

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Faculdade de Nutrição

Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos



Dissertação

**Efeito de marinados sobre a formação de TBARS e aminas heterocíclicas
em carnes vermelhas cozidas em diferentes utensílios culinários**

Camila Castencio Nogueira

Pelotas, 2018

Camila Castencio Nogueira

**Efeito de marinados sobre a formação de TBARS amins heterocíclicas
em carnes vermelhas cozidas em diferentes utensílios culinários**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Nutrição e Alimentos da Universidade
Federal de Pelotas – UFPel, como
requisito parcial à obtenção do título
de Mestre em Nutrição e Alimentos.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Elizabete Helbig
Coorientadora: Prof^a Dr^a. Fabiana Botelho

Pelotas, 2018

N778e Nogueira, Camila Castencio

Efeito de marinados sobre a formação de TBARS e aminas heterocíclicas em carnes vermelhas cozidas em diferentes utensílios culinários / Camila Castencio Nogueira; Elizabete Helbig, orientadora ; Fabiana Torma Botelho, coorientadora. — Pelotas, 2018.

106 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

1. Carne. 2. Carcinógenos. 3. Antioxidante. I. Helbig, Elizabete, orient. II. Botelho, Fabiana Torma, coorient. III. Título.
CDD : 641.1

CDD : 641.1

Camila Castencio Nogueira

Efeito de marinados sobre a formação de aminas heterocíclicas em carnes cozidas em diferentes utensílios culinários

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Nutrição e Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 12/12/2018

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Elizabete Helbig (Orientador). Doutora em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela Universidade Federal de Pelotas – UFPel.

Prof^a. Dr^a. Fabiana Torma Botelho (Coorientadora). Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas – UFPel.

Prof. Dr. Rui Carlos Zambiasi. Doutor em Food and Nutritional Science pela University of Manitoba.
(Titular)

Prof^a. Dr^a. Ângela Maria Fiorentini. Doutora em Ciências dos Alimentos pela Universidade Federal de Santa Catarina.
(Titular)

Prof. Dr. Eliezer Avila Granda. Doutor em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela Universidade Federal de Pelotas.
(Suplente)

Dedico este trabalho à minha mãe e minha avó, que não mediram esforços para que eu alcançasse meus objetivos.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida e por me dar saúde para seguir em frente.

Em especial as minha mestres mãe e avó, que são meu esteio, meu exemplo de força e fé. Que abdicaram de muitas coisas para que eu chegasse até aqui.

À minha família, por toda ajuda, incentivo e por sempre estarmos juntos a cada novo desafio.

Ao meu namorado, pela compreensão, carinho, paciência e incentivo.

À Prof^a Dra. Elizabete Helbig, pelo incentivo, por tudo que me ensinou desde a graduação e por não medir esforços para que este projeto fosse executado.

À Prof^a Dra. Fabiana Botelho, por todos os ensinamentos a mim passados e por todo o incentivo e ajuda durante a execução do projeto.

Ao Prof. Rui Zambiasi, por ceder o laboratório para realização das análises cromatográficas, por toda a ajuda e ensinamentos a mim passados.

Às minhas amigas, Fernanda, Júlia e Danielle, por todos esses anos de companheirismo, amizade, ensinamentos e por toda a ajuda na realização deste e tantos outros projetos.

Às minhas amigas Carolina, Louise e Lissa, pela amizade, incentivo e por mesmo estando longe sempre vibrar cada conquista.

Às amigas e colegas de pesquisa, Júlia U. Itiane, por terem me recebido tão bem, pela troca de experiências e pelo companheirismo durante as tardes de laboratório.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão deste trabalho.

Ubuntu!

Resumo

Nogueira, Camila Castencio. **Efeito de marinados sobre a formação amins heterocíclicas em carnes cozidas em diferentes utensílios culinários.** 2018. 106f. Dissertação. (Mestrado em Nutrição e Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

A carne é fonte de proteínas de alto valor biológico, vitaminas do complexo B, minerais entre outros nutrientes. Entretanto, substâncias conhecidas por serem potencialmente cancerígenas, tais como amins aromáticas heterocíclicas (AAH) e são formadas durante seu processo de cozimento. Marinar a carne pré-cozimento com alimentos que contenham propriedades antioxidantes tem demonstrado efeitos positivos na redução da formação desses compostos. Com isso, objetivou-se investigar o efeito da adição de folhas de videira da cultivar bordô (*Vitis Labrusca* L.), co-produto da colheita de uva e que tem sido destaque na literatura por apresentar inúmeros benefícios à saúde, em marinado contendo limão e ervas, e o uso de diferentes utensílios culinários na formação de AAH em carnes cozidas. Foram preparados marinados com folhas, ervas e limão (F.E.L.), ervas e limão (E.L.) e apenas com a folha da videira (F.). Realizaram-se as análises de atividade antioxidante e compostos fenólicos totais para os marinados. Após a aplicação dos marinados nos bifés e a cocção dos mesmos, em panela de alumínio, aço inoxidável e ferro, avaliou-se a formação de TBARS e a identificação e quantificação de AAH por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. Observou-se na análise de DPPH que o marinado E.L. apresenta melhor capacidade antioxidante, tanto em extrato aquoso quanto em etanólico. Já em ABTS, o melhor resultado foi com a associação de F. a E.L. em extrato aquoso. Quanto ao teor de fenóis totais o marinado E.L. apresentou a maior concentração. O marinado F.E.L. foi o que exerceu menor formação de malondialdeído, reduzindo a peroxidação lipídica. Já na análise de AAH, as três amins analisadas foram identificadas e quantificadas, sendo o maior nível para amina MeIQ (2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline) em panela de ferro. De maneira geral todos os marinados reduziram a formação de AAH, principalmente a folha da videira a qual inibiu a formação de amins em 30,78%, isso demonstra que ingredientes comumente utilizados para marinar carnes são estratégias eficazes. Bem como a F. apresenta resultados promissores quanto a sua utilização em preparações culinárias.

Palavras-chave: Carne, carcinógenos, antioxidantes.

Abstract

Nogueira, Camila Castencio. **Effect of marinades on the formation of heterocyclic amines in cooked meats in different cooking utensils. 2018. 97f.** Dissertation. (Master in Nutrition and Food) - Postgraduate Program in Nutrition and Food, Faculty of Nutrition, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2018.

Meat is a source of high biological value proteins, B vitamins, minerals among other nutrients. However, substances known to be potentially carcinogenic, such as heterocyclic aromatic amines (AAH) and are formed during their cooking process. Marinating pre-baking meat with foods containing antioxidant properties has shown positive effects in reducing the formation of these compounds. The objective of this study was to investigate the effect of the addition of grape leaves (*Vitis Labrusca* L.), a co-product of the grape harvest, which has been highlighted in the literature because it presents numerous health benefits in marinade containing lemon and herbs, and the use of different cooking utensils in the formation of AAH in cooked meats. They were prepared marinated with leaves, herbs and lemon (F.E.L.), herbs and lemon (E.L.) and only with the leaf of the vine (F.). Analyses of antioxidant activity and total phenolic compounds were carried out for marinades. After the application of the marinades in the steaks and their cooking, in aluminum pan, stainless steel and iron, the formation of TBARS and the identification and quantification of AAH by High Performance Liquid Chromatography were evaluated. It was observed in the DPPH analysis that E.L. marinade presented better antioxidant capacity, both in aqueous and ethanolic extracts. In ABTS, the best result was the association of F. to E.L. in aqueous extract. As for the total phenol content, the E.L. marinade presented the highest concentration. F.E.L. was the one that exerted less formation of malondialdeído, reducing the lipid peroxidation. Already in the analysis of AAH, the three amines analyzed were identified and quantified, being the highest level for amine MeIQ (2-amino-3,4-dimethylimidazo [4,5-f] quinoline) in iron pan. In general, all marinades reduced AAH formation, especially vine leaf which inhibited amine formation by 30.78%, this shows that ingredients commonly used to marinate meats are effective strategies. As well as F. presents promising results regarding its use in cooking preparations.

KeyWords: meat, carcinogens, antioxidants.

Lista de Figuras

Revisão da Literatura

Figura 1 Estrutura química das principais aminas heterocíclicas..... 18

Figura 2 Esquema de formação das HAAs e possível local para interferência com os antioxidantes 20

Projeto de Pesquisa

Figura 1 Estrutura química das principais aminas heterocíclicas.....36

Lista de Tabelas

Revisão da Literatura

Tabela 1 Nomenclatura e abreviaturas de diferentes aminas heterociclicas 18

Projeto de Pesquisa

Tabela 1 Nomenclatura e abreviaturas de diferentes aminas heterociclicas 37

Sumário

1	Introdução	12
2	Revisão Bibliográfica	14
2.1	Consumo de carne e risco de câncer.....	15
2.2	Aminas Aromáticas Heterocíclicas (AAH)	17
2.2.1	Formação de Aminas aromáticas heterocíclicas	19
2.2.2	Inibição da formação das aminas aromáticas heterocíclicas	21
2.3	Folhas de videira.....	21
2.4	Especiarias comumente utilizadas em marinados	22
2.5	Utensílios culinários	23
3.	Objetivos	24
3.1	Objetivo Geral	24
3.2	Objetivos específicos	24
4.	Hipóteses	25
5.	Projeto de Pesquisa	26
6.	Relatório do Trabalho de Campo	58
7.	Artigo.....	59
8.	Considerações Finais.....	60
	REFERÊNCIAS.....	61

1 Introdução

A transição demográfica e epidemiológica global tem sido favorável à ocorrência de Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT), sendo o câncer uma das principais estimando-se para o biênio 2018-2019 1.200.000 mil novos casos (INCA, 2017). Um dos fatores contribuintes para o desenvolvimento de neoplasias são as mudanças no padrão alimentar da população brasileira. Dentre os fatores de risco para o desenvolvimento destas patologias, tem-se o elevado consumo de alimentos industrializados e de alimentos com baixo teor de nutrientes essenciais; excessiva ingestão de carnes vermelhas e produtos cárneos; bem como a redução no consumo de frutas, hortaliças e leguminosas (CLARO et al., 2015).

A carne é um alimento de grande importância para a nutrição humana por ser fonte de proteínas de alto valor biológico, rica em vitaminas do complexo B, minerais de alta biodisponibilidade como ferro e zinco, entre outros (CARVALHO et al., 2015). Contudo, em relatório publicado pelo “World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research” (WCRF/AICR), no ano de 2007 foram estabelecidas recomendações para que indivíduos consumam menos de 500 g de carne vermelha por semana e evitem consumir carne processada. Apesar de ser um alimento que deva estar presente em uma dieta equilibrada (SCHNEIDER et al., 2014), seu consumo excessivo tem sido associado ao aumento da incidência de diferentes tipos de câncer, como de colorretal, esôfago, fígado, pâncreas, rim, próstata, pulmão e mama (CHAN et al., 2011; ZHU et al., 2014; HERNÁNDEZ et al., 2015;).

Esta relação pode ser explicada pelo fato de que substâncias conhecidas por serem potencialmente cancerígenas, tais como aminas aromáticas heterocíclicas (AAH) e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP), são formados durante o processo de cozimento de carnes (CARVALHO et al., 2015). Mundialmente, a carne cozida corresponde a um grupo alimentar muito presente na dieta de muitas culturas. Em relação ao tipo de preparo, são frequentemente grelhadas em forno, carvão vegetal, chama a gás ou outra fonte de combustível, utilizando para sua elaboração culinária diversos tipos de utensílios, o que pode

ocasionar interações entre estes e os alimentos as quais podem ser benéficas, inofensivas ou prejudiciais à saúde (GEVAART-DURKIN et al., 2014). A migração de componentes dos utensílios culinários para o alimento pode ser interessante nos casos em que ocorra carência do elemento migrante e, prejudicial quando o elemento apresenta alguma toxicidade, como no caso de chumbo e cádmio (QUINTAES et al., 2004). Na culinária brasileira os utensílios comumente utilizados no dia a dia são as panelas de ferro, as quais tem seu uso relacionado com a prevenção e tratamento da anemia ferropriva (QUINTAES et al., 2007; LOMOLINON et al., 2016). São utilizados também as panelas de aço inoxidável, que apresentam constituintes que podem ser tóxicos ao organismo, apesar das controvérsias (HERTING et al., 2008) e; as panelas de alumínio, as quais tem seu principal constituinte associado ao desenvolvimento do mal de Alzheimer (MAILLOUX et al., 2011).

Existem mais de 20 AAH isoladas e reconhecidas em alimentos cozidos, as quais foram classificadas em: aminas heterocíclicas térmicas e aminas heterocíclicas pirolíticas (MURKOVIC, 2007; ALAEJOS et al., 2011; JINAP et al., 2015). As AAH térmicas são geralmente formadas a partir da reação de Maillard. Os compostos são gerados quando aminoácidos livres, creatina e açúcares redutores reagem com compostos, tais como imidazoquinolinas, imidazoquinoxalinas e imidazopiridinas e são significativamente formadas a temperaturas acima de 150°C (SZTERK, 2015). Entretanto, as AAH pirolíticas podem se formar como resultado da pirólise de proteínas ou aminoácidos aquecidos a temperaturas mais altas, acima de 250°C (MURKOVIC, 2007). Alguns estudos demonstraram que as concentrações de AAH podem ser reduzidas pela adição de antioxidantes como a vitamina E, ou extratos de alecrim, alho, sálvia, salmoura ou tomilho (BALOGH et al., 2000; PFAU et al., 2004; TSEN et al., 2006).

