

# Avaliação do valor de TBARS em coxas de frangos irradiadas

## TBAR values assessment in irradiated chicken legs

RIALA6/1102

Luciana MIYAGUSKU<sup>1</sup>, Marcelo THOMAZINI<sup>2</sup>, Arnaldo Yoshiteru KUAYE<sup>2</sup>, Carmen Josefina Contreras CASTILLO<sup>3\*</sup>

\*Endereço para correspondência: ESALQ, Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, Av. Pádua Dias, 11, Caixa Postal 9. CEP 13418-900, Piracicaba/SP. Telefone: (19)3429-4196, e-mail: ccastill@esalq.usp.br

<sup>1</sup>Centro de Tecnologia de Carnes/ITAL, Campinas/São Paulo.

<sup>2</sup>Departamento de Tecnologia de Alimentos/ Faculdade de Engenharia de Alimentos/UNICAMP, Campinas/São Paulo.

<sup>3</sup>Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição/ ESALQ, Piracicaba/São Paulo.

Recebido: 17/11/2006 – Aceito para publicação: 30/04/2007

### RESUMO

O efeito da radiação ionizante em coxas de frango cruas embaladas a vácuo e sob atmosfera modificada e armazenadas a  $4\pm 1$  °C foi avaliado a partir da análise de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Para amostras embaladas a vácuo foram observados aumentos gradativos nos valores de TBARS conforme o aumento da dose de radiação ionizante para os diferentes dias de armazenamento, porém as diferenças não foram significativas ( $p>0,05$ ) até o 14º dia quando os respectivos períodos foram comparados. Amostras irradiadas com 1,5 kGy e 3,0 kGy e embaladas sob atmosfera modificada apresentaram valores de TBARS significativamente ( $p<0,05$ ) menores em relação às respectivas amostras embaladas a vácuo, exceto no 20º e 26º dia de armazenamento. Os maiores valores de TBARS foram obtidos para as amostras irradiadas com 7,0 kGy com médias de 2,13 e 1,52 mg.kg<sup>-1</sup> de malonaldeído em embalagem a vácuo e sob atmosfera modificada respectivamente.

**Palavras-chave.** embalagem, frango, malonaldeído, oxidação lipídica, radiação ionizante.

### ABSTRACT

The effect of ionizing radiation in raw, vacuum and modified atmosphere packed chicken legs and storage at  $4\pm 1$  °C was evaluated on the basis of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) The vacuum-packed samples exhibited a gradual increase in TBARS values proportional to the radiation dose in the course of the storage period, but the differences were not statistically significant ( $p>0.05$ ) up to the fourteenth day when the samples exposed to the different radiation doses applied were compared. Samples irradiated with 1.5 kGy and 3.0 kGy and packaged under modified atmosphere showed significantly lower TBARS values as compared to the vacuum-packaged samples, except after 20 and 26 days storage. The maximum TBARS values were obtained from samples irradiated with 7.0 kGy, with mean values of 2.13 and 1.52 mg.kg<sup>-1</sup> of malonaldehyde, for the vacuum and modified atmosphere packages respectively.

**Key words.** packaging; chicken; malonaldehyde; lipid oxidation; ionizing irradiation.

## INTRODUÇÃO

Entre as metodologias analíticas disponíveis para acompanhar e compreender o processo de oxidação lipídica em alimentos se destaca a determinação do valor de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS). O método permite quantificar o grau de oxidação lipídica do alimento baseado na reação de cor entre malonaldeído e o ácido 2-tiobarbitúrico.

As substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico são preferencialmente formadas a partir da clivagem de ácidos graxos com duplas ligações. Os hidroperóxidos formados podem originar compostos contendo grupamentos carbonílicos, sendo o malonaldeído o principal alcadienal relacionado com o processo de oxidação lipídica<sup>1,2,3</sup>.

