abate dos animais neste experimento. Resultados similares foram encontrados por Hernández et al. (2009) e Pukrop (2019), os quais forneceram um composto de óleos essenciais contendo carvacrol, cinamaldeído e capsaicina e, também, não observaram diferenças no peso final dos animais. Wilson et al. (2020), estudando um composto de óleos essenciais contendo óleo de palma e ácido fumarico também não encontraram diferença no peso ao abate.

Ornaghi et al. (2017) por outro lado, estudando óleos essenciais de cravo e canela, observaram que o ganho de peso e peso final foram maiores e, conseqüentemente, observaram maior peso e rendimento de carcaça fria em animais dos grupos tratados. Neste experimento não foi observado diferença no PCQ e RCQ, condizendo com similar peso ao abate encontrado entre os animais. Resultados similares foram observados por Wilson et al. (2020) onde animais tratados e controle apresentaram peso de abate similar e conseqüentemente similar peso de carcaça.

Além disso, a AOL não apresentou diferença entre os tratamentos. Monteschio (2017), Purkrop (2019) e Ornaghi et al. (2017), também não encontraram em seus trabalhos diferenças na medida de AOL entre os animais da dieta controle e os animais da dieta que receberam o composto de óleos essenciais. Ornaghi et al. (2020), por outro lado, observaram que animais que receberam o composto de óleos essenciais contendo Eugenol, Carvacrol, Cinamaldeído e extrato de pimenta contendo Capsaicina apresentaram menores valores de AOL que animais tratados. Por outro lado, a EGS foi maior no grupo suplementado com óleo essencial ( $P = 0,015$ ). Entretanto, Geraci et al. (2012) utilizando um composto contendo cinamaldeído, eugenol e capsicum não encontraram diferenças na EGS entre os animais que receberam a suplementação com o composto e o grupo controle.

## 7.2. Análises instrumentais

Alguns estudos demonstraram que os óleos essenciais podem influenciar a qualidade da carne (Rivaroli et al., 2016) e prolongar a vida útil da carne (Jayasena & Jo, 2013; Lucera, Costa, Conte, & Del Nobile, 2012). No entanto, presente estudo a inclusão de um composto de óleos essenciais contendo Eugenol, Carvacrol, Cinamaldeído e extrato de pimenta contendo Capsaicina, não influenciou as características de qualidade..

Para elucidar os resultados, foi realizado a cromatografia gasosa associada a espectrometria de massas para determinar se estes compostos que foram fornecidos aos animais via dieta, foram capazes de serem encontrados na carne. Entretanto os picos apresentados nos gráficos resultantes da cromatografia gasosa associada a espectrometria de massa, mostram que não foram detectados os compostos fenólicos destes óleos essenciais na carne, contrariamente como foi detectado por Vasta (2010). Por isso mais pesquisas são necessárias para avaliar se os compostos fenólicos podem ser transferidos da alimentação para o músculo e, em caso afirmativo, se eles podem exercer um efeito no metabolismo muscular.

O pH final não diferiu entre os tratamentos, resultado que corrobora com Rivarolli (2016) e Purkrop (2019), que também utilizaram combinações de óleos essenciais na dieta e seus efeitos nas características de qualidade de carne, não obtendo diferenças entre grupo controle e os grupos que receberam o óleo essencial via dieta. Os valores de cor ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) também não sofreram efeito do tratamento durante o período de maturação, indicando que a adição do composto de óleos essenciais na dieta não promoveu uma maior estabilidade da cor da carne.

Foi observado somente efeito de tempo, onde os valores de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  aumentaram ao longo dos dias de maturação. Em relação à FC, o grupo de animais que receberam os compostos dos óleos apresentam carnes mais macias e embora o comprimento de sarcômero tenha sido similar entre os tratamentos, mesmo o grupo controle não tendo apresentado o mínimo de 3 mm de EGS, recomendado para que não haja encurtamento do pelo frio. Além disso, o índice de fragmentação miofibrilar foi similar entre os grupos, sugerindo que o principal fator mensurado que possa ter provocado uma maior FC no grupo controle seja a maior perda por cocção na carne desses animais. De acordo com Purchas (1990), menores perdas por cocção farão com que a área da seção transversal da amostra contenha mais água e menor

proporção de componentes estruturais, fazendo com que se tenha uma menor força de cisalhamento.