Marinar no carne pré-cozimento com vinho tinto associado ao extrato de ervas, cerveja (AHN et al., 2005; BUSQUETS et al., 2006), chá verde (QUELHAS et al., 2010; VIEGAS et al., 2014;) e pelo uso de frutas cítricas, vem sendo descrita como uma estratégia eficaz para a redução dos níveis de AAH (DAMASIUS et al., 2011). Esse breve pré-tratamento tem a vantagem de que os produtos não são excessivamente condimentados e não desenvolvem

características sensoriais negativas, uma vez que apenas a superfície é tratada (GIBIS et al., 2010).

A videira é composta por diversas espécies distribuídas mundialmente, e é um gênero pertencente à família Vitaceae (TEIXEIRA et al., 2002). A folha, co-produto da produção de uva é uma das partes mais importantes da videira. Em alguns países do mundo, a folha de videira faz parte da dieta humana, onde são utilizadas em produtos embalados em condições que não utilizam soluções salinas ou agentes de salga, em chás e também consumidas como prato principal, a partir do cozimento da folha enrolada, com algum recheio (ÜNVER et al., 2007). As atividades biológicas importantes exercidas pelas folhas provêm de diferentes tipos de compostos fenólicos, a exemplo dos seus ácidos fenólicos, dos taninos, flavonóides, procianidinas e antocianinas (DANI et al., 2010), que asseguram propriedades benéficas para a saúde, uma vez que, tanto as folhas como fruto e semente, possuem propriedades importantes para o ser humano, como no tratamento de gastroenterites, hepatites, hipertensão arterial e arteriosclerose (OLIBONI et al., 2011).

Assim, torna-se viável o estudo da utilização das folhas de videira como produto alimentar, de modo a usufruir de seus benefícios. Diante do exposto, a determinação da formação de compostos cancerígenos bem como a avaliação de riscos nutricionais, são questões de segurança alimentar. Desse modo, torna-se importante investigar a ação de diferentes métodos sobre a redução na formação de AAH durante o cozimento de carnes. Assim, esse estudo propõe-se a averiguar o efeito de marinado contendo folha de videira, associada ou não a ervas que são habitualmente utilizadas como aromatizantes de carne, na formação de TBARS e AAH em carnes expostas a diferentes utensílios para cocção.

2 Revisão Bibliográfica

A fim de identificar os estudos existentes sobre aminas aromáticas heterocíclicas, foi realizada uma busca bibliográfica nos bancos de dados: PubMed- NcBI, ScienceDirect, LILACS e SciELO, utilizando as palavras “Aminas aromáticas heterocíclicas”; “efeito de marinados na formação de AAH”; “carne

cozida e a formação de AAH”, com o objetivo de englobar todos os estudos que abordassem este tema. As referências dos artigos incluídos nesta revisão também foram consultadas para identificar outros estudos.

2.1 Consumo de carne e risco de câncer

O câncer é uma doença multifatorial, caracterizado por uma ativação ou mutação em genes específicos que são responsáveis pela adesão, crescimento e divisão celular, podendo ocasionar metástase para outras regiões do corpo (COZZOLINO e COMINETTI, 2013). Dentre as causas de neoplasias estão fatores genéticos e epigenéticos os quais podem ter sua atividade exacerbada quando o organismo é exposto aos fatores ambientais, tais como de compostos químicos: nitrosaminas, aflatoxinas, benzeno; os biológicos: como alguns vírus, *Helicobacter Pylori* e físicos: raios X, ultravioleta, gama. Além desses fatores também exercem efeito o estilo de vida, tabagismo, alcoolismo a alimentação, pois os danos contínuos aos tecidos do trato esofagogastrointestinal ocasionam na substituição de células de forma acelerada favorecendo a formação de tumores (GUYTON & HALL, 2017).

A carne tem grande importância na alimentação humana devido à sua composição, pois possui quantidade significativa de proteína, minerais, vitaminas e ácidos graxos, contribuindo para o desenvolvimento do organismo devendo fazer parte de uma dieta equilibrada (IWASAKI, 2010). Entretanto, este produto vem sendo consumido em quantidades acima das recomendações nacionais e internacionais (uma porção de carne por dia – 190 kcal; 500g de carne vermelha e processada por semana, respectivamente). O principal agravante de seu consumo excessivo, é a relação de doenças cardiovasculares e câncer, as principais causas de mortes no mundo (MCAFEE et al., 2010; MICHA et al., 2010).

Os processos de cocção da carne melhoram seus aspectos sensoriais e previnem a contaminação microbiológica. Todavia, podem produzir substâncias químicas que podem se tornar nocivas dependendo do tempo de exposição, temperatura e método de cocção empregado (ZENG et al., 2017). A carcinogenicidade potencial do consumo de carne vermelha e processada é provavelmente devido à vários mecanismos existentes através dos quais a carne pode aumentar o risco de câncer (TORIBIO et al., 2007). A carne cozida a alta

temperatura, acima de 150°C, resulta na formação das AAH e HAP, além disso, a carne processada também é uma fonte de nitrato e nitrito os quais foram associados com a formação de compostos N-nitroso (NOC), que são conhecidos por causar câncer em vários locais da anatomia de animais (CROSS et al., 2011).

Em outubro de 2015, a Agência Internacional de Pesquisa do Câncer classificou as carnes processadas e carnes vermelhas como carcinogênicas ou provavelmente carcinogênicas para os humanos, com base em 800 estudos epidemiológicos que relataram uma ligação entre o consumo de carne e o câncer (BOUVARD et al., 2015; GARCÍA-LOMILLO et al., 2017). Os dados sobre a associação do consumo de carne vermelha com câncer colorretal estavam disponíveis em 14 estudos de coorte. Incidências foram observadas com alto e baixo consumo de carne vermelha na metade desses estudos, incluindo uma coorte em dez países europeus, abrangendo uma ampla gama de consumo de carne e outras grandes coortes na Suécia e na Austrália (BOUVARD et al., 2015).

A ingestão de carne ao redor do mundo é variável. Em pesquisa realizada na cidade de São Paulo o consumo médio de carne vermelha e processada em 2008 foi de 113g/dia (CARVALHO et al., 2014). Enquanto que nos Estados Unidos houve uma redução do consumo de carne vermelha de 105g para 85g/dia. Schneider et al. (2014), avaliaram o consumo de carnes por adultos na cidade de Pelotas-RS. Foram 2.732 entrevistados e a prevalência do consumo de carnes vermelhas foi de 99,3%. Carnes processadas foram referidas por 86,5% dos indivíduos.

Carvalho et al. (2015), avaliaram alta ingestão de AAH e associação com estresse oxidativo. Através de um recordatório de 24h e um questionário de frequência alimentar obtiveram dados sobre consumo de carne e ingestão de algumas AAH e, pela concentração de Malondialdeído (MDA) no plasma estimaram o estresse oxidativo em 561 participantes. Os autores encontraram associação significativa entre ingestão total de AAH e concentração de MDA, demonstrando que alta ingestão de AAH pode contribuir com o estresse oxidativo, e este excesso na produção de radicais livres é prejudicial à saúde. Além disso, estudos realizados em ratos comprovam a carcinogenicidade das AAH. As aminas IQ, MeIQ e MeIQx foram analisadas entre 40 a 72 semanas,

nas quantidades de 300, 300 e 400 ppm respectivamente. Os animais apresentaram tumores no fígado, intestino grosso e delgado, pele, glândula mamaria, cavidade oral, etc (KATO et al., 1989; KATO et al., 1988; TAKAYAMA et al., 1984). Isso sugere que, a ingestão excessiva de carnes muito bem cozidas pode levar a exposição a compostos potencialmente cancerígenos. A ingestão de AAH induzem dano a ácidos nucléicos e proteínas, levando a proliferação celular anormal resultando em câncer (SUGIMURA, 1997).

2.2 Aminas Aromáticas Heterocíclicas (AAH)

Compostos altamente mutagênicos presentes na carne foram descobertos no final da década de 70, sendo identificados 20 AAH (MURKOVIC, 2007). As AAH são classificadas como Amino imidazo azoarenos (AIA) ou térmicas, as quais são produtos da reação de Maillard que ocorre entre aminoácidos e açúcares redutores, pois são formadas a temperaturas entre 150 e 250°C; e Amino Carbolinas (AC) ou pirolíticas, formadas devido à reação pirolítica de aminoácidos e proteínas a temperaturas acima de 250°C (RAHMAN et al., 2014; IWASAKI et al., 2010).

Estruturalmente, essas substâncias podem conter entre dois a cinco (geralmente três) anéis aromáticos condensados com um ou mais átomos de nitrogênio e, um grupo amino exocíclico (GARCÍA-LOMILLO et al., 2017). As estruturas químicas, as abreviaturas mais comuns e os nomes das principais AAH estão apresentados na Figura 1. e na Tabela 1.

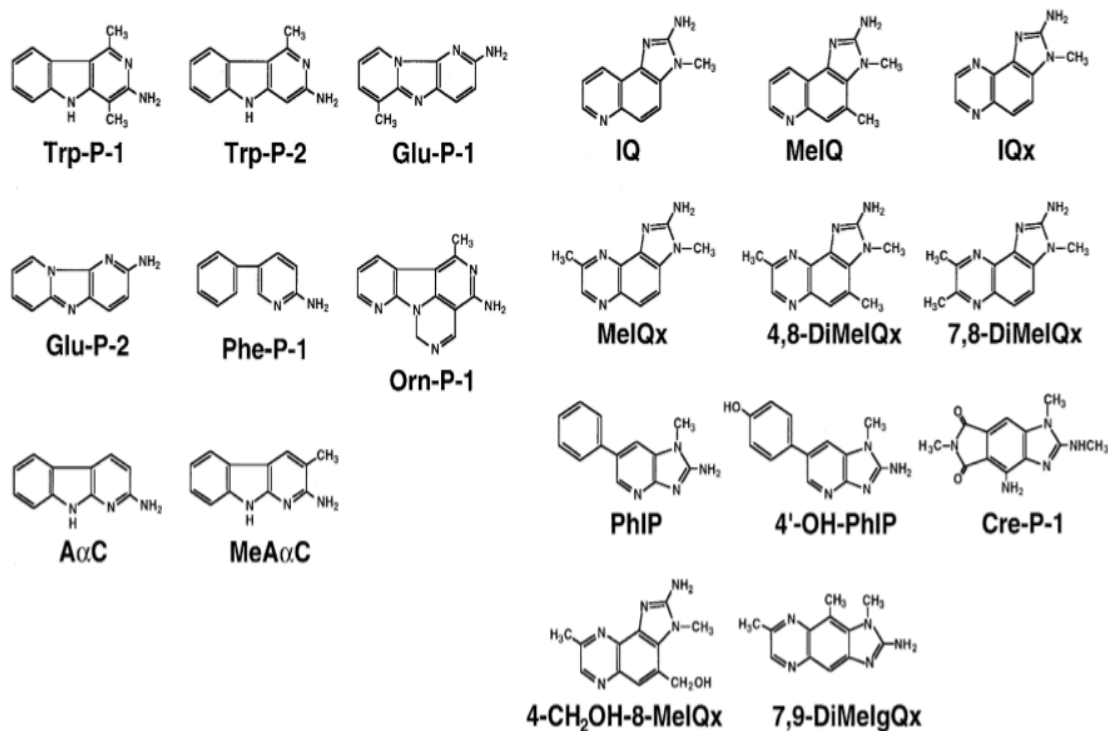


Figura 1. Estrutura química das principais aminas heterocíclicas. (adaptado de Toribio et al., 2002)

Tabela 1. Nomenclatura e abreviaturas de diferentes aminas heterocíclicas (adaptado de Murkovik, 2007).

Quinolines

IQ	2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline
MelQ	2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline

Quinoxalines

IQx	2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoxaline
MelQx	2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline
4,8-DiMelQx	2-amino-3,4,8-trimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline
7,8-DiMelQx	2-amino-3,7,8-trimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline
TriMelQx	2-amino-3,4,7,8-tetramethylimidazo[4,5-f]quinoxaline
4-CH ₂ OH-8-MelQx	2-amino-4-hydroxymethyl-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline
7,9-DiMelQx	2-amino-1,7,9-trimethylimidazo[4,5-g]quinoxaline

Pyridines

PhIP	2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine
------	---

4'-OH-PhIP	2-amino-1-methyl-6-[4-hydroxyphenyl]imidazo [4,5-b]pyridine
DMIP	dimethylimidazopyridine
TMIP	trimethylimidazopyridine

Pyrido-imidazoles and índoles

Trp-P-1	3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]índole
Trp-P-2	3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b]índole
Glu-P-1	2-amino-6-methyl-dipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole
Glu-P-2	2-amino-dipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole
AaC	2-amino-9H-dipyrido[2,3-b]índole
MeAaC	2-amino-3-methyl-9H-dipyrido[2,3-b]índole

Furopyridines

MeIFP

Benzoxazines

2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]-4H-1, 4-benzoxazine

2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]-4H-1, 4-benzoxazine

Other structures

Lys-P-1	3,4-cyclopentenopyrido-[3,2-a]carbazole
Orn-P-1	4-amino-6-methyl-1H-2,5,10,10btetraazafluoranthene
Phe-P-1	2-amino-5-phenylpyridine

Entre estes compostos principais, a (PhIPs) está presente abundantemente em produtos cárneos cozidos e está altamente associada a riscos de câncer em seres humanos e ratos (RAHMAN et al., 2014).