Os primeiros observadores da coloração rosada produzida pela reação entre TBA e produtos da degradação de lipídios foram Kohn e Liversedge<sup>4</sup>. Porém, utilizou-se pela primeira vez o valor de TBARS, expresso em miligramas de malonaldeído por quilo de amostra, para estudar a oxidação de lipídios em leite<sup>5</sup>. Da mesma forma, Turner et al.<sup>6</sup> foram os pioneiros ao aplicar o teste em carne de porco congelada, enquanto Sidwell et al.<sup>7</sup> usaram a metodologia para avaliar óleos de algodão e de soja tratados termicamente.

Estudos sobre a oxidação de lipídios, principalmente em carnes, continuaram a ser conduzidos por diversos pesquisadores<sup>8,9,10</sup>. A interferência de alguns aminoácidos, ácidos graxos, açúcares e sais na obtenção de valores de TBARS em peixes apontou variações entre 1% a 7% dependendo da quantidade dos compostos adicionados<sup>11</sup>.

O valor de TBARS foi proposto como análise adequada para monitorar mudanças provenientes da rancidez oxidativa em carnes de frango após a obtenção de correlações significativas com atributos sensoriais típicos do alimento<sup>12</sup>.

Dois metodologias para obtenção do valor de TBARS em carne de frango fresca, refrigerada e congelada foram comparadas<sup>13</sup>. Nas condições de armazenamento, os valores de TBARS obtidos por técnicas de destilação foram superiores, porém correlacionados, com os resultados obtidos por técnicas de extração direta. Os mesmos autores<sup>14</sup> relataram que o uso do antioxidante BHT inibiu a autooxidação dos lipídios durante a etapa de destilação.

Outros estudos também foram conduzidos usando os valores de TBARS como indicador do processo de oxidação de lipídios em carnes<sup>15,16,17</sup>, bem como muitas modificações foram efetuadas nas metodologias convencionais. Excelentes revisões sobre esses aspectos foram publicadas na década passada<sup>4,18</sup> e uma mais recentemente<sup>19</sup>.

A irradiação de carne de frango foi aprovada nos Estados Unidos em 1990 com a finalidade de controlar microrganismos causadores de toxinfecções de origem alimentar<sup>20</sup>. No Brasil, a Resolução RDC Nº21, de 26/01/2001 da ANVISA, aprovou o "Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos", que

permite a irradiação de qualquer alimento com a condição de que a dose máxima absorvida seja inferior àquela que comprometa as propriedades funcionais e/ou atributos sensoriais do alimento e que a dose mínima absorvida seja suficiente para alcançar o objetivo pretendido<sup>21</sup>.

O presente trabalho utilizou o valor de TBARS para avaliar o efeito da radiação ionizante em coxas de frango cruas refrigeradas embaladas a vácuo e sob atmosfera modificada.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Amostras

Coxas de frango cruas com ossos e pele foram acondicionadas de duas maneiras: Tratamento 1 – embaladas a vácuo em sacos plásticos de nylon-polietileno (Cryovac) de baixa permeabilidade ao oxigênio (8 ml de O<sub>2</sub>/m<sub>2</sub>/24h) utilizando uma máquina de embalagens (Selovac 300-B, SP, Brasil); Tratamento 2 – distribuídas em bandejas comerciais (240 mm comprimento x 180 mm largura x 30 mm altura) de poliestireno expandido, recobertas com filme de polietileno (Cryovac) e embaladas em atmosfera modificada composta por uma mistura de N<sub>2</sub> (30%) e CO<sub>2</sub> (70%). Cada embalagem continha aproximadamente 200 gramas de amostra. Dez embalagens de cada tratamento foram colocadas em caixas de papelão (600 mm comprimento x 420 mm largura x 100 mm largura). Cinco caixas de papelão de cada tratamento foram preparadas e armazenadas a 4±1°C para atender nove coletas de amostras no período de 60 dias.

### Irradiação das Amostras

As caixas de papelão contendo as amostras de coxas de frango foram expostas a uma fonte de radiação ionizante de Cobalto 60 com taxa de dose igual a 4,5 kGy.h<sup>-1</sup>. O tempo de irradiação foi calculado para alcançar doses de 1,5 kGy; 3,0 kGy; 5,0 kGy e 7,0 kGy de radiação ionizante, as quais foram monitoradas por dosímetros Amber 3042 (Harwell Dosimeters, OX, UK).