Nenhum efeito da dieta foi observado para o conteúdo total de lipídios (Tabela 4). Como também não foi observado efeito sobre as características de vida de prateleira, o que não era esperado (Tabela 5), uma vez que os óleos essenciais são conhecidos por prevenir a oxidação de lipídios e proteínas devido à sua capacidade antioxidante, conforme relatado por Simitzis et al. (2008). Tauer (2019) trabalhando com frangos de corte suplementados com óleo essencial de orégano também não encontrou diferenças na oxidação lipídica, embora isso possa ser devido ao baixo teor de lipídios nos peitos dos frangos.

Resultados de pH semelhantes foram encontrados por Simitzi et al. (2010) trabalhando com suínos em terminação alimentados com óleo essencial de orégano e Yagoubi (2018) trabalhando com cordeiros suplementados com óleo essencial de alecrim. Além disso, conforme relatado por Simitzis et al. (2010) e Smeti et al. (2013), não foram observadas alterações na estabilidade de armazenamento de suínos e cordeiros suplementados com OE. No entanto, foi observado efeito do tempo na cor, pH e TBARS (Tabela 5). Os valores de cor da carne diminuíram enquanto a formação de TBARS aumentou ao longo do tempo de exibição no varejo, o que era esperado uma vez que a oxidação de lipídios e mioglobina desempenha um papel importante no estabelecimento e descoloração da carne ao longo do tempo de armazenamento, devido ao contato com o oxigênio (SHANGE et al., 2018).

### **7.3. Análises microbiológicas**

As propriedades antimicrobianas dos óleos essenciais plantas têm sido reconhecidas, o que se torna uma estratégia interessante para estender a vida útil de carnes e derivados. A utilização dos OE permite inibir o crescimento de várias bactérias patogênicas e microrganismos deteriorantes que muitas vezes, os compostos sintéticos às vezes não conseguem eliminar. (NUNTAR et al., 2018). Em função da ação antimicrobiana que dos óleos essenciais, era esperado que a sua utilização via dieta, traria benefícios para a carne com um prolongamento da vida de prateleira. Foi somente, no dia 5 da simulação da vida de prateleira, que houve uma redução das unidades formadoras de colônias de pseudomonas. Como também não foi possível encontrar os compostos dos óleos na carne, parte se do princípio que esta

redução, somente em um dia e somente em um microrganismo seja devido a algum efeito não relacionado aos tratamentos utilizados.

## **8. Conclusão**

O fornecimento do composto de óleos essenciais na dieta dos animais, não influencia a maioria das características de qualidade da carne. Entretanto, a espessura da gordura, as perdas por cocção, força de cisalhamento e Pseudomonas foram afetadas positivamente pela suplementação com o composto de óleos essenciais contendo Eugenol, Carvacrol, Cinamaldeído e extrato de pimenta contendo Capsaicina. Em geral, a inclusão desses compostos na dieta não diminui a descoloração e a oxidação lipídica na carne.

## 9. Referências.

- ACEVEDO, F. A.; SALVIA, T. L.; ROJAS, G. MA.; MARTÍN, B. O. Edible films from essentialoil-loaded nanoemulsions: Physicochemical characterization and antimicrobial properties. *Food Hydrocolloids* 47: 168–177, 2015.
- ALLEN, E.; FOEGEDING, E. A. Some lipid characteristics and interactions with muscle foods: a review. *Food Technology*, Chicago, v.35, n.5, p.253-257, 1981.
- AMSA. Research guidelines for cookery, sensory evaluation, and instrumental tenderness measurements of meat. 2. ed. Champaign, Illinois: American Meat Science Association, 2015.
- APHA. Committee on Microbiological Methods for Foods. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4. ed. Washington. 676p. APHA, 2001.
- AQUINO, L. C. L.; SANTOS, G. G.; TRINDADE, R. C.; ALVES, J. A. B.; SANTOS, P. O.; ALVES, P. B.; BLANK, A. F.; CARVALHO, L. M. Atividade Antimicrobiana Dos Óleos Essenciais De Erva Cidreira E Manjeriçao Frente a Bactérias De Carnes Bovinas. *Alimentos e Nutrição*, 21, 529– 535, 2010.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils: A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475, 2008.
- BARON, C. P.; ANDERSEN, H. J. Myoglobin-induced lipid oxidation. A review. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 50, n. 14, p. 3887-3897, 2002.
- BASSOL, E.; JULIANI, H.R. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules*, 2012.
- BENCHAAR, C.; CALSAMIGLIA, S.; CHAVES, A. V.; FRASER, G. R.; COLOMBATTO, D.; MCALLISTER, T. A.; BEAUCHEMIN, K. A. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology*, 145(1–4), 209–228, 2008.
- BENTO, M.; OUWEHAND, A.; TIIHONEN, K.; LAHTINEN, S.; NURMINEN, P.; SAARINEN, M. Essential oils and their use in animal feeds for monogastric animals- Effects on feed quality, gut microbiota, growth performance and food safety: a review. *Vet Med*; 58:449 - 58, 2013.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, v. 37, n. 8, p. 911–917, 1959.