2.2.1 Formação de Amino aromáticas heterocíclicas

O fato de que a fumaça do cigarro contém muitos compostos mutagênicos foi inspiração para que pesquisadores iniciassem uma investigação sobre a formação de compostos cancerígenos, e em rápida sucessão foi demonstrada atividade mutagênica de partes carbonizadas de peixe e grelhados (SUGIMURA et al., 2004). Os aldeídos e as cetonas podem reagir de forma semelhante à dos açúcares redutores com os grupos amínicos livres. A formação das AAH envolve várias reações intermediárias de alguma complexidade (RANNOU et al., 2016).

Os produtos resultantes das reações de Maillard, são os aldeídos, resultantes de reações que ocorrem a elevadas temperaturas, e a creatinina. As AAH são frequentemente classificadas em dois subgrupos, de acordo com a

estrutura e mecanismo de formação. Incluem-se no grupo das aminas térmicas as quinolinas, as quinoxalinas, as piridinas e as furopiridinas, sendo as que mais frequentemente se encontram nos alimentos protéicos processados, sendo as que mais contribuem para o potencial mutagênico destes alimentos (COSTA, 2011).

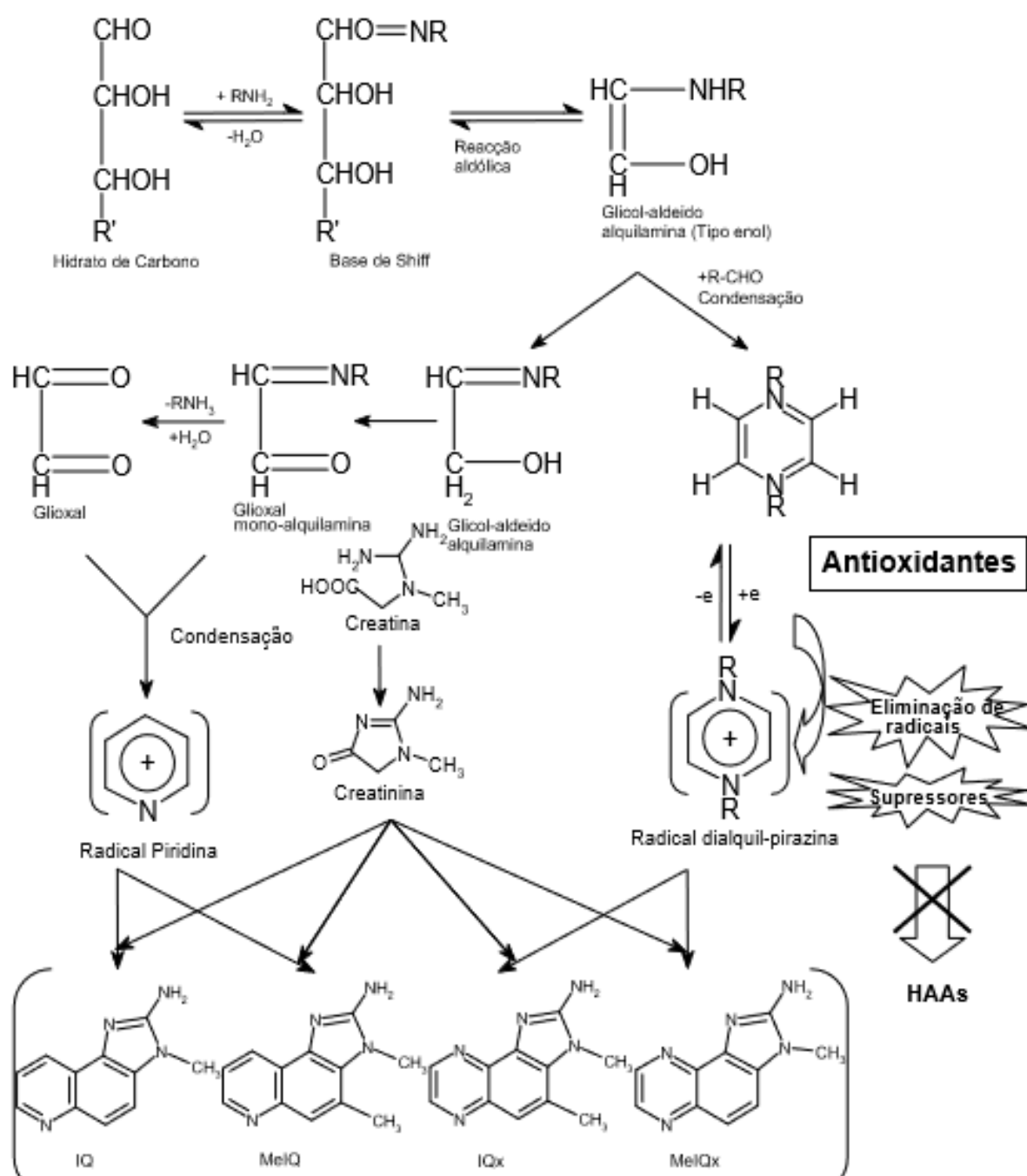


Figura 2: Esquema de formação das HAAs e possível local para interferência com os antioxidantes (adaptado de Vitaglione e Fogliano, 2004).

2.2.2 Inibição da formação das aminas aromáticas heterocíclicas

As concentrações de AAH podem ser reduzidas em carnes cozidas com a adição de compostos que possuem atividade antioxidante. Estudos demonstram que o uso de substâncias antioxidantes presentes em temperos comumente usados para dar sabor a carne, tais como alho, gengibre, tomilho, alecrim, pimenta vermelha e pimenta, possuem efeitos positivos na redução da formação de AAH (JINAP et al., 2015; VIEGAS et al., 2012). Além disso, a vitamina E, uso de sementes e casca de uva, vinho tinto, cerveja, extratos de hibisco e chá verde também tem impacto na formação de AAH em produtos derivados da carne bovina (GIBIS et al., 2012; VIEGAS et al., 2014; HASKARACA et al., 2014; GIBIS et al., 2010). Vitaglione et al. (2002) relataram que os tomates inibem significativamente a produção de AAH, especialmente de imidazo quinolines (IQ), em carne bovina. A atividade antioxidante dos tomates é caracterizada principalmente pela presença de carotenóides. Os carotenóides a um nível de 1000 ppm diminuíram as concentrações de IQ e 2-Amino-3,8-dimetilimidazo [4,5-f] quinoxalina (MeIQx) até 36% e 11%, respectivamente.

2.3 Folhas de videira

Sabe-se que folhas de videira co-produtos de videiras de diferentes espécies distribuídas mundialmente, do gênero que pertence à família *Vitaceae* (FERNANDES et al., 2013). Embora a videira seja muito importante, os seus co-produtos, como é o caso da folha, são desvalorizados, portanto novas estratégias são necessárias para um melhor aproveitamento deste co-produto. Uma das maneiras do seu aproveitamento e atribuição de valor comercial é o seu uso para fins dietéticos e nutricionais (LIMA, 2015). Em alguns países da Europa e Norte de África, as folhas de videira têm sido utilizadas como um alimento rico em vitaminas, minerais, fibra bruta e compostos fenólicos, e sua utilização dá-se sob diversas formas, sendo o uso in natura e em salmoura as mais utilizadas (GÜLER et al., 2014).

São conhecidos pela literatura alguns compostos que foram identificados em películas e folhas da videira, como os flavonóides, antocianinas, aminoácidos, alguns ácidos orgânicos, vitaminas, carboidratos, gorduras, procianidinas, terpenos, enzimas e carotenoides (ORHAN et al., 2009). Há também a presença do ácido hidroxicinâmico e seus derivados, uma vez que estes são encontrados na parede celular dos vegetais. O ácido cafeico é um dos compostos derivados deste grupo, demonstrando que as folhas de videira são ricas em derivados fenólicos e flavonóides. Estes compostos têm sua propriedade antioxidante ligada a atividades de eliminação dos radicais livres e peroxidação lipídica, onde esta última promove a degradação oxidativa dos alimentos (KOSAR et al., 2007). Dessa forma sugere-se que as folhas auxiliam na prevenção e desenvolvimento de doenças ligadas ao estresse oxidativo.

No Mediterrâneo, o Sarma, é o prato popular à base de folhas de videira recheado com algum outro alimento, normalmente carne ou arroz (DOGAN et al., 2015).

2.4 Especiarias comumente utilizadas em marinados

As frutas cítricas, também são conhecidas por conterem antioxidantes naturais, os quais podem ser derivados do óleo, da polpa, das sementes e da casca (BARROS et al., 2012). O interesse em encontrar antioxidantes naturais para uso em aplicações alimentares ou farmacêuticas tem aumentado consideravelmente, os quais podem proteger o corpo humano dos radicais livres e retardar o progresso de muitas doenças crônicas, bem como retardar o ranço oxidativo lipídico em alimentos (GUIMARÃES et al., 2010). As cascas e as sementes são fontes de compostos fenólicos, que incluem ácidos fenólicos e flavonóides. Os flavonóides são representados nas frutas cítricas por duas classes de compostos: flavonas polimetoxiladas e flavanonas glicosilada (SANTOS et al. 2014). O uso de suco de limão em marinados de carne grelhada demonstrou efeito positivo na redução de compostos cancerígenos (FARHADIAN et al., 2012).

As ervas como, alecrim e orégano, tem sido utilizadas com o intuito de oferecer alimentos seguros e aumentar o valor nutricional das preparações. Alimentos de origem vegetal são considerados as principais fontes de

antioxidantes naturais, cuja atividade está ligada diretamente a presença de compostos fenólicos (Gonçalves et al., 2015). Estudos relacionados às fontes de antioxidantes naturais, como extratos e óleos essenciais de ervas e plantas aromáticas demonstram resultados positivos destes compostos ao serem aplicados, por exemplo, em alimentos (FERNANDES, 2015; WANDERLEY, 2015)

2.5 Utensílios culinários

Cientificamente, é reconhecido que durante a elaboração culinária ocorrem interações entre os alimentos e os utensílios. A panela de ferro, utensílio comumente utilizado na cozinha brasileira, demonstrou que sua quantidade de ferro migrante do recipiente para o alimento pode suprir cerca de 20% das necessidades diárias do metal. Observou-se também que o ferro migrante dos utensílios possui biodisponibilidade similar ao ferro não-heme naturalmente presente nos alimentos (QUINTAES et al., 2004).

O teor de transferência de ferro pode variar e isso pode ser devido a fatores como acidez do alimento, quantidade de água da preparação, temperatura e o tempo de contato entre o recipiente e o alimento. Apesar dos benefícios apresentados com a utilização de utensílios de ferro, a ingestão excessiva deste metal transferido aos alimentos, pode apresentar efeitos colaterais sendo assim, há necessidade de cuidados com relação ao tempo de cozimento, preparo de todos os alimentos na panela de ferro evitando assim o acréscimo excessivo de minerais (QUINTAES et al., 2010).

Outro utensílio comumente utilizado no processamento de alimentos é o aço inoxidável, popularmente conhecido como “aço inox”, o qual é uma liga metálica que envolve três elementos: ferro, cromo e níquel. Há controvérsias a respeito da toxicidade que o níquel pode representar à saúde do comensal (KULIGOWSKI et al., 1992; BRUN et al., 1979). Este metal é classificado como um dos mais tóxicos citados na tabela periódica e sua toxicidade está associada à dermatite, asma e problemas alérgicos em geral (AGARWAL et al., 1997).

As panelas de alumínio, as quais são excelentes condutores de calor, inicialmente eram consideradas atóxicas ao homem. No entanto estudos tem avaliado a correlação entre a ingestão de alumínio e a incidência de demência, mal de Alzheimer e Parkinson (FERREIRA et al., 2008; PERL et al., 2006). Todos

os utensílios apresentam os mesmos fatores que interferem na transferência de seus metais aos alimentos e que, portanto, requerem cuidado na hora do preparo, estão o número de vezes de uso da panela, acidez do alimento, tempo de cozimento, teor de sal e teor de água. (VERÍSSIMO et al., 2006; KARBOUJ, 2007; QUINTAES, 2000).

Algumas interações dos utensílios com os alimentos podem ser consideradas como benéficas à saúde do comensal, enquanto outras podem chegar a ser prejudiciais. Neste sentido, dado sua relevância para a saúde do homem torna-se viável o conhecimento sobre qual influência os utensílios culinários, confeccionados com diversos materiais, exercem sobre a possível formação de AAH.

3. Objetivos

3.1 Objetivo Geral

Investigar o efeito de marinados a base de de folhas de videira, limão e ervas, e o uso de diferentes utensílios culinários, na formação de TBARS e AAH em carnes vermelhas cozidas.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a atividade antioxidante e teor de compostos fenólicos em:
 - Marinado contendo apenas folhas de videira;
 - Marinado contendo limão e ervas (alecrim e orégano), com adição de folhas de videira;
 - Marinado contendo limão e ervas (alecrim e orégano), sem adição de folhas de videira.
- Quantificar o efeito dos marinados na formação de TBARS e Aminas Heterocíclicas em carne vermelha preparada nos utensílios de:
 - Alumínio
 - Ferro
 - Inox

4. Hipóteses

O uso de folhas de videira ao marinado resultará na redução da formação de amins heterocíclicas.