### Determinação de TBARS

#### Preparo da Amostra

A determinação foi realizada pelo método de destilação<sup>3</sup>. Dez gramas de amostra foram pesadas em um copo de homogeneizador (OMNI-MIXER, Sorvall). Adicionou-se 50 ml de água destilada e 3 gotas de antiespumante. Homogeneizou-se por 2 minutos a 4000 rpm. A mistura foi transferida quantitativamente para um balão de fundo chato de 250 ml e o copo lavado com 46,5 ml de água destilada aquecida a 40 °C. O meio foi então acidificado com 2,5 ml de HCl 4N. O balão foi posicionado na manta aquecedora e conectado ao sistema de destilação. O destilado foi recolhido até preencher um balão volumétrico de 50 ml. Uma alíquota de 5,0ml foi transferida para um tubo de ensaio com tampa de rosca

juntamente com 5,0 ml de uma solução de ácido 2-tiobarbitúrico 0,02M (Sigma Aldrich). Os tubos de ensaio foram mantidos por 35 minutos em banho-maria fervente para formação da cor. A leitura da absorbância foi realizada em 532nm no espectrofotômetro Cary 1E (Varian, CA, USA).

### Preparo da Curva Padrão

Preparou-se uma solução aquosa de 1,1',3,3' tetraetoxipropano (Sigma Aldrich) a  $1,0 \times 10^{-8}$  M. Alíquotas de 1, 2, 3, 4 e 5 ml foram transferidas para tubos de ensaio com tampa de rosca e o volume completo para 5,0 ml com água destilada. Após acrescentar 5,0 ml da solução de 2-ácido tiobarbitúrico 0,02 M (Sigma Aldrich), os tubos foram mantidos em banho-maria fervente por 35 minutos para formação da cor e subsequente leitura da absorbância em 532 nm.

### Porcentagem de Recuperação do Malonaldeído

Foi realizado para três diferentes concentrações de 1,1',3,3'-tetraetoxipropano (2,21; 4,42; 6,64 mg.kg<sup>-1</sup>) adicionados na amostra antes da destilação.

### Cálculo do Valor de TBARS

As absorbâncias foram multiplicadas pela constante de destilação (K) obtida pela fórmula a seguir, e o resultado expresso em mg.kg<sup>-1</sup> de malonaldeído.

$K = S/A * 72,063 * 10^7 / C * 100 / P$ , onde:

S = concentração de 1,1',3,3' tetraetoxipropano (M)

A = absorbância em 532 nm

72,063 = massa molecular do malonaldeído (g.mol<sup>-1</sup>)

C = massa da amostra (g)

P = porcentagem de recuperação (%)

### Análise Estatística

Os dados foram obtidos em triplicata e submetidos à análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) com auxílio do software Statistica (StatSoft, OK, USA)<sup>22</sup>.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O ensaio de recuperação do malonaldeído revelou que amostras com menores concentrações de tetraetoxipropano apresentaram maior porcentagem de recuperação, com valor médio igual a 79,0% (Tabela 1). Foram observadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) nas recuperações obtidas entre as diferentes concentrações, apontando a necessidade de realizar ensaios de recuperação para cada concentração de tetraetoxipropano usado na curva padrão e sua respectiva utilização nos cálculos das constantes de destilação (K). Considerando as recuperações de malonaldeído adicionado nas três diferentes concentrações, obteve-se uma média global igual a 72,4%.

**Tabela 1.** Recuperação de malonaldeído no método de determinação de TBARS por destilação aplicado em coxas de frangos cruas.