BOTSOGLOU, N.A. Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues. *British Poultry Science*, v.43, n.2, p.223–230, 2002.

BOUVARD, V.; LOOMIS, D.; GUYTON, K. Z.; GROSSE, Y.; GHISSASSI, F. E. I; BENBRAHIM-TALLAA, L.; GUHA, N.; MATTOCK, H.; STRAIF, K. Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. *The Lancet. Oncology*, v. 16, n. 16, p. 1599–1600, 2015.

BRENES, A.; ROURA, E. Essential oils in poultry nutrition: main effects and modes of action. *Anim Feed Sci Technol*; 158: 1 - 14, 2010.

BURT, S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods. A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94 (3), pp. 223-253, 2004.

CANDO, D.; MORCUENDE, M.; UTRERA, M.; ESTÉVEZ. Phenolic-rich extracts from Willowherb (*Epilobium hirsutum* L.) inhibit lipid oxidation but accelerate protein carbonylation and discoloration of beef patties. *Eur. Food Res. Technol.*, 238, pp. 741-751, 2014.

CASTILHO, C.; PEREIRA, V.; ABUELO, A.; HERNÁNDEZ, J. Effect of Supplementation with Antioxidants on the Quality of Bovine Milk and Meat Production. *The ScientificWorld Journal*. p.8, 2013.

CHAIJAN, M. Review: lipid and myoglobin oxidations in muscle foods. *Songklanakarin Journal of Science & Technology*, 30(1), 47–53, 2008.

CHAVES, A. V.; STANFORD, K.; GIBSON, L .L.; MCALLISTER, T. A; BENCHAAAR, C. Effects of carvacrol and cinnamaldehyde on intake, rumen fermentation, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. *Animal Feed Science Technology*, v.45, p. 396-408, 2008.

CIE. Technical report: colorimetry. 3. ed. Viena: CIE Central Bureau, 1986.

COMPENDIUM of methods for the microbiological examination of foods. 3.ed. Washington: APHA. 676p, 2001.

CONNER, D. E.; BEUCHAT, L. R. Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. *Journal of Food Science*, 49, 429–434, 1984.

COTELLE, N. Role of flavonoids in oxidative stress. *Curr. Top. Med. Chem.*, 1, 569–590, 2001.

COTRIM, J. R. Desenvolvimento de habilidades motoras fundamentais em crianças com diferentes contextos escolares. *Journal of Physical Education*, v. 22, n. 4, p. 523–533, 2011.

CROSS, H. R.; WEST, R. L.; DUTSON, T. R. Comparison of methods for measuring sarcomere length in beef semitendinosus muscle. *Meat Science*, v. 5, n. 4, p. 261–266, 1981.

DAGLIA, M. Polyphenols as antimicrobial agents. *Current opinion in biotechnology*, v. 23, n. 2, p. 174–181, 2012.

DAIRAM, A.; FOGEL, R.; DAYA, S.; LIMSON, J. L. Antioxidant and iron-binding properties of curcumin, capsaicin, and S-allylcysteine reduce oxidative stress in rat brain homogenate. *J Agric Food Chem* 56, 3350–6, 2008.

DAVIES, K. J. A. Protein damage and degradation by oxygen radicals. General aspects *Journal of Biological Chemistry*, 262, pp. 9895–990, 1987.

DECKER, E. A. ; XU, Z. Minimizing rancidity in muscle foods. *Food Technology*, 52 (10), 54–59, 1998.

DEVATKAL, S. K. Comparative antioxidant effect of aqueous extracts of curry leaves, fenugreek leaves and butylated hydroxytoluene in raw chicken patties. *Journal of food science and technology*, v. 49, n. 6, p. 781–785, 2012.

DEVATKAL, S. K.; NARSAIAH, K.; BORAH, A. Anti-oxidant effect of extracts of kinnow rind, pomegranate rind and seed powder in cooked goat meat patties. *Meat Science*, 85, 155–159, 2010.

DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88(2), 308–316, 2000.