O uso da panela de alumínio para cocção acarretará na formação de baixas quantidades de amins aromáticas heterocíclicas.

5. Projeto de Pesquisa

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Nutrição
Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos



Dissertação

**Efeito de marinados sobre a formação de aminas heterocíclicas em
carnes cozidas em diferentes utensílios culinários**

Camila Castencio Nogueira

Pelotas, 2017

Camila Castencio Nogueira

**Efeito de marinados sobre a formação de aminas heterocíclicas em
carnes cozidas em diferentes utensílios culinários**

Qualificação da dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da Universidade Federal de Pelotas – UFPel como parte dos requisitos necessários a obtenção do grau de Mestre em Nutrição e Alimentos.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Elizabete Helbig

Co-orientadora: Prof^a Dr^a. Fabiana Botelho

Pelotas, 2014

Resumo

Nogueira, Camila Castencio. **Efeito de marinados sobre a formação aminas heterocíclicas em carnes cozidas em diferentes utensílios culinários.** 2017. 33 f. Dissertação. (Mestrado em Nutrição e Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

A carne é um alimento importante para a nutrição humana por ser fonte de proteínas de alto valor biológico, e outros nutrientes. Entretanto, existe uma relação entre alta ingestão diária de carne e aumento do risco de desenvolvimento de diversos tipos de câncer. Isso se deve ao fato de que substâncias conhecidas por serem potencialmente cancerígenas, tais como aminas heterocíclicas (AAH) e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP) são formadas durante o processo de cozimento de carnes. Marinar a carne pré-cozimento com vinho tinto associado ao extrato de ervas, cerveja e outros alimentos com propriedades antioxidantes tal como, folhas de videira pode ser uma estratégia eficaz na redução da formação desses compostos em carne cozida. Diversos utensílios e métodos são empregados no preparo de carnes, no entanto sua correlação com formação de novas substâncias ainda não está esclarecida. Com isso, objetiva-se investigar o efeito da adição de folhas de videira em marinado contendo limão e ervas, e o uso de diferentes utensílios culinários na formação de AAH em carnes cozidas. Para tanto, serão quatro procedimentos: controle; carne e folha de videira; carne, folha de videira, limão e ervas e; carne, limão e ervas, utilizando três diferentes utensílios para cocção (panelas de ferro, aço inoxidável e pressão). A atividade antioxidante dos marinados será avaliada pelos métodos TBARS e DPPH; enquanto que a análise das aminas aromáticas heterocíclicas será realizada após o cozimento, extração e purificação, com posterior análise de Cromatografia Líquida de Alta Resolução.

Palavras-chave: Carne, carcinógenos, antioxidantes.

Sumário

1. Introdução.....	5
2. Revisão Bibliográfica.....	8
2.1 Consumo de carne e o risco de câncer.....	8
2.2 Aminas Aromáticas Heterocíclicas.....	9
2.2.1 Formação.....	12
2.2.2 Inibição da formação das Aminas Aromáticas Heterocíclicas.....	12
2.3 Utensílios culinários.....	14
3. Objetivos.....	15
3.1 Objetivo Geral.....	15
3.2 Objetivos específicos.....	15
4. Hipótese.....	16
5. Desenho experimental.....	17
6. Materiais e métodos.....	18
6.1 Delineamento experimental.....	18
6.2 Reagentes e Utensílios.....	18
6.3 Amostras dos insumos.....	19
6.3.1 Folhas de videira.....	19
6.3.2 Ervas Aromáticas.....	19
6.3.3 Limão.....	19
6.3.4 Obtenção dos extratos.....	19
6.4 Amostra de carne.....	20
6.5 Condições de processamento.....	20
6.6 Determinações analíticas.....	20
6.6.1 Reação ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)	20
6.6.2 Capacidade antioxidante pelo método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil).....	21
6.7 Análise de Aminas Aromáticas Heterocíclicas.....	21
6.7.1 Extração e purificação.....	21
6.7.2 Cromatografia Líquida de Alta Resolução.....	22
6.7.3 Quantificação das AAH.....	23
7. Cronograma	24

1 Introdução

A carne é um alimento importante para a nutrição humana (CARVALHO et al., 2014), por ser fonte de proteínas de alto valor biológico, rica em vitaminas do complexo B e em minerais de alta biodisponibilidade como ferro e zinco. Contudo em relatório publicado pelo Instituto Americano de Pesquisa do Câncer em 2007 foram estabelecidas recomendações para que indivíduos não consumam acima de 500 g de carne vermelha por semana e evitem completamente a carne processada, pois embora seja um alimento que deva estar presente em uma dieta equilibrada (SCHNEIDER et al., 2014), o consumo excessivo de carnes vermelhas e carnes processadas tem sido associado ao aumento da incidência de diferentes tipos de câncer, entre eles colorretal, esôfago, fígado, pâncreas, rim, próstata, pulmão e mama (HERNÁNDEZ et al., 2015).

Estudos epidemiológicos demonstram uma relação entre alta ingestão diária de carne e aumento do risco de câncer colorretal, salientando que o método de preparação, o grau de cozimento e o tempo de exposição podem ser fatores contribuintes para esse risco aumentado (ROHRMANN et al., 2009; SHIN et al., 2007). Esta relação pode ser explicada pelo fato de que substâncias conhecidas por serem potencialmente cancerígenas, tais como aminas heterocíclicas (AAH) e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP) são formados durante o processo de cozimento de carnes (CARVALHO et al., 2014). A carne cozida é uma parte significativa da dieta em muitas culturas em todo o mundo, onde são frequentemente grelhadas em forno, carvão vegetal, chama-gás, ou outra fonte de combustível.

Sabe-se que durante a elaboração culinária ocorrem interações entre os alimentos e os utensílios, podendo ser benéficas, inofensivas ou prejudiciais à saúde (GEVAART-DURKIN et al., 2014). A migração de componentes dos utensílios culinários pode ser interessante nos casos em que ocorra carência do elemento migrante e, prejudicial quando o elemento apresenta alguma toxicidade, como no caso de chumbo e cádmio (QUINTAES et al., 2004). Na culinária brasileira utensílios comumente utilizados no dia a dia são as panelas de ferro, a qual apresenta correlação com a prevenção e tratamento da anemia ferropriva (LOMOLINON et al., 2016; QUINTAES et al., 2007); são utilizados também as panelas de aço inoxidável, que apresentam constituintes que podem

ser tóxicos ao organismo apesar das controvérsias (BRUN et al., 1979) e; panelas de alumínio, as quais tem seu principal constituinte associado ao desenvolvimento do mal de Alzheimer (PERL et al., 2006) .

O cozimento de carne e o uso de diferentes métodos de cocção melhoram a digestibilidade e previnem riscos microbiológicos, mas também podem produzir substâncias químicas cancerígenas as quais, despertaram interesse da comunidade científica (MELO, 2008). Existem mais de 25 aminas heterocíclicas (AAH) isoladas e reconhecidas em alimentos cozidos, as quais foram classificadas em duas famílias principais: aminas heterocíclicas térmicas e aminas heterocíclicas pirolíticas (ALAEJOS et al., 2011; MURKOVIC, 2007; JINAP et al. 2015). As AAH térmicas são geralmente formadas como produtos da reação de Maillard. Os compostos são gerados quando aminoácidos livres, creatina e açúcares redutores reagem com compostos, tais como imidazoquinolinas, imidazoquinoxalinas e imidazopiridinas. São significativamente formadas a temperaturas acima de 150°C. Entretanto, as AAH pirolíticas podem se formar como resultado da pirólise de proteínas ou aminoácidos aquecidos a temperaturas mais altas, acima de 250°C (QUINTAES et al., 2004).

Alguns estudos demonstraram que as concentrações de AAH podem ser reduzidas pela adição de antioxidantes como a vitamina E, ou extratos de alecrim, alho, sálvia, salmoura ou tomilho (PFAU et al., 2004; BALOGH et al., 2000; TSEN et al., 2006). Além disso, marinar a carne pré-cozimento com vinho tinto associado ao extrato de ervas, cerveja (AHN et al., 2005; BUSQUETS et al., 2006), chá verde (VIEGAS et al., 2014; QUELHAS et al., 2010) e pelo uso de frutas cítricas, pode ser uma estratégia eficaz para a redução dos níveis de AAH (DAMASIUS et al., 2011). Esse breve pré-tratamento tem a vantagem de que os produtos não são excessivamente condimentados e não desenvolvem características sensoriais negativas uma vez que apenas a superfície é tratada (GIBIS et al., 2010).

A videira, do Latim *Vitis*, composta por muitas espécies distribuídas mundialmente, é um gênero que pertence à família *Vitaceae* (TEIXEIRA et al., 2002). A folha, subproduto da produção de uva é uma das partes mais importantes da videira. Em alguns países do mundo, a inclusão da folha de videira na dieta humana é uma realidade, são utilizadas em produtos embalados

em condições que não utilizam soluções salinas ou agentes de salga, em chás e também consumidas como prato principal, a partir do cozimento da folha enrolada, com algum recheio (ÜNVER et al., 2007). As atividades biológicas importantes contidas nas folhas provêm de diferentes tipos de compostos fenólicos, como dos seus ácidos fenólicos, dos taninos, flavonóides, procianidinas e antocianinas (DANI et al., 2010), que asseguram propriedades benéficas para a saúde, uma vez que, tanto as folhas como fruto e semente, possuem propriedades importantes para o ser humano, como no tratamento de gastroenterites, hepatites, hipertensão arterial e arteriosclerose (OLIBONI et al., 2011). Assim, torna-se viável o estudo da utilização das folhas de videira como produto alimentar, de modo a usufruir de seus benefícios.

Diante do exposto, a determinação da formação de compostos cancerígenos e sua absorção em alimentos preparados, bem como a avaliação de riscos nutricionais, são questões de segurança alimentar. Desse modo, torna-se importante investigar a ação de diferentes métodos sobre a redução na formação de aminas aromáticas heterocíclicas durante o cozimento de carnes. Assim, esse estudo propõe-se a averiguar o efeito de marinado contendo limão associado a ervas que são habitualmente utilizadas como aromatizantes de carne, e a adição de folhas de videiras, na formação de AAH em carnes expostas a diferentes utensílios para cocção.

2 Revisão Bibliográfica

2.1 Consumo de carne e risco de câncer

Câncer é um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado de células que invadem os tecidos e órgãos, podendo ocasionar metástase para outras regiões do corpo. Dividindo-se rapidamente, estas células tendem a ser muito agressivas e incontroláveis, determinando a formação de tumores, acúmulo de células cancerosas, ou neoplasias malignas. No entanto, um tumor benigno significa simplesmente uma massa localizada de células que se multiplicam vagarosamente e se assemelham ao seu tecido original, raramente constituindo um risco de vida. Os diferentes tipos de câncer correspondem aos vários tipos de células do corpo. Por exemplo, existem diversos tipos de câncer de pele porque a pele é formada de mais de um tipo de célula. Se o câncer origina-se em tecidos epiteliais como pele ou mucosas ele é denominado carcinoma. Se a formação é em tecidos conjuntivos como osso, músculo ou cartilagem é chamado de sarcoma (INCA, 2017).

As causas para desenvolvimento de câncer são variadas, podendo ser externas ou internas ao organismo, estando ambas inter-relacionadas. As causas externas relacionam-se ao meio ambiente e aos hábitos ou costumes próprios. As internas são, na maioria das vezes, geneticamente pré-determinadas, estão ligadas à capacidade do organismo de se defender das agressões externas. Esses fatores podem interagir de várias formas, aumentando a probabilidade de transformações malignas nas células normais (INCA, 2017).

A carne tem grande importância na alimentação humana devido à sua composição, pois possui quantidade significativa de proteína, minerais, vitaminas e ácidos graxos, devendo fazer parte de uma dieta balanceada (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). Entretanto, este produto vem sendo consumido em quantidades acima das recomendações nacionais e internacionais (uma porção de carne por dia – 190 kcal; 500g de carne vermelha e processada por semana, respectivamente). Sendo o principal problema de seu consumo excessivo, a relação com doenças cardiovasculares e câncer, as

principais causas de morte no Brasil e no mundo (MCAFEE et al., 2010; MICHA et al., 2010).

Os processos de cocção da carne melhoram seus aspectos sensoriais e previnem a contaminação microbiológica, todavia produzem substâncias químicas que podem se tornar nocivas, dependendo do tempo de exposição, temperatura e método de cocção empregado. A carcinogenicidade potencial do consumo de carne vermelha e processada é provavelmente devido à vários mecanismos existentes através dos quais a carne pode aumentar o risco de câncer. A carne cozida a alta temperatura resulta na formação das aminas aromáticas heterocíclicas (AAH) e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP), além disso, a carne processada também é uma fonte de nitrato e nitrito os quais foram associados com a formação de compostos N-nitroso (NOC), que são conhecidos por causar câncer em vários locais da anatomia de animais (CROSS et al., 2011).