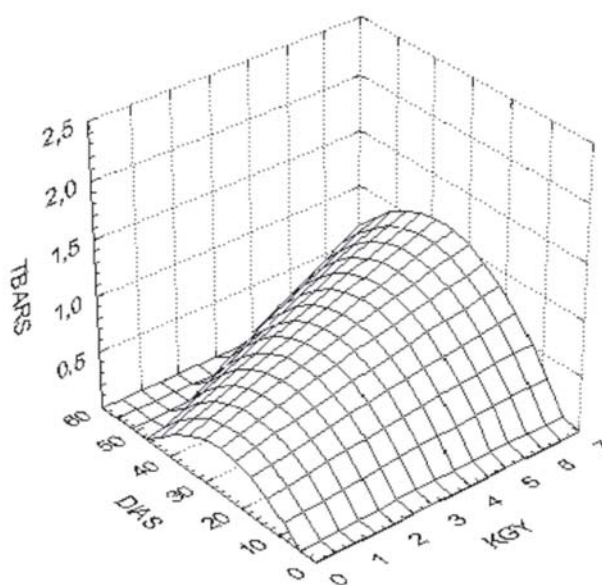
Malonaldeído Adicionado (mg/kg)	Malonaldeído Recuperado (mg/kg)	Recuperação (%) *
2,21	1,76 ± 0,01	79,0 ± 0,1 <sup>a</sup>
4,42	3,13 ± 0,01	70,7 ± 0,6 <sup>b</sup>
6,64	4,50 ± 0,01	67,8 0,6 <sup>c</sup>
	Média	72,4 ± 5,9

\* Letras diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as médias.

Embora o método de análise de TBARS por destilação abaixo o pH do meio reacional e utilize aquecimento para a formação da cor, o procedimento foi adequado para o isolamento do malonaldeído, promovendo a obtenção de isolados limpos e evitando a reação do TBA com componentes não-voláteis presentes nas amostras.

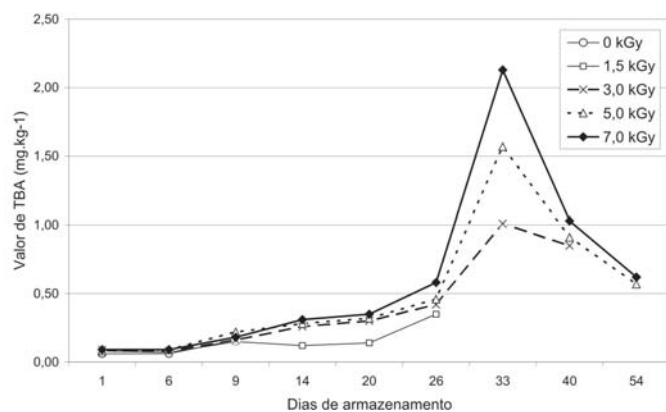
A melhor aplicabilidade do método proposto<sup>3</sup> utilizado neste estudo encontra argumentos adicionais nos trabalhos<sup>12,23,24</sup> que relataram correlações entre os odores de ranço e os isolados lípidos obtidos por destilação.

Aumentos gradativos nos valores de TBARS foram observados conforme o aumento da dose de radiação ionizante, independente do tipo de embalagem utilizada. A Figura 1 mostra ainda que os valores máximos de TBARS foram atingidos ao redor de 30 dias de armazenamento para amostras irradiadas com 3,0 kGy, 5,0 kGy e 7,0 kGy.



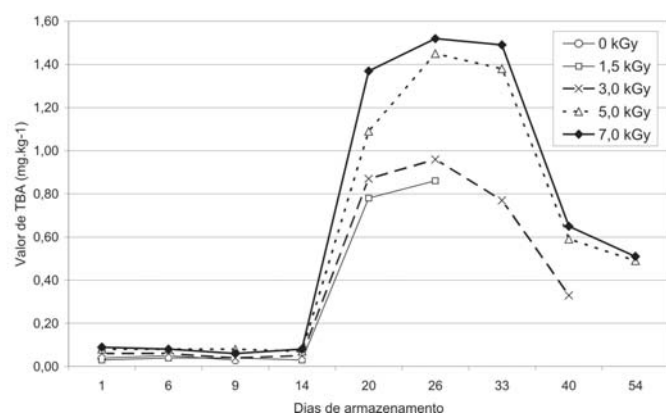
**Figura 1.** Superfície de resposta obtida para valores de TBARS (mg/kg) em coxas de frangos cruas irradiadas e armazenadas à temperatura de  $4 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Os valores de TBARS foram superiores nas amostras irradiadas quando comparadas com as amostras não irradiadas, sendo esse fato mais pronunciado nas coxas de frangos cruas embaladas a vácuo (Figura 2), com exceção do 20° e 26° dia de armazenamento, onde os valores de TBARS foram significativamente maiores ( $p < 0,05$ ) nas amostras embaladas sob atmosfera modificada.