- DUSKOVÁ, E.; DUSEK, K.; INDRÁK, P.; SMÉKALOVÁ, K. Postharvest changes in essential oil content and quality of lavender flowers. *Industrial Crops and Products*, 79 225–231, 2016.
- ESTERBAUER, H. Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation products. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.57, n.5, p.S779-S786, 1993.
- ESTÉVEZ, M. Protein carbonyls in meat systems: A review *Meat Science*, 89 (3), pp. 259-279, 2011.
- ESTEVEZ, M.; CAVA, R. Lipid and protein oxidation, release of iron from heme molecule and colour deterioration during refrigerated storage of liver pate. *Meat Science*, 68, 551–558, 2004.
- ESTEVEZ, M.; VENTANAS, S.; CAVA, R. Oxidation of lipids and proteins in frankfurters with different fatty acid compositions and tocopherol and phenolic contents. *Food Chemistry*, 100, 55–63, 2007.
- FALOWO, A.B.; FAYEMI, P.O.; MUCHENJE, V. Natural antioxidants against lipid protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Research International*, 64, 171–181, 2014
- FARAG, R.S. Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *Journal of Food Protection*, v.52, n.9, p.665-667, 1989.
- FAUSTMAN, C. Food from supplement-fed animals. In J. Smith (Ed.), *Technology of Reduced Additive Foods*, 2nd ed. Ames, Iowa: Blackwell, Publ. Ch.8, 2004.
- FAUSTMAN, C.; NAVEENA, B. M.; SHUANG, Y.; TATIYABORWORNTHAM, N. Oxidation and protection in red meat. *Oxidation in Foods and Beverages and Antioxidant Applications*. Woodhead Publishing Ltd. London, 2010.
- FDA .CFR – Code of Federal Regulations title 21, volume 3, revised as of April 1, part 182 – substances generally recognized as safe (GRAS) subpart A – general provisions se. 182.20 essential oils, oleoresins (solvent-free), and natural extractives, 2013.
- FERNANDES, R.P.P.; FREIRE, M.T.A.; DE PAULA, E.S.; KANASHIRO, A.L.; CATUNDA, F.A.; ROSA, A.F. Stability of lamb loin stored under refrigeration and packed in different modified atmosphere packaging systems. *Meat Science*, 96, 554–561, 2014.

FILIP, S.; VIDOVIĆ, S.; VLADIĆ, J.; PAVLIĆ, B.; ADAMOVIĆ, D.; ZEKOVIĆ, Z. Chemical composition and antioxidant properties of *Ocimum basilicum* L. extracts obtained by supercritical carbon dioxide extraction: Drug exhausting method. *The Journal of Supercritical Fluids*, 109, 20-25, 2016.

FITZGERALD, D. J.; STRATFORD, M.; GASSON, M. J.; NARBAD, A. The potential application of vanillin in preventing yeast spoilage of soft drinks and fruit juices. *Journal of Food Protection*, 67 (2), pp. 391-395, 2004.

FRANZ, C.; BASER, K.; WINDISCHW. Essential oils and aromatic plants in animal feeding-a European perspective. A review. *Flavour Fragr J*, 25, 327- 40, 2010.

FUGITA, C. A.; VALERO, R. M.; BONAFÉ, M. V.; PRADO, I. N.. Effect of the inclusion of natural additives on animal performance and meat quality of crossbred bulls (Angus× Nellore) finished in feedlot. *Animal Production Science*, v. 58, n. 11, p. 2076-2083, 2018.

GEORGE, P.; IRVINE, D.H. The reaction between metmyoglobin and hydrogen peroxide. *Biochem J.* Nov;52(3):511–517, 1952.

GEORGE, P.; STRATMANN, C. J. The oxidation of myoglobin to metmyoglobin by oxygen. The relation between the first order rate constant and the partial pressure of oxygen. *Biochem. J.* 51:418-425, 1952.

GIANNENAS, I.; BONOS, E.; CHRISTAKI, E.; FLOROU-PANERI, P. Essential oils and their applications in animal nutrition. *Med Aromat Plants*; 2:1-12, 2013.

GORDON, M.H. The mechanism of antioxidant action in vivo. In: *Food Antioxidants*. London: Elsevier; Hudson B.J.F (eds). pp. 1-18, 1990.

GOTOH, T.; SHIKAMA, K. Generation of the superoxide radical during autoxidation of oxymyoglobin. *J. Biochem. Tokyo*, 80, pp. 397-399, 1976.

Greene, B. E. Lipid oxidation and pigment changes in raw beef. *Journal of Food Science*, 34, 110–113, 1969.

GREENE, B. E.; HSIN, I.; ZIPSER, M. W. Retardation of oxidative color change in raw ground beef. *Journal of Food Science*, 36, 940–944, 1971.