Em outubro de 2015, a Agência Internacional de Pesquisa do Câncer classificou as carnes processadas e carnes vermelhas como carcinogênicas ou provavelmente carcinogênicas para os humanos, com base em 800 estudos epidemiológicos que relataram uma ligação entre o consumo de carne e o câncer (BOUVARD et al., 2015; GARCÍA-LOMILLO et al., 2017). Os dados sobre a associação do consumo de carne vermelha com câncer colorretal estavam disponíveis em 14 estudos de coorte. Associações positivas foram observadas com alto e baixo consumo de carne vermelha na metade desses estudos, incluindo uma coorte de dez países europeus, abrangendo uma ampla gama de consumo de carne e outras grandes coortes na Suécia e na Austrália (BOUVARD et al., 2015).

2.2 Aminas Aromáticas Heterocíclicas (AAH)

No final da década de 70 foi descoberta uma nova classe de compostos altamente mutagênicos presentes na carne – as Aminas Aromáticas Heterocíclicas (AAH), como resultado dos processos de cozeduras domésticas normais. Estudos *in vitro* e *in vivo* evidenciam que as AAH podem lesionar o DNA. Foram descobertos 20 compostos diferentes que pertencem a esta categoria (SUGIMURA, 1997).

As AAH são classificadas como Amino imidazo azoarenos (AIA) ou térmicas, as quais são produtos da reação de Maillard que ocorre entre aminoácidos e açúcares redutores, pois são formadas a temperaturas entre 150 e 250°C; e Amino Carbolinas (AC) ou pirolíticas, formadas devido à reação pirolítica de aminoácidos e proteínas a temperaturas acima de 250°C (RAHMAN et al., 2014; IWASAKI et al., 2010).

Estruturalmente dessas substâncias podem conter entre dois a cinco (geralmente três) anéis aromáticos, condensados com um ou mais átomos de nitrogênio e, um grupo amino exocíclico (GARCÍA-LOMILLO et al., 2017). As estruturas químicas, as abreviaturas mais comuns e os nomes das principais AAH estão apresentados na Figura 1. e na Tabela 1.

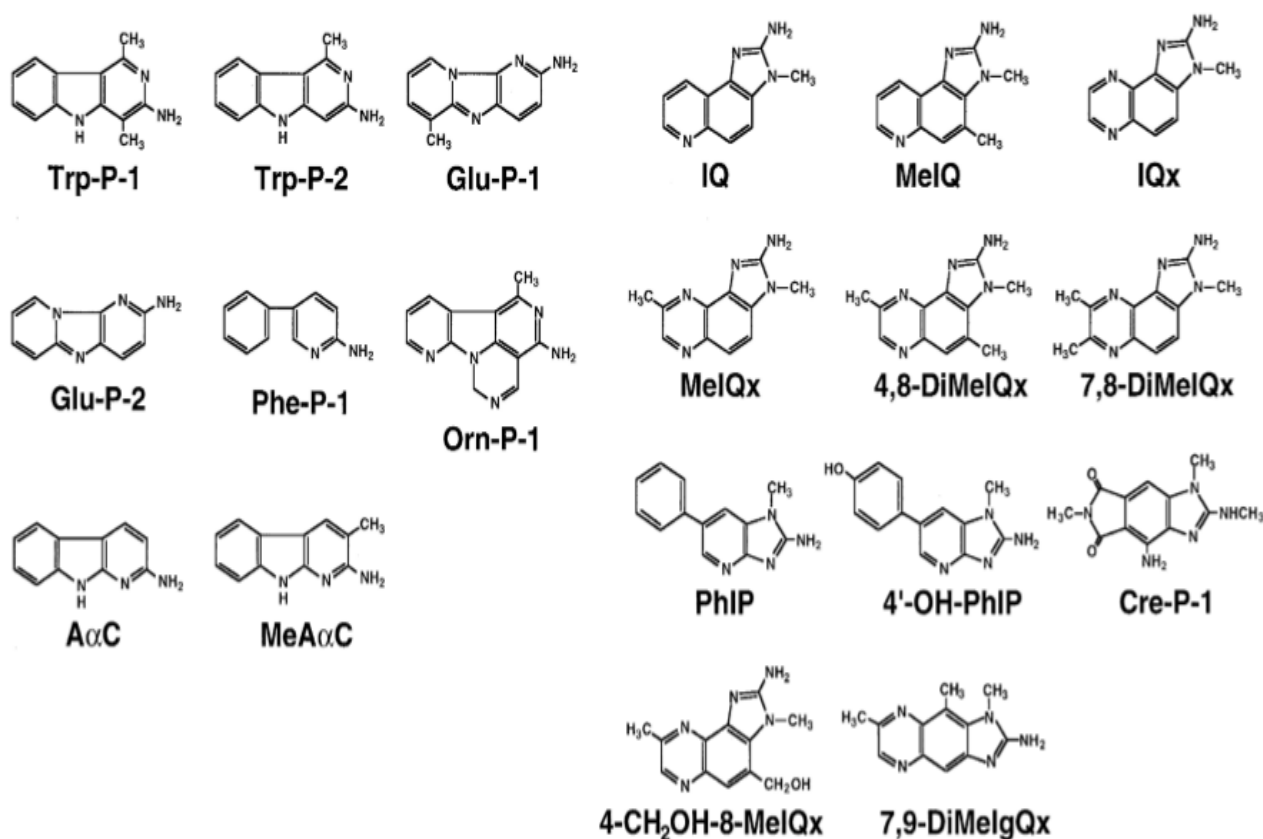


Figura 1. Estrutura química das principais aminas heterocíclicas. (adaptado de Toribio et al., 2002)

Tabela 1. Nomenclatura e abreviaturas de diferentes aminas heterociclicas (adaptado de Murkovik, 2007).

Quinolines	
IQ]quinoline	2-amino-3-methylimidazo[4,5-f
MeIQ]quinoline	2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f
Quinoxalines	
IQx]quinoxaline	2-amino-3-methylimidazo[4,5-f
MeIQx]quinoxaline	2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f
4,8-DiMeIQx]quinoxaline	2-amino-3,4,8-trimethylimidazo[4,5-f
7,8-DiMeIQx]quinoxaline	2-amino-3,7,8-
trimethylimidazo[4,5-f] quinoxaline	TriMeIQx
3,4,7,8-tetramethylimidazo[4,5-f] quinoxaline	2-amino-
4-CH ₂ OH-8- dimethylimidazo	2-amino-4-hydroxymethyl-3,8-
MeIQx]quinoxaline	[4,5-f
7,9-DiMeIgQx g]quinoxaline	2-amino-1,7,9-trimethylimidazo[4,5-
Pyridines	
PhIP b]pyridine	2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-
4'-OH-PhIP b]pyridine	2-amino-1-methyl-6-[4-hydroxyphenyl]imidazo [4,5-
DMIP dimethylimidazopyridine	
TMIP trimethylimidazopyridine	
Pyrido-imidazoles and indoles	
Trp-P-1 b]índole	3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-
Trp-P-2 b]índole	3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-
Glu-P-1]imidazole	2-amino-6-methyl-dipyrido[1,2-a:3',2'-d
Glu-P-2]imidazole	2-amino-dipyrido[1,2-a:3',2'-d

Entre estes compostos principais, a 2-amino-1-metil-6-fenilimidazo [4,5-b] piridina (PhIPs) está presente abundantemente em produtos cárneos cozidos e está altamente associada a riscos de câncer em seres humanos e ratos (RAHMAN et al., 2014).

2.2.1 Formação

O fato de que o fumo do cigarro contém muitos compostos mutagênicos foi a inspiração para Sugimura (1997) iniciar uma investigação sobre a possível formação de compostos cancerígenos na carne e em rápida sucessão de testes foi demonstrada atividade mutagênica de partes carbonizadas de peixe e grelhados (SUGIMURA et al., 2004). Aminas Aromáticas Heterocíclicas (polares) são produtos da reação de Maillard que ocorrem entre grupos amina livres dos aminoácidos, peptídeos e proteínas e os grupos hidroxil-glucosídicos dos açúcares redutores. Os aldeídos e as cetonas podem reagir de forma semelhante à dos açúcares redutores com os grupos amínicos livres. A formação das AAH envolve várias reações intermediárias de alguma complexidade. Os produtos resultantes das reações Maillard, são os aldeídos, resultantes de reações que ocorrem a elevadas temperaturas, e a creatinina. As AAH são vulgarmente classificadas em dois subgrupos, de acordo com a estrutura e mecanismo de formação. Incluem-se no grupo das aminas térmicas as quinolinas, as quinoxalinas, as piridinas e as furopiridinas, estas são as que mais frequentemente se encontram nos alimentos proteicos processados, sendo as que mais contribuem para o potencial mutagênico destes alimentos. E as aminas pirolíticas, que incluem as aminas Harman e Norharman que, apesar de não apresentarem propriedades mutagênicas, potenciam a mutagenicidade de outras AAH (COSTA, 2011).

A extensão em que AAH são produzidas em carnes cozidas depende do tipo de carne, temperatura e tempo de cozimento, método aplicado para cocção e grau de escurecimento durante a cocção. Evitar completamente a formação de AAH nos alimentos não é possível, mas a prevenção da sua formação parece ser uma medida adequada. A medida para reduzir a exposição diária às AAH consiste na identificação e classificação de práticas culinárias que minimizem a sua formação (RAHMAN et al., 2014).

2.2.2 Inibição parcial da formação das aminas aromáticas heterocíclicas

As concentrações de AAH podem ser reduzidas em carnes cozidas com a adição de compostos que possuem atividade antioxidante. Estudos mostram que uso de substâncias antioxidantes presentes em temperos comumente usados para dar sabor a carne, tais como alho, gengibre, tomilho, alecrim, pimenta vermelha e pimenta, possuem efeitos positivos na redução da formação de AAH (JINAP et al., 2015; VIEGAS et al., 2012). Além disso, a vitamina E, uso de sementes e casca de uva, vinho tinto, cerveja, extratos de hibisco e chá verde, também tem impacto na redução da formação de AAH em produtos derivados da carne de bovina (GIBIS et al., 2012; VIEGAS et al., 2014; HASKARACA et al., 2014; GIBIS et al., 2010). Vitaglione et al. (2002) relataram que os tomates inibem significativamente a produção de AAH, especialmente das imidazo quinolines (IQ) em carne bovina. A atividade antioxidante dos tomates é caracterizada pela presença de carotenoides. Os carotenoides a um nível de 1000 ppm diminuíram as concentrações de IQ e 2-Amino-3,8-dimetilimidazo [4,5-f] quinoxalina (MeIQx) até 36% e 11%, respectivamente.

Sabe-se que folhas de videira, do Latim *Vitis*, são compostas por muitas espécies distribuídas mundialmente, e que são um gênero que pertence à família *Vitaceae* (FERNANDES et al., 2013). Embora a videira seja uma cultura muito importante, os seus subprodutos, como é o caso da folha, são desvalorizados, portanto torna-se importante fomentar novas maneiras de valorizar este subproduto. Uma das maneiras do seu aproveitamento e atribuição de valor comercial seria seu uso para fins dietéticos e nutricionais (LIMA, 2015). Em alguns países da Europa e Norte de África, as folhas de videira têm sido utilizadas como um alimento rico em vitaminas, minerais e compostos fenólicos, onde sua utilização ocorre sob diversas formas, sendo o uso da folha fresca e em salmoura as mais utilizadas (GÜLER et al., 2014).

Existem alguns compostos que foram identificados em películas e folhas da videira, sendo eles, os flavonóides, antocianinas, aminoácidos, alguns ácidos orgânicos, vitaminas, carboidratos, gorduras, procianidinas, terpenos, enzimas e carotenoides (ORHAN et al., 2009). Há também a presença do ácido hidroxicinâmico e seus derivados, uma vez que estes são encontrados na parede celular dos vegetais. O ácido cafeico é um dos compostos derivados deste grupo,

demonstrando que as folhas de videira têm como principais compostos estes derivados fenólicos e flavonóides. Estes compostos têm sua propriedade antioxidante ligada a atividades de eliminação dos radicais livres e peroxidação lipídica, onde esta última promove a degradação oxidativa dos alimentos suscetíveis à oxidação (KOSAR et al., 2007). Evidenciando assim, que as folhas de videira auxiliam na prevenção e desenvolvimento de doenças ligadas ao estresse oxidativo.

A folha de videira também apresenta significativo teor de minerais e de fibra bruta, que podem diferenciar-se entre as diversas variedades de *V. vinífera* (SAT et al., 2002). Desse modo, seu consumo apresenta um crescimento e, com isso surgem novas pesquisas para investigar seu uso em diferentes produtos. No Mediterrâneo, o Sarma, consiste no prato popular à base de folhas de videira recheado com algum outro alimento, normalmente carne ou arroz. (DOGAN et al., 2015).

No que se refere às frutas cítricas, estas também são conhecidas por conterem antioxidantes naturais, os quais podem ser derivados do óleo, polpa, semente e casca. O interesse em encontrar antioxidantes naturais para uso em aplicações alimentares ou farmacêuticas tem aumentado consideravelmente, os quais podem proteger o corpo humano dos radicais livres e retardar o progresso de muitas doenças crônicas, bem como retardar ranço oxidativo lipídico em alimentos (GUIMARÃES et al., 2010). As cascas e as sementes são fontes de compostos fenólicos, que incluem ácidos fenólicos e flavonoides. Flavonoides são representados nas frutas cítricas por duas classes de compostos: flavonas polimetoxiladas e flavanonas glicosilada (SANTOS et al. 2014). O uso de suco de limão em marinados de carne grelhada demonstrou efeito positivo na redução de compostos cancerígenos (FARHADIAN et al., 2012).