**Figura 2.** Valores de TBARS observados ao longo do armazenamento refrigerado de coxas de frangos cruas embaladas a vácuo e submetidas à radiação ionizante.

Para amostras tratadas com 1,5 kGy e 3,0 kGy o preenchimento da embalagem com a mistura de gases  $\text{CO}_2$  e  $\text{N}_2$  contribuiu significativamente ( $p < 0,05$ ) para atenuar o efeito da radiação ionizante até o 14° dia de armazenamento e minimizar o efeito sobre a oxidação de lipídios (Figura 3).



**Figura 3.** Valores de TBARS observados ao longo do armazenamento refrigerado de coxas de frangos cruas embaladas sob atmosfera modificada e submetidas à radiação ionizante.

Entre as amostras irradiadas, os valores de TBARS aumentaram conforme ocorreu o aumento da dose de radiação ionizante, mantendo-se baixos até o 14° dia de armazenamento nos dois tipos de embalagens. As amostras irradiadas com 1,5 kGy e 3,0 kGy apresentaram resultados similares ao

longo dos dias de armazenamento, atingindo valores máximos de TBARS com médias iguais a 0,81 e 1,01  $\text{mg.kg}^{-1}$ , respectivamente. As amostras irradiadas com 5,0 kGy e 7,0 kGy prolongaram o armazenamento e mostraram valores máximos de TBARS iguais a 1,57 e 2,13  $\text{mg.kg}^{-1}$ , respectivamente.

As amostras não irradiadas permaneceram estocadas até o 9° dia e apresentaram valor máximo de TBARS igual a 0,15  $\text{mg.kg}^{-1}$ . As amostras irradiadas com doses de 1,5 kGy preservaram-se até o 26° dia de armazenamento, enquanto que amostras tratadas com doses de 3,0 kGy, 5,0 kGy e 7,0 kGy permitiram análises de TBARS além dos 30 dias.

## CONCLUSÃO

A determinação de TBARS permitiu indicar o estado oxidativo das coxas de frangos cruas embaladas, bem como evidenciar o efeito da radiação ionizante. Durante as primeiras duas semanas de armazenamento refrigerado, para amostras irradiadas com 1,5 kGy e 3,0 kGy, foram observadas atenuações nos valores de TBARS de coxas de frangos cruas embaladas sob atmosfera modificada quando comparadas com as amostras embaladas a vácuo. Os resultados de TBARS obtidos neste trabalho apontaram melhor aplicação da radiação gama para amostras de coxas de frangos cruas irradiadas com doses não superiores a 3,0 kGy.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao apoio financeiro concedidos pela Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e pelo Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

## REFERÊNCIAS

1. Kosugi H, Kato T, Kikugawa K. Formation of red pigment by a two-step 2-thiobarbituric acid reaction of alka-2,4-dienals. Potential products of lipid oxidation. *Lipids* 1998; 23: 1024-31.
2. Marcuse R, Johansson L. Studies on the TBARS test for rancidity grading: II TBARS reactivity of different aldehyde classes. *J Am Oil Chem Soc* 1973; 50: 387-91.
3. Tarladgis BG, Watts BM, Younathan MT. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *J Am Oil Chem Soc* 1960; 37: 44-8.
4. Hoyland DV, Taylor AJ. A review of the methodology of the 2-thiobarbituric acid test. *Food Chem* 1991; 40: 271-91.