HANCI, D.; ALTUN, H.; ÇETINKAYA, E. A.; MULUK, N.B.; CENGİZ, B.P.; CINGI, C. Cinnamaldehyde is an effective anti-inflammatory agent for treatment of allergic rhinitis in a rat model. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 84, 81–87, 2016.

HAREL, S.; KANNER, J. Muscle membranal lipid peroxidation initiated by hydrogen peroxide-activated metmyoglobin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 33, n. 6, p. 1188-1192, 1985.

HAYES, J.E.; ALLEN, P.; BRUNTON, N.; O'GRADY, M.N.; KERRY, J.P. Phenolic composition and in-vitro antioxidant capacity of four commercial phytochemical products: Olive leaf extract (*Olea europaea* L.), lutein, sesamol and ellagic acid. *Food Chemistry*, 126, 948–955, 2010.

HIGUERA, C. I.; FELIX, V. L.; GOYCOOLEA, F. M. Astaxanthin: A review of its chemistry and applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(2), 185–196, 2006.

HIPPENSTIEL, F.; ABDEL WARETH, A.; KEHRAUS, S.; SÜDEKUM, K. Effects of selected herbs and essential oils, and their active components on feed intake and performance of broilers. A review. *Arch Geflügelk*;75: 226 - 34, 2011.

JAGANATHAN, S.K.; MAZUMDAR, A.; MONDHE, D.; MANDAL, M. Apoptotic effect of eugenol in human colon cancer cell lines. *Cell Biol. Int.* 35, 607–615, 2011.

JAYASENA, D. D.; JO, C. Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 34(2), 96–108, 2013.

JOSHI, R. K. Chemical constituents and antibacterial property of the essential oil of the roots of *Cyathocline purpúrea*. *Journal of Ethnopharmacology*, 145, 621–625, 2013.

KAMEL, C. A novel look at a classic approach of plant extracts (special number). *Feed Mix - The International Journal on Feed, Nutrition and Technology*, v.9, n.6, p.19-24, 2000.

KANNER, J. Oxidative processes in meat and meat products: quality implications. *Meat Science*, 36, 169–186, 1994.

KANNER, J.; HAREL, S. Initiation of membranal lipid peroxidation by activated metmyoglobin and methemoglobin. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 237, n. 2, p. 314-321, 1985.

- KARABAGIAS, I.; BADEKA, A.; KONTOMINAS, M.G. Shelf life extension of lamb meat using thyme or oregano essential oils and modified atmosphere packaging. *Meat Sci*, 88, 109–116, 2011.
- KOGURE, K.; GOTO, S.; NISHIMURA, M. Mechanism of potent antiperoxidative effect of capsaicin. *Biochim Biophys Acta* 1573: 84–92, 2002.
- KOROCH, A. R.; ZYGADLO, J. A.; JULIANI, H. R. Bioactivity of Essential oils and their componentes. *Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 87-115, 2007.
- KUMAR, Y.; YADAV, D.N.; AHMAD, T.; NARSAIAH, K. Recent Trends in the Use of Natural Antioxidants for Meat and Meat Products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 14: 796–812, 2015.
- LADIKOS, D.; LOUGOVOIS, V. Lipid oxidation in muscle foods: A review. *Food Chemistry*, 35 (4), pp. 295-314, 1990.
- LAGUERRE, M.; LECOMTE, J.; VILLENEUVE, P. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: existing methods, new trends and challenges. *Progress in Lipid Research*, 46, 244-282, 2007.
- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; Cox, M. M.; Cox, M. M. *Lehninger principles of biochemistry*. Macmillan, 2005.
- LIU, C .; ZHANG, Y .; YANG, X .; LIANG, R .; MAO, Y .; HOU, X .; LUO, X. Potential mechanisms of carbon monoxide and high oxygen packaging in maintaining color stability of different bovine muscles. *Meat Science*, 97, pp. 189-196, 2014.
- LUCERA, A.; COSTA, C.; CONTE, A.; DEL NOBILE, M. A. Food applications of natural antimicrobial compounds. *Frontiers in Microbiology*, 3, 1–13, 2012.
- LUND, M. N.; HEINONEN, M.; BARON, C. P.; ESTÉVEZ, M. Protein oxidation in muscle foods: A review. *Molecular nutrition & food research*, 55(1), 83-95, 2011.
- MAISUTHISAKUL, P.; SUTTAJIT, M.; PONGSAWATMANIT, R. Assessment of phenolic content and free radical- scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chemistry* 100: 1409–1418, 2007.