As ervas como, alecrim e orégano, têm sido utilizadas com o intuito de oferecer maior segurança alimentar e aumentar o valor nutricional das preparações. Alimentos de origem vegetal são considerados as principais fontes de antioxidantes naturais, cuja atividade está ligada diretamente a presença de compostos fenólicos. Estudos relacionados às fontes de antioxidantes naturais, como extratos e óleos essenciais de ervas e plantas aromáticas demonstram resultados bastante satisfatórios ao serem aplicados, por exemplo, em alimentos. (FERNANDES, 2015; WANDERLEY, 2015)

2.3 Utensílios culinários

Cientificamente é conhecido que durante a elaboração culinária ocorrem interações entre os alimentos e os utensílios. A panela de ferro, utensílio comumente utilizado na cozinha brasileira, demonstrou que sua quantidade de ferro migrante do recipiente para o alimento pode suprir cerca de 20% das necessidades diárias do metal. Observou-se também que o ferro migrante dos utensílios possui biodisponibilidade similar ao ferro não-heme naturalmente presente nos alimentos (QUINTAES et al., 2004). O teor de transferência de ferro pode variar e isso pode ser devido a fatores como acidez do alimento, quantidade de água da preparação, temperatura e o tempo de contato entre o recipiente e o alimento. Apesar dos benefícios apresentados com a utilização de utensílios de ferro, a ingestão excessiva do ferro transferido aos alimentos pode apresentar efeitos colaterais sendo assim, há necessidade de cuidados com relação ao tempo de cozimento, preparo de todos os alimentos na panela de ferro, evitando assim o acréscimo excessivo de minerais (QUINTAES et al., 2010).

Outro utensílio bastante utilizado no processamento de alimentos é o aço inoxidável, popularmente conhecido como “aço inox”, o qual é uma liga metálica que envolve três elementos: ferro, cromo e níquel. Há controvérsias a respeito da toxicidade que o níquel pode representar à saúde do comensal (KULIGOWSKI et al., 1992; BRUN et al., 1979). Este metal é tido como um dos mais tóxicos da tabela periódica e sua toxicidade está associada à dermatite, asma e problemas alérgicos em geral (AGARWAL et al., 1997). Fatores que interferem na transferência da liga inox ao alimento e que, portanto, requerem cuidado no momento do preparo, são o número de vezes de uso da panela, acidez do alimento, tempo de cozimento, teor de sal e teor de água (QUINTAES et al., 2010).

As panelas de alumínio (pressão), as quais são excelentes condutores de calor, inicialmente eram consideradas atóxicas ao homem. No entanto, estudos tem avaliado a correlação entre a ingestão de alumínio e a incidência de demência, mal de Alzheimer e Parkinson (FERREIRA et al., 2008; PERL et al., 2006). Alimentos mais ácidos, teor de água e tempo de preparo, são fatores que

interferem no teor de transferência de alumínio às preparações (VERÍSSIMO et al., 2006; KARBOUJ, 2007; QUINTAES, 2000). Algumas interações dos utensílios com os alimentos podem ser consideradas como benéficas à saúde do comensal, enquanto outras podem chegar a ser prejudiciais. Neste sentido, dado sua relevância para a saúde do homem torna-se viável o conhecimento sobre qual papel utensílios culinários, confeccionados com diversos materiais, exercem sobre a possível formação de novas substâncias.

3 Objetivos

3.1 Objetivo Geral

Investigar o efeito da adição de folhas de videira em marinado contendo limão e ervas, e o uso de diferentes utensílios culinários na formação de aminas aromáticas heterocíclicas em carnes cozidas.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a atividade antioxidante de:

- Folhas de videira
- Marinado contendo limão e ervas (alecrim e orégano), com adição de folhas de videira;
- Marinado contendo limão e ervas (alecrim e orégano), sem adição de folhas de videira.

- Quantificar as Aminas Heterocíclicas, antes e após cada processo de cocção na:

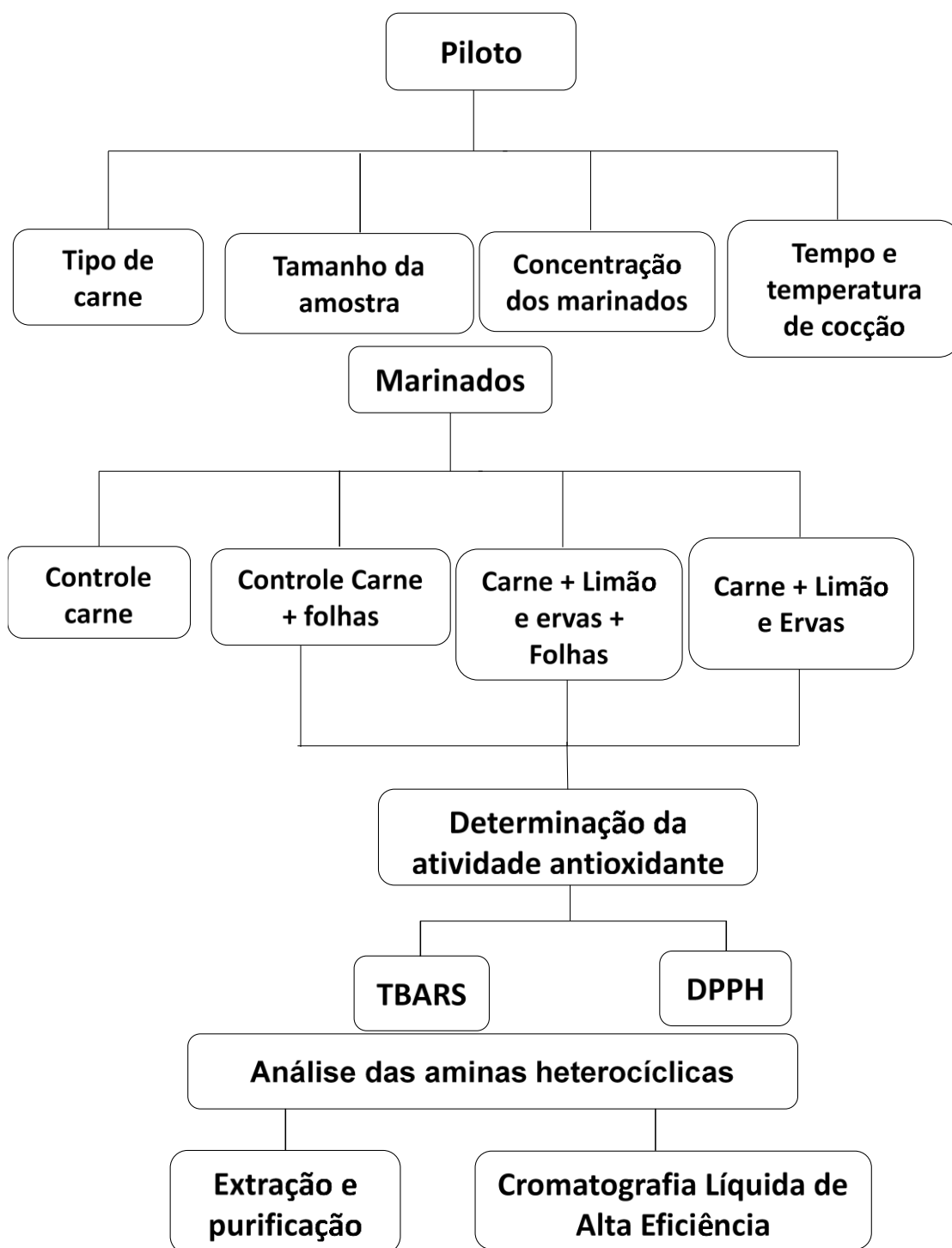
- Carne
- Carne marinada contendo folhas de videira;
- Carne marinada contendo limão e ervas (alecrim e orégano), com adição de folhas de videira;
- Carne marinada contendo limão e ervas (alecrim e orégano), sem adição de folhas de videira.

4 Hipótese

A adição de folhas de videira ao marinado resultará na redução da formação de aminas heterocíclicas.

O uso da panela de pressão para cocção ocasionará a formação de menores quantidades de amins aromáticas heterocíclicas.

5 Desenho experimental



7 Materiais e métodos

7.1 Delineamento Experimental

O estudo é fatorial 3x4x2, serão utilizados três diferentes utensílios, quatro procedimentos com e sem marinados, em dois tempos de coleta de amostras. Serão 231 determinações ao todo, sendo o estudo replicado uma vez $[(3 \times 4 \times 2 \times 4) + 1] \times 3 = 231$ determinações, + repetição, totalizando 462 avaliações.

7.2 Reagentes e utensílios

Para a realização do presente trabalho os padrões utilizados serão 2-amino-3 metilimidazo [4,5-f] quinolina (IQ), 2-amino-3-metilimidazo [4,5-f] quinoxalina (IQx), 2 amino-3,4-dimetilimidazo [4,5-f] quinolina (MeIQ), 2-amino-3,8-dimetilimidazo [4,5f] quinoxalina (MeIQx), 2-amino-3,4,8-trimetilimidazo [4,5-f] quinoxalina (4,8DiMeIQx), 2-amino-3,7,8-trimetilimidazo [4,5-f] quinoxalina (7,8-DiMeIQx), 2-amino-3,4,7,8-tetrametilimidazo[4,5-f]quinoxalina (TriMeIQx), 2-amino-1-metil-6 fenilimidazo[4,5-b]piridina (PhIP), 3-amino-1,4-dimetil-5H-pirido[4,3-b]indole (Trp-P1), 3-amino-1-metil-5H-pirido [4,3-b] indole (Trp-P-2), 2-amino-9H-pirido [2,3-b] indole (AαC) 2-amino-3-metil-9H-pirido[2,3-b]indole (MeAαC), 2-amino-6-metildipirido[1,2a:3',2'-d] imidazole (Glu-P-1), 2-amino-dipirido[1,2-a:3',2'-d]imidazole (Glu-P-2). As soluções padrão de 100 µg/ml serão preparadas em metanol e usadas para posteriores diluições.

Será utilizado metanol, acetonitrila e diclorometano (DCM) com um grau de pureza específico para HPLC. Os reagentes usados para extração das AAH (hidróxido de sódio, ácido clorídrico, acetato de amônio) e para a fase móvel, a trietilamina, serão de grau pró análise. Etanol e acetato de etila de grau analítico.

A correção do pH das soluções tampão será conseguida usando um eletrodo de vidro associado a um medidor de pH. As soluções serão filtradas através de uma membrana de nylon com 0,2 µm de tamanho de poro, antes de serem injetadas no sistema de HPLC. Na homogeneização das amostras será

utilizado o aparelho agitador de vortex e um banho de ultrassons. Os dispositivos Visiprep e o distribuidor de vácuo Visidry SPE vacuum serão utilizados para a manipulação dos cartuchos na extração de fase sólida e evaporação do solvente respectivamente (MELO, 2008).

Os procedimentos de cocção serão realizados no Laboratório de Técnica Dietética da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), utilizando-se três diferentes utensílios culinários: Panela de pressão (PP), panela de ferro (PF) e panela de inox (PI).

7.3 Amostras dos insumos

7.3.1 Folhas de videira

As folhas de videira serão adquiridas de uma vinícola, com produção orgânica, da região do município de Pelotas-RS, levando-se em consideração no momento da coleta: o solo, características de plantio e da planta e casta da uva.

7.3.2 Ervas aromáticas

Para estudo do efeito dos marinados sobre a formação de aminas heterocíclicas as ervas analisadas serão alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e orégano (*Origanum vulgare*), as quais serão adquiridas de fornecedor localizado na cidade de Pelotas-RS, e os extratos preparados da seguinte forma: após a aquisição das ervas, as mesmas serão secas em estufa a 40°C, moídas em moinho e armazenadas em geladeira (7°C) para análises posteriores.

7.3.3 Limão

Para estudo do efeito dos marinados na formação das aminas heterocíclicas os limões Taiti (*Citrus latifolia*), serão adquiridos de fornecedor localizado na cidade de Pelotas-RS e, imediatamente após a aquisição serão mantidos sob refrigeração, para posterior preparação dos marinados.

7.3.4 Obtenção dos extratos

Para o preparo dos extratos das ervas aromáticas, serão pesados 2g de erva desidrata e moída. A extração ocorrerá com 15 mL de etanol a 80% v/v em banho-maria a 70°C, por 30min (CARPES, 2008). Após a filtragem em papel de

filtro Whatman nº 5, os EEEA (Extrato Etanólico da Erva Aromática) serão utilizados para as análises de atividade antioxidante.

Já para as folhas de videira, após colhidas, serão imediatamente congeladas para posterior liofilização. Para cada amostra, as folhas liofilizadas serão trituradas e 5g adicionadas a 250 ml de água destilada para preparação dos extratos aquosos. Após filtração a solução de água mais o extrato será congelada e posteriormente liofilizada, para obtenção do extrato. Os extratos serão utilizados para análises posteriores.