5. Patton S, Kurtz GW. 2-Thiobarbituric acid as a reagent for detecting milk fat oxidation. *J Dairy Sci*. 1951; 34: 669.
6. Turner EW et al. Use of the 2-thiobarbituric acid reagent to measure rancidity in frozen pork. *Food Technol* 1954; 8: 326-30.
7. Sidwell CG, Salwin H, Benca M, Mitchell JHJ. The use of the thiobarbituric acid as a measure of fat oxidation. *J Am Oil Chem Soc* 1954; 31: 603.
8. Sinnhuber RO, Yu TC. 2-Thiobarbituric acid method for the measurement of rancidity in fishery products. II The quantitative determination of malonaldehyde. *Food Technol*. 1958; 12: 9-12.
9. Vyncke W. Evaluation of the direct thiobarbituric acid extraction method for determining oxidative rancidity in mackerel (*Scomber scombrus* L.) *Fette Seifen Anstrich* 1975; 77: 239-240.
10. Yu LW et al. High performance liquid chromatography analysis of the thiobarbituric acid adducts of malonaldehyde and trans, trans-muconaldehyde. *Anal Biochem* 1986; 156: 326-33.
11. Robles-Martinez C, Cervantes E, Ke PJ. Recommended method for testing the objective rancidity development in fish based on TBARS formation. *Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sci*. n° 1089, 1982, 28 p.
12. Lyon BG, Lyon CE, Ang CYW, Young LL. Sensory analysis and thiobarbituric acid values of precooked chicken patties stored up to three days and reheated by two methods. *Poultry Sci*. 1988; 67: 736-742.
13. Pikul J, Leszczynski DE, Kummerow FA. Evaluation of three modified TBARS methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. *J Agric Food Chem* 1989; 37: 1309-13.
14. Pikul J, Leszczynski DE, Kummerow FA. Elimination of sample autoxidation by butylated hydroxytoluene additions before thiobarbituric acid assay for malonaldehyde in fat from chicken meat. *J Agric Food Chem*. 1983; 31: 1338-1342.
15. Ahn DU et al. Effects of dietary vitamin E supplementation on lipid oxidation and volatiles content f irradiated cooked turkey meat patties with different packaging. *Poultry Sci*. 1998; 77: 912-20.
16. Horax R. et al. Effect of gamma irradiation and storage time on thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in chicken breast meat infused with antioxidants and select plant extracts. *The Food Safety Consortium Annual Meeting*, October 13-15, Manhattan.
17. Jo C, Lee JI., Ahn DU. Lipid oxidation, color and volatiles changes in irradiated pork sausages with different fat content and packaging during storages. *Meat Sci* 1999; 51: 355-361.
18. Guillén-Sans R, Guzmán-Chozas M. The thiobarbituric acid (TBARS) reaction in foods: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1998; 38: 315-330.
19. Osawa CC, De Felício PE, Gonçalves LAG. Teste de TBARS aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. *Quim Nova*. 2005; 28: 655-663.
20. Pauli GH, Tarantino LM. FDA regulatory aspects of food irradiation. *J Food Prot* 1995; 58: 209-12.
21. Resolução RDC n°. 21, de 26 de janeiro de 2001, Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Aprova o Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos. *Diário Oficial da União*, Brasília, n°. 20-E, de 29 de janeiro de 2001. Seção 1, p.35.
22. Statsoft, Inc., Tulsa, OK, USA. *STATISTICA for Windows*. 1995.
23. Greene BE, Cumuze TH Relationship between TBARS numbers and inexperienced panelists' assessments of oxidized flavour in cooked beef. *J Food Sci* 1981; 47: 52-8.
24. Miyagusku L, Chen F, Leitão MF, Baffa O. Avaliação microbiológica e sensorial da vida útil de cortes de peito de frango irradiados. *Cienc Tecnol Aliment* 2003; 23 (Suppl. 1): 7-16.