- MANGENA, T.; MUYIMA, N. Y. O. Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of *Artemisia afra*, *Pteronia incana* and *Rosmarinus officinalis* on selected bacteria and yeast strains. *Letters in applied microbiology*, v. 28, n. 4, p. 291-296, 1999.
- MARINO, M.; BERSANI, C.; COMI, G. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. *International journal of food microbiology*, v. 67, n. 3, p. 187-195, 2001.
- MARTÍNEZ, V. I.; PERIAGO, M.J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de La dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 50(1): 5-18, 2000.
- MCDONNELL, G.; RUSSELL, A.D. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(1), 147, 1999.
- MELLOR, S. Herbs and spices promote health and growth. *Pig Progress*, v.16, n.4, p.18-21, 2000.
- MENG, T.; LIU, Y.; QIU, C.; WANG, X. Research progress on protein oxidation mechanisms and its effects on meat quality *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 15 (1), pp. 173-181, 2015.
- MONTESCHIO, J. O.; SOUZA, K. A.; VITAL, A. C. P.; GUERREIRO, A.; VALERO, M. V.; KEMPINSKI, E. M. B. C.; & PRADO, I. N. Clove and rosemary essential oils and encapsulated active principles (eugenol, thymol and vanillin blend) on meat quality of feedlot-finished heifers. *Meat Science*, 130, 50-57, 2017.
- MORA, L.; GALLEGO, M.; CONCEPCIÓN, M. A.; TOLDRA, F. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, Valencia, Spain, Elsevier, 2018.
- MOYO B.; MASIKA P.J.; MUCHENJE V. Effect of feeding Moringa (*Moringa oleifera*) leaf meal on the physico-chemical characteristics and sensory properties of goat meat. *South African Journal of Animal Science*, 44, pp. 64-70, 2014.
- NAMIKI, M. Antioxidants/ antimutagens in food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 29:273-300, 1990.
- NAVAJAS, R. Y.; MARTOS, V. M.; SENDRA, E.; ALVAREZ, P.; JA, LÓPEZ, F. J. In vitro antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with *Thymus moroderi* or *Thymus piperella* essential oils. *Food Control* 30: 386–392, 2013.

NAVEENA, B.; MUTHUKUMAR, M.; SEN, A.; PRAVEEN KUMAR, Y.; KIRAN, M. Use of cinnamaldehyde as a potential antioxidant in ground spent hen meat. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38 (4), pp. 1911-1917, 2014.

NEGI, P. S. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. *International journal of food microbiology*, v. 156, n. 1, p. 7-17, 2012.

NUTE, G. R.; RICHARDSON, R. I.; WOOD, J. D.; HUGHES, S. I.; WILKINSON, R. G.; COOPER, S. L. Effect of dietary oil source on the flavor and the colour and lipid stability of lamb meat. *Meat Science*, 77, 547–555, 2007.

O'GRADY, M. N.; MONAHAN, F. J.; MOONEY, M. T.; BUTLER, F.; BUCKLEY, D. J.; KERRY, J. Inhibition of oxymyoglobin oxidation by vitamin E. *Proceedings of the 42nd international congress of meat science and technology*,. Hildrum, K. I. p.100–101, 1996.

O'BRYAN, C.A.; PENDLETON, S.J.; CRANDALL, P.G.; RICKE, S.C. Potential of plant essential oils and their components in animal agriculture-in vitro studies on antibacterial mode of action. *Front Vet Sci*; 2: 1 - 8, 2015.

ORNAGHI, M. G.; GUERRERO, A.; VITAL, A. C. P.; SOUZA, K. A.; PASSETTI, R. A. C.; MOTTIN, C.; PRADO, I. N. Melhorias na qualidade da carne de bovinos de corte alimentados com aditivos naturais. *Meat Science* , v. 163, p. 108059, 2020.

OUSSALAH, M. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157: H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food control*, v. 18, n. 5, p. 414-420, 2007.

PAPUC, C. Plant polyphenols as antioxidant and antibacterial agents for shelf-life extension of meat and meat products: classification, structures, sources, and action mechanisms. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 16, n. 6, p. 1243-1268, 2017.

PEREIRA, D. M.; VALENTÃO, P.; PEREIRA, J. A.; ANDRADE, P. B. Phenolics: From chemistry to biology. *Molecules*, 14, 2202–2211, 2009.

PRADO, I. N.; CRUZ, O. T. B.; VALERO, M. V.; ZAWADZKI, F.; EIRAS, C. E.; RIVAROLI, D. C.; VISENTAINER, J. V. Effects of glycerin and essential oils

(*Anacardium occidentale* and *Ricinus communis*) on the meat quality of crossbred bulls finished in a feedlot. *Animal Science Production*, 56, 2105–2114, 2016.