7.4 Amostras de carnes

As amostras de carne utilizadas no presente trabalho serão adquiridas em um supermercado da cidade de Pelotas –RS, sendo que o corte de carne bovina escolhido para as análises será o coxão de dentro, o qual está localizado na parte traseira do animal.

7.5 Condições de processamento

Será realizado um estudo piloto, de acordo com Melo (2008) com algumas modificações, a fim de padronizar o tamanho dos cortes da carne para cada marinado, proporção dos ingredientes em relação à carne, tempo e temperatura de cocção. A amostra será dividida em quatro grupos e submetida a diferentes tipos de marinados: Controle sem folhas de videira (CSF); Controle com folhas de videira (CCF); Limão e ervas, sem folha de videira (LESF) e Limão e ervas, com folhas de videiras (LECF).

Após a cocção, as amostras serão cortadas e trituradas utilizando-se multiprocessador e armazenadas para análises posteriores.

7.6 Determinações Analíticas

7.6.1 Reação ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

A reação ao ácido tiobarbitúrico será determinada de acordo com o método proposto por Ohkawa et al. (1979). Primeiramente serão incubados em banho maria a 80 °C, tubos de ensaio contendo água Mili Q, Azeite de Oliva Extra Virgem submetidos à oxidação por 100µM de sulfato ferroso, por 10 minutos. Posteriormente, será adicionado em cada tubo a amostra de cada

marinado com diferentes concentrações e temperaturas de extração, Lauril Sulfato de Sódio (SDS) 8,1%, Tampão de Ácido Acético pH 3,44 e Ácido Tiobarbitúrico (TBA) 0,6%. Em seguida, será incubado novamente em banho maria a 100 °C por 1 hora. Os produtos da reação serão determinados por medida de absorbância em 532nm, em espectrofotômetro. A concentração de TBARS será calculada através de uma curva padrão, concentrações conhecidas de 1,1,3,3 – tetrametoxipropano, e os resultados serão expressos em nm de Malonaldeído (MDA) g⁻¹ de amostra. O experimento será realizado em triplicata.

7.6.2 Capacidade antioxidante pelo método do DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

O método DPPH utilizado será o descrito por Brand-Williams et al. (1995) baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorbância a 515 nm. O DPPH será utilizado na concentração de 60 µM, dissolvido em álcool metílico. Em ambiente escuro, será transferida uma alíquota de 0,1 mL de amostra para tubos de ensaio contendo 3,9 mL do radical DPPH (60 µM) e, em seguida, homogeneizados. Será utilizado 0,1 mL de uma solução controle (solução controle de álcool metílico 50% (40 mL), acetona 70% (40 mL) e água (20 mL)) com 3,9 mL do radical DPPH (60 µM). Após o preparo, as amostras dos marinados serão armazenadas em ambiente escuro por 45 minutos. Como branco será utilizado álcool metílico e a curva padrão será realizada a partir da solução inicial de DPPH (60 µM), variando a concentração de 10 µM a 50 µM. Os resultados serão expressos em EC₅₀ (µg mL⁻¹). O experimento será realizado em triplicatas.

7.7 **Análise de Aminas aromáticas Heterocíclicas.**

7.7.1 **Extração e purificação**

A extração e purificação serão realizadas de acordo como o método desenvolvido por Toribio et al. (2007), apud Melo 2008. Para a preparação da amostra, em ultrassom durante 10 minutos, 5 gramas de amostra de carne serão homogeneizados com 20 mL de NaOH 1M, após a suspensão será mantida sob agitação durante 1 hora em agitador. A solução alcalina deve ser misturada com o material de enchimento Extrelut® (16g) e esta mistura colocada na coluna Extrelut®. Uma coluna Bond Elut PRS, depois de pré-condicionada com 7 mL de

DCM, será acoplada com a coluna de Extrelut®. Para extrair as AAH da terra de diatomáceas deve-se passar 75 mL de DCM através da montagem. Serão passadas através das colunas de PRS as soluções de lavagem, que consistem em 15 mL de metanol:água (40:60) e 2 mL de água. As AAH serão eluídas para uma coluna Bond Elut C18 com 20 mL de acetato de amônia 0,5 M a pH 8,5 e finalmente transferidas para um microtubo de centrífuga, com 0,8 mL de metanol:amônia (90:10). Esta solução será levada à secura em corrente de azoto. As AAH serão reconstituídas em 80 µL de metanol/fase móvel (1:1). O extrato obtido será analisado utilizando HPLC-DAD.

7.7.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - HPLC

O cromatógrafo consiste no sistema HPLC-Shimadzu, com injetor automático, detector diodos MD 910. A fase móvel será constituída por: solvente A, trietilamina 0,01M ajustado com ácido orto-fosfórico a um pH 3,2, solvente B com constituição igual ao solvente A, mas ajustado a pH 3,6 e o solvente C acetonitrilo. O programa para a separação cromatográfica das HA será o gradiente linear, realizadas à temperatura ambiente.

7.7.3 Quantificação dos padrões de referência adicionados e amostras

Para os padrões, as extrações serão realizadas em quadruplicata com alíquotas de 2g que serão apontadas com 0, 10 20 ou 100µl de padrão de referência (mistura A), para cada composto, análise de regressão linear será realizada com a concentração determinada após purificação e análise por HPLC de uma amostra (x) versus a concentração em uma amostra apontada antes da extração (y). Eficácia de extração será expressa como a inclinação da regreção linear calculada.

Nas amostras de carnes as AAH detectadas serão corrigidas utilizando-se o método das adições de padrão (MELO, 2008), que consiste na adição de quantidades conhecidas dos compostos a analisar a quantidades conhecidas de amostra. As áreas dos picos cromatográficos obtidos são representadas em função das concentrações de AAH adicionadas às amostras, construindo-se uma curva de calibração. O ponto onde a curva corta o eixo das ordenadas corresponde à área do pico na amostra sem adição de padrão. A extrapolação das leituras fornecerá o valor da concentração das AAH nas amostras. Deste

modo, efetuar-se-a a adição de 25 e 50 ng da solução metanólica dos padrões IQ, MeIQ e MeIQx.

8 Cronograma

No quadro 1 está apresentado o cronograma de atividades a serem desenvolvidas durante a execução do projeto de pesquisa.

Quadro 1. Cronograma de atividades para execução do projeto de pesquisa

Atividades/ períodos	2016		2017		2018
	I	II	I	II	I
Revisão da literatura	X	X	X	X	X
Desenvolvimento das análises			X	X	X
Tabulação de dados e análise dos resultados				X	X
Desenvolvimento do artigo científico				X	X
Defesa da Dissertação					X

9 Orçamento

No quadro 2 está apresentado o orçamento para execução do projeto de pesquisa.

Quadro 2. Orçamento financeiro para execução do projeto de pesquisa

Materiais	Unidades	Valor (R\$)
Acetato Etilico	1L	R\$ 16,00
Acetonitrila	1L	R\$ 104,52
Ácido clorídrico	-	-
Acetona	1L	R\$ 10,00
Acetato de amônio	1Kg	R\$ 87,27

Ácido Acético	1L	R\$ 100,00
Ácido Sulfúrico 20%	1L	R\$ 23,00
Ácido Tiobarbitúrico (TBA)	100g	R\$ 259,00
Álcool etílico	5L	R\$ 50,00
Álcool metílico	1L	R\$ 8,00
Azeite de oliva extra virgem	100ml	R\$ 12,00
Bicarbonato de Potássio	500g	R\$ 24,00
DPPH	25g	R\$ 239,00
Diclorometano	-	-
Éter de petróleo	1L	R\$ 65,00
Eppendorf	500unidade.	R\$ 22,00
Hidróxido de Sódio	500g	R\$ 36,15
Lauril sulfato de sódio	100g	R\$ 12,96
Nitrogênio	20L	R\$ 100,00
Reagente Folin-Ciocateau	100mL	R\$ 212,00
Tubos Falcon	300unidade.	R\$ 34,00
Terra de diatomáceas	500 g	R\$ 98,26
Cartucho Bond Elut C18	30 un	R\$ 255,74
2-amino-3 metilimidazo [4,5-f] quinolina (IQ)	5mg	R\$ 900,00
2-Amino-3,4,7,8-tetramethyl-3H-imidazo[4,5-F] quinoxaline (TriMeIQx)	10mg	R\$ 600,00
2 amino-3,4-dimetilimidazo [4,5-f] quinolina (MeIQ)	10 mg	R\$ 600,00
2-amino-3,8-dimetilimidazo [4,5f] quinoxalina (MeIQx)	1mg	R\$ 1.050,00
2-amino-3,4,8-trimetilimidazo [4,5-f] quinoxalina (4,8DiMeIQx)	10mg	R\$ 660,00

3-amino-1-metil-5H-pirido [4,3-b] indole (Trp-P-2)	10mg	R\$ 900,00
2-amino-3-metilimidazo [4,5- f] quinoxalina (IQx)	-	-
2-amino-3,7,8-trimetilimidazo [4,5-f] quinoxalina (7,8- DiMeIQx)	-	-
2-amino-1-metil-6 fenilimidazo[4,5-b]piridina (PhIP)	--	-
3-amino-1,4-dimetil-5H- pirido[4,3-b]indole (Trp-P1)	-	-
2-amino-9H-pirido [2,3-b] indole (AaC)	-	-
2-amino-3-metil-9H- pirido[2,3-b]indole (MeAaC)	-	-
2-amino-6- metildipirido[1,2a:3',2'-d] imidazole (Glu-P-1)	-	-
2-amino-dipirido[1,2-a:3',2'-d] imidazole (Glu-P-2)	-	-
Carne coxão de dentro	1Kg	R\$ 28,00
Limão	1Kg	R\$ 5,00
Alecrim	100g	R\$ 2,00
Orégano	100g	R\$ 4,00
Papel filtro Whatman nº 5 125MM	100un	R\$ 296,00
Trietilamina	500MI	R\$ 244,08
TOTAL		R\$ 7.050,98

Referências

- AGARWAL, P.; SRIVASTAVA, S.; SRIVASTAVA, M. M. et al. Studies on leaching of Cr and Ni from stainless steel utensils in certain acids and in some Indian drinks. **Sci Total Environ**, v. 199, n. 3, p. 217-5, 1997.
- AHN, J.; GRÜN, I. U. Heterocyclic amines: 2. Inhibitory effects of natural extracts on the formation of polar and nonpolar heterocyclic amines in cooked beef. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 4, p. 263-268, 2005.
- ALAEJOS, M. S.; AFONSO A. M. Factors that affect the content of heterocyclic aromatic amines in foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 10, p. 52-108, 2011.
- BALOGH, Z.; GRAY, J. I. et al. Formation and inhibition of heterocyclic aromatic amines in fried ground beef patties. **Food and Chemical Toxicology**, v. 38, p. 395-401, 2000.
- BOUVARD, V.; LOOMIS, D.; GUVTON, K. Z. et al. Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. *Lancet Oncol.*, v. 16, n. 16, p. 1599-600, 2015.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm Wiss Technol**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Instituto Nacional de Câncer. Disponível em: <http://www1.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=322>. Acesso em: 6 Mar 2017.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de atenção à saúde. Departamento de atenção básica. Guia alimentar para a população brasileira. – 2. ed. – Brasília, 2014. 156 p. Disponível em: <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2014/novembro/05/Guia-Alimentar-para-a-pop-brasiliera-Miolo-PDF-Internet.pdf>>. Acesso em: 6 Mar 2017.
- BRUN, R. Nickel in food: the role of stainless-steel utensils. **Contact Dermatitis**, v. 5, n. 1, p. 43-5, 1979.
- BUSQUETS, R.; PUIGNOU, L.; et al. Effect of red wine marinades on the formation of heterocyclic amines in fried chicken breast. **J Agric Food Chem.**, v. 54, n. 21, p. 8376-84, 2006.
- CARPES, S. T. **Estudo das características físico-químicas e biológicas do pólen apícola de Apis mellifera L. da região Sul do Brasil**. 2008. 255 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

- CARVALHO, A. M.; CÉSAR, C. L. G.; FISBERG, R. M.; MARCHIONI, D. M. Meat Consumption in Sao Paulo – Brazil: Trend in the Last Decade. **PLoS ONE**, v.9, n. 5, p. 1-6, May. 2014.
- COSTA, M. P.O. **Aminas Aromáticas Heterocíclicas em sardinha e salmão grelhados: Influência do processamento culinário**. 2011. 92 f. Dissertação (Mestrado em Controle de Qualidade) - Faculdade de farmácia, Universidade do Porto, Porto, 2011.
- CROSS, A. J.; FREEDMAN, N. D. et al. Meat consumption and risk of esophageal and gastric cancer in a large prospective study. **Am J Gastroenterol.**, v. 106, n. 3, p. 432-42, 2011.
- DAMASIUS, J.; VENSKUTONIS, P. R. et al. Assessment of the Influence of some spice extracts on the formation of heterocyclic amines in meat. **Food Chemistry**, v. 126, n. 1, p. 149-156, 2011.
- DANI, C.; OLIBONI, L. S.; AGOSTINI, F.; FUNCHAL, C. et al. Phenolic content of grapevine leaves (*Vitis labrusca* var. Bordo) and its neuroprotective effect against peroxide damage. **Toxicology in Vitro**, v. 24, p. 148–153, 2010.
- DOGAN, Y.; NEDELICHEVA, A. et al. Of the importance of a leaf: the ethnobotany of sarma in Turkey and the Balkans. **J Ethnobiol Ethnomed**, v. 11, p. 11-26, 2015.
- FERNANDES, F.; RAMALHOSA, E.; PIRES, P. et al. Vitis vinifera leaves towards bioactivity. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 434–440, 2013.
- FERNANDES, R. P. P. **Uso de extratos antioxidantes naturais obtidos de ervas aromáticas na elaboração de produtos a base de carne ovina**. 2015. 253 f. Dissertação (Ciência da Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.
- FERREIRA, C. P.; PIAI, K. A. et al. Alumínio como fator de risco para a doença de Alzheimer. **Rev Latino-am Enfermagem**, v.16, n. 1, p. 1-7, 2008.
- GARCÍA-LOMILLO, J.; VIEGAS, O.; GONZALEZ-SANJOSE, M. L. FERREIRA, I. M. Influence of red wine pomace seasoning and high-oxygen atmosphere storage on carcinogens formation in barbecued beef patties. **Meat Sci.**, v. 125, p. 10-15, 2017.
- GEVAART-DURKIN, A.; de PEYSTER, A. High-temperature cooked meats. **Encyclopedia of toxicology**. 3rd ed. v. 2, p 912–5, 2014.
- GIBIS, M.; WEISS, J. Inhibitory effect of marinades with hibiscus extract on formation of heterocyclic aromatic amines and sensory quality of fried beef patties. **Meat Science**, v. 85, n. 4, p. 735-742, 2010.
- GROSS, G. A. Simple methods for quantifying mutagenic heterocyclic aromatic amines in food products. *Carcinogenesis*, v. 11, p. 1597- 1603, 1990.