RIVAROLI, D.C.; GUERRERO, A.; VALERO, M. V.; ZAWADZKI, F.; EIRAS, C. E.; CAMPO, M. M.; SANUDO, C.; JORGE, A.M.; PRADO. Effect of essential oils on meat and fat qualities of crossbred young bulls finished in feedlots. *Meat Science* 121, 278–284, 2016.

ROTH, W. F.; MOSKOVSKICH, A.; GOMEZ, C. C., DIAZ, P. A.; OIDA, K.; SINGER, J.; KINACIYAN, T.; FUCHS, H.C.; JENSEN, J. E. Immune suppressive effect of cinnamaldehyde due to inhibition of proliferation and induction of apoptosis in immune cells: implications in cancer. *PLoS One* 9, 2014.

ROWE, L. J.; MADDOCK, K. R.; LONERGAN, S. M.; HUFF-LONERGAN, E. Influence of early postmortem protein oxidation on beef quality. *Journal of Animal Science*, 82, pp. 785-793, 2004.

RUBERTO, G.; BARATTA, M. T. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chemistry*, 69, 167–174, 2000.

SAKAI, T.; YAMAUCHI, K.; KUWAZURU, S.; GOTOH, N. Relationships between 4-hydroxy-2-nonenal, 2-thiobarbituric acid reactive substances and n-6 polyunsaturated fatty acids in refrigerated and frozen pork. *Bioscience, Biotechnology & Biochemistry*, 62, 2028–2092, 1998.

SANS, P; COMBRIS, P. Corrigendum to " World meat consumption patterns: An overview of the last fifty years (1961-2011)" [*Meat Science*, Vol. 109 (2015), 106-111]. *Meat science*, v. 114, p. 154, 2016.

SEOW, Y.X.; YEO, C.R.; CHUNG, H.L.; YUK, H.G. Plant essential oils as active antimicrobial agents. *Crit Rev Food Sci Nutr*; 54: 625 - 44, 2014.

SEVANI, A.; HOCHSTEIN, P. Mechanisms and consequences of lipid peroxidation in biological systems. *Annual Reviews of Nutrition*, Palo Alto, v.5, p.365-390, 1985.

SIES, H.; STAHL, W.; SEVANI, A. Nutritional, dietary and postprandial oxidative stress. *The Journal of nutrition*, 135(5), 969-972, 2005.

SIU, G. M.; DRAPER, H. H. A survey of the malonaldehyde content of retail meats and fish. *Journal of Food Science*, 43, 1147–1149, 1978.

SOL, O. S. F.; MIRANDA, N. M. G. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Curr Opin Biotechnol*;23:136e41, 2012.

SORENSEN, G.; JORGENSEN, S. T. A critical examination of some experimental variables in the 2-thiobarbituric acid (TBA) test for lipid oxidation in meat products. *Z Lebensm Unters Forsch*, v. 202, n. 3, p. 205–210, 1996.

STADTMAN, E.R. Oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins by radiolysis and by metal-catalyzed reactions. *Annu. Rev. Biochem.* 62, 797–821,1993.

TAJIMA, G.; SHIKAMA, K. Autoxidation of oxymyoglobin: an overall stoichiometry including subsequent side reactions. *J. Biol. Chem.* 262:12603-12606, 1987.

TZAKOU, O. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Salvia ringens*. *Planta Medica*, v.67, n.1, p.81-83, 2001.

USDA. Livestock and Poultry: World Markets and Trade. United States Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service, p. 4, 2018. Disponível em: <[https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock\\_poultry.pdf](https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf)>.

UTRERA, M.; MORCUENDE, D.; GANHÃO, R.; ESTÉVEZ, M. Role of phenolics extracting from *rosa canina* l. on meat protein oxidation during frozen storage and beef patties processing *Food Bioprocess Technol*, 8, pp. 854-864, 2015.

VALERO, M. V.; TORRECILHAS, J. A.; ZAWADZKI, F.; BONAFE, E. G.; MADRONA, G. S.; PRADO, R. M. D.; PRADO, I. N. D. Propolis or cashew and castor oils effects on composition of *Longissimus thoracis* muscle of crossbred bulls finished in feedlot. *Chilean journal of Agricultural Research*, 74, 445–451, 2014.

VATANSEVER, L.; KURT, E.; ENSER, M.; NUTE, G. R.; SCOLLAN, N. D.; WOOD, J. D.; RICHARDSON, R. I. Shelf life and eating quality of beef from cattle of different breeds given diets differing in n-3 polyunsaturated fatty acid composition. *Animal Science*, v. 71, p. 471–482, 2000.

VIEIRA, C.; DIAS, M.T.; MARTÍNEZ, B.; GARCÍA-CACHÁN, M.D. Effect of frozen storage conditions (temperature and length of storage) on microbiological and sensory quality of rustic crossbred beef at different states of ageing. *Meat Science.*, v. 83, p.398–404, 2009.

- VYNCKE, W. Evaluation of the direct thiobarbituric acid extraction method for determining oxidative rancidity in mackerel (*Scomber scombrus* L.). *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, v. 77, n. 6, p. 239–240, 1975.
- WEI, A.; SHIBAMOTO, T. Antioxidant/lipoxygenase inhibitory activities and chemical compositions of selected essential oils. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 58, 7218–7225, 2010.
- WENK, C. Herbs and botanicals as feed additives in monogastric animals. *Asian-Australas. J Anim Sci*;16:282 - 9, 2003.
- WHEATLEY, R.A. Some trends in the analytical chemistry of lipid peroxidation. *Trends in Analytical Chemistry*, 19(10):617-628, 2000.
- WINDISCH, W.; SCHEDULE, K.; PLITZNER, C.; KROISMAYR, A. Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *J Anim Sci*;86:140 - 8, 2008.
- WOJCIAK, K. M.; DOLATOWSKI, Z. J. Oxidative stability of fermented meat products. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 11, 99-109, 2012.
- XU, J. The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against *Escherichia coli*. *Letters in applied microbiology*, v. 47, n. 3, p. 174-179, 2008.
- YUAN, G.; CHEN, X.; LI, D. Chitosan films and coatings containing essential oils: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food systems. *Food Research 22 International*, 89, 117-128, 2016.
- ZAKRYS, W. P. I.; O'SULLIVAN, M. G.; ALLEN, P.; O'NEILL, E. E.; KERRY, J. P. Investigation of the effects of commercial carcass suspension (24 and 48 h) on meat quality in high oxygen modified atmosphere packed beef steaks during chill storage. *Food Research International*, 43, 277–284, 2010.
- ZHU, C.; HAN, W.; CHEN, Z.; HAN, Z. Statistical optimization of microwave assisted astaxanthin extraction from *Phaffia rhodozyma*. *Biomedical engineering and informatics (BMEI)*, 3rd international conference on IEEE, 2010.

## 10. Apêndice

Antes de se iniciarem as análises microbiológicas da carne, foi realizado um teste piloto para determinação de quais diluições seriam utilizadas em cada tempo da vida de prateleira (dias 0, 3, 5 e 7).

Amostras de um estabelecimento comercial foram colocadas em um display pelos tempos 0, 3,5 e 7 para realização das análises de microbiologia. Após o processo de diluição, plaqueamento e contagem de UFC, o parâmetro utilizado para a escolha das diluições que seriam feitas nas posteriores análises foram as que diluições em que as UFC obtidas estavam no intervalo entre 25 e 250 UFC por placa.

Primeiramente, foram pesados 25 gramas de carne e colocado em garrafas com água peptonada a 0,1%, em seguida, a diluição inicial foi obtida a partir da própria referida solução, enquanto que a diluição  $10^{-1}$  foi obtida a partir da mistura de 1 ml da referida solução com 9 ml de água peptonada a 0,1% e assim sucessivamente até alcançar a diluição necessária para cada tempo.

Para o tempo 0 neste teste piloto foram feitas 4 diluições, da diluição inicial até a diluição  $10^{-3}$ , e após todo o processo de diluição, plaqueamento e contagem de UFC, foram determinadas que as diluições utilizadas seriam as que estavam no intervalo da diluição inicial até a diluição  $10^{-2}$ .

Para o tempo 3 e 5 neste mesmo teste piloto foram feitas 5 diluições, de da inicial até a diluição  $10^{-4}$ , e após todo o processo de diluição, plaqueamento e contagem de UFC, foram determinadas que as diluições utilizadas seriam as que estavam no intervalo da diluição  $10^{-1}$  até a diluição  $10^{-3}$ .

Enquanto que para o tempo 7, foram feitas 5 diluições, diluição  $10^{-2}$  até a diluição  $10^{-6}$ , e após todo o processo de diluição, plaqueamento e contagem de UFC, foram determinadas que as diluições utilizadas seriam as que estavam no intervalo da diluição  $10^{-3}$  até a diluição  $10^{-5}$ .