- GUIMARÃES, L.; BARROS, L.; et al. Targeting excessive free radicals with peels and juices of citrus fruits: Grapefruit, lemon, lime and orange. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 1, p. 99-106, 2010.
- GÜLER, A.; CANDEMIR, A. Total Phenolic and Flavonoid Contents , Phenolic Compositions and Color Properties of Fresh Grape Leaves. **Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences**, v. 6, n. 1, p. 778–782, 2014.
- HERNÁNDEZ, A. R.; BOADA, L. D.; GONZÁLEZ-ALMEIDA, M.; MENDOZA, Z. et al. An estimation of the carcinogenic risk associated with the intake of multiple relevant carcinogens found in meat and charcuterie products. **Science of the Total Environment**, v. 514, p. 33–41, 2015.
- IWASAKI, M.; KATAOKAB, H. et al. Heterocyclic amines content of meat and fish cooked by Brazilian methods. **J Food Compost Anal.**, v. 23, n. 1, p. 61–69, 2010.
- JINAP, S. et al. Effect of selected local spices marinades on the reduction of heterocyclic amines in grilled beef (satay). **LWT - Food Science and Technology**, v. 63, p. 919-926, 2015.
- KARBOUJ, R. Aluminium leaching using chelating agents as compositions of food. **Food Chem Toxicol**, V. 45, n. 9, p. 1688-93, 2007.
- KOSAR, M; KÜPELI, E.; MALYER, H. et al. Effect of Brining on Biological Activity of Leaves of *Vitis vinifera* L. (Cv. Sultani Cekirdeksiz) from Turkey. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 11, p. 4596– 4603, 2007.
- KULIGOWSKI, J.; HALPERIN, K. M. Stainless steel cookware as a significant source of nickel, chromium, and iron. **Arch Environ Contam Toxicol**, v. 23, n. 2, p. 211-5. 1992.
- LIMA, A. F. Caracterização da bioatividade de folhas de diferentes castas de videira quando sujeitas a processamento alimentar. 2015. 99 F. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) – Escola superior agrária, Bragança, 2015.
- LOMOLINON, G.; CRAPISI, A.; CAGNIN, M. Study of elements concentrations of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) fillets after cooking on steel, cast iron, teflon, aluminum and ceramic pots. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 5, n. 6, p. 1–9, 2016.
- MCAFEE, A. J.; et al. Red meat consumption: An overview of the risks and benefits. **Meat Scienc**, v. 84, n. 1, p. 1-13, 2010.
- MELO, A. J. A. **Extração e quantificação de amins aromáticas heterocíclicas em carne por HPLC: efeito da adição de ingredientes ricos em antioxidantes.** 2008. 90 f. Dissertação (Mestrado em Controle de Qualidade), Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto. Porto. 2008.
- MICHA, R.; WALLACE, S. K.; MOZAFFARIAN, D. Red and processed meat consumption and risk of incident coronary heart disease, stroke, and diabetes

mellitus: A systematic Review and Meta-Analysis. **Circulation.**, v. 121, n. 21, p. 2271-2283, 2010.

MURKOVIC, M. Analysis of heterocyclic aromatic amines. **Anal Bioanal Chem**, v. 389, n. 1, p. 139-46, 2007.

OHKAWA, H.; OHISHI, H.; YAGI, K. Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Anal Biochem**, v. 95, n. 2, p. 351-58, 1979.

OLIBONI, L. S.; DANI, C.; et al. Hepatoprotective, cardioprotective, and renal-protective effects of organic and conventional grapevine leaf extracts

ORHAN, D. D.; ORHAN, N. et al. Biological activities of *Vitis vinifera* L. leaves. **Turkish Journal of Biology**, v. 33, p. 341–348, 2009.

PERL, D.P. MOALEM, S. Aluminum and Alzheimer's disease, a personal perspective after 25 years. **J Alzheimers Dis**, v. 9, n. 3, p. 291-300, 2006.

PFAU, W.; SKOG, K. Exposure to b-carbolines Norharman and Harman. **J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life sci**, v. 802, n. 1, p. 115-26, 2004.

QUELHAS, I.; PETISCA, C.; VIEGAS, O. et al. Effect of green tea marinades on the formation of heterocyclic aromatic amines and sensory quality of pan-fried beef. **Food chemistry**, v. 122, n. 1, p. 98-104, 2010.

QUINTAES, K. D. Utensílios para alimentos e implicações nutricionais. **Rev. Nutr**, v. 13, n. 3, p. 151-156, 2000.

QUINTAES, K. D.; CALEFFI, R. **Tudo sobre panelas**. 1. ed. São Paulo: Atlântica, 2010. 150 p.

QUINTAES, K. D.; FARFAN-AMAYA, J. et al. Migração de minerais de panelas brasileiras de aço inoxidável, ferro fundido e pedra-sabão (esteatito) para simulantes de alimentos. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.24, n. 3, p. 397-402, jul.-set. 2004.

QUINTAES, K. D.; FARFAN-AMAYA, J. et al. Mineral Migration and Influence of Meal Preparation in Iron Cookware on the Iron Nutritional Status of Vegetarian Students. **Ecology of Food and Nutrition**, v. 46, n. 2, p. 125-141 2007.

RAHMAN, U. U. et al. Production of heterocyclic aromatic amines in meat: Chemistry, health risks and inhibition. A review. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 229-233, 2014.

ROHRMANN, S.; HERMANN, S.; LINSEISEN, J. Heterocyclic aromatic amine intake increases colorectal adenoma risk: findings from a prospective European cohort study. **Am J Clin Nutr**, v. 89, 1418–24, 2009.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E. et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS. Embrapa: Comunicado técnico, 2007. Disponível em < www.cnpat.embrapa.br/download_publicacao.php?id=210>. Acesso em: 4 Mar. 2017.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E. et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Fruta pelo método de redução do ferro (FRAP). Embrapa: Comunicado técnico, 2006. Disponível em < http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/down/index.php?pub/cot_125.pdf>. Acesso em: 4 Mar. 2017.

Santos F.J., Barceló-Barrachina E., et al. Analysis of heterocyclic amines in food products: interlaboratory studies. *J. Chromatogr. B*, v. 802, p. 69–78, 2004.

SANTOS, A. A. O.; SILVA, I. V. C. et al. Elaboração de biscoitos de chocolate com substituição parcial da farinha de trigo por polvilho azedo e farinha de albedo de laranja. **Ciência Rural**, v. 41, n. 3, p. 531-536, 2011.

SANTOS, F. J.; BARCELO-BARRACHINA, E.; TORIBIO, F. et al. Analysis of heterocyclic amines in food products: Interlaboratory studies. **J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.**, v. 802, n. 1, p. 69-78, 2004.

SAT, I. G.; SENGUL, M.; KELES, F. Use of Grape Leaves in Canned Food. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.1, n. 6, p. 257–262, 2002.

SCHNEIDER, B. C.; DURO, S. M. S.; ASSUNÇÃO, M. C. F. Consumo de carnes por adultos do sul do Brasil: um estudo de base populacional. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.19, n.8, p. 3583-3592, 2014.

SHIN, A.; SHRUBSOLE, M. J.; NESS, R. M. et al. Meat and meat-mutagen intake, doneness preference and the risk of colorectal polyps: the Tennessee colorectal polyp study. **Int J Cancer**, v. 121, n. 1, p. 136–42, jul. 2007.

SUGIMURA, T. Overview of carcinogenic heterocyclic amines. **Mutat Res**, v. 376, n. 1-2, p. 211-219, 1977.

SUGIMURA, T.; WAKABAYASHI, K. et al., Heterocyclic amines: Mutagens/carcinogens produced during cooking of meat and fish. **National Cancer Center**, v. 5, n. -1-1, p. 104-0045, 2004.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *prunus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. **J. Sci. Food Agric**, v. 10, p. 63-68, 1959.

TEIXEIRA, A. H. D. C.; SOUZA, R. A. et al. Aptidão agroclimática da cultura da videira no Estado da Bahia, Brasil. Rev. Bras. eng. agríc. Ambient, v.6, n.1, p. 107-111, 2002.

TSEN, S. Y.; AMERI, F.; SMITH, J. S. Effects of rosemary extracts on the reduction of heterocyclic amines in beef patties. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 8, p. 469-473, 2006.

ÜNVER, A.; ÖZCAN, M.; ARSLAN, D.; AKIN, A. The Lactic Acid Fermentation of Three Different Grape Leaves Grown in Turkey. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 31, n. 1, p. 73–82, 2007.

VERÍSSIMO, M. I. S.; OLIVEIRA, J. A. B. P.; GOMES, M. T. S. R. Leaching of aluminium from cooking pans and food containers. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 118, n. 1-2, p. 192-197.

VIEGAS, O.; AMARO, L. F.; FERREIRA, I. M.; PINHO, O. Inhibitory Effect of Antioxidant-Rich Marinades on the Formation of Heterocyclic Aromatic Amines in Pan-Fried Beef. **J Agric Food Chem.**, v. 60, n. 24, p. 6235-40, 2012.

VIEGAS, O.; YEBRA-PIMENTEL, I.; et al. Effect of Beer Marinades on Formation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Charcoal-Grilled Pork. **J Agric Food Chem.**, v. 62, n. 12, p. 2638-43, 2014.

VITAGLIONE, P.; MONTI, S. M.; AMBROSINO, P.; et al. Carotenoids from tomatoes inhibit heterocyclic amine formation. *European Food Research and Technology*, v. 215, n. 2, p. 108-113, 2002.

WANDERLEY, A. L. **Atividade antioxidante e antimicrobiana do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis L.*, cultivado em sistema orgânico sob diferentes condições, frente a bactérias causadoras de mastite bovina.** 2015. 55 f Dissertação (Programa de pós-graduação em Agronomia) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

WORLD CANCER RESEARCH FUND/ AMERICAN INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. **Washington DC: AICR**, p.382, 2007.

6. Relatório do Trabalho de Campo

Foram realizadas modificações quanto as análises de atividade antioxidante, optou-se por acrescentar a análise de ABTS por ser um método semelhante ao DPPH e por poder ser mais uma comprovação da atividade antioxidante dos marinados, frente as divergências encontradas na literatura quando a métodos de extração e de análise.

A análise de compostos fenólicos, também não estava prevista, mas diante da atuação destes como antioxidantes e da sua importância na redução da formação das aminas, de acordo com a literatura, julgou-se necessária a avaliação do teor desses compostos nos marinados.

Além disso as referências dos métodos TBARS e da extração, identificação e quantificação das aminas foram alteradas, devido a disponibilidade de materiais e por melhor se adequarem ao experimento.

7. Artigo

8. Considerações Finais

Os resultados obtidos com o presente estudo demonstraram que o marinado Ervas+Limão foi significativamente superior aos demais extratos, na capacidade de captura do radical DPPH. Com relação à análise de ABTS, o marinado Folhas+Ervas+Limão em extrato aquoso apresentou valor significativo, enquanto que para o extrato etanólico não houve diferença estatística comparado ao Ervas+Limão, este fato demonstra que a folha quando associada ao E.L. pode potencializar seu efeito antioxidante.

O teor de compostos fenólicos, estiveram associados à atividade antioxidante, o marinado E.L. apresentou resultado significativo em relação aos demais. Na análise de TBARS foi possível observar que, comparado à amostra controle, a amostra submetida ao marinado F.E.L. e cozida em panela de ferro apresentou o melhor resultado, demonstrando que a capacidade antioxidante dos diferentes compostos presentes neste marinado foi eficaz frente à formação de produtos gerados na oxidação lipídica.

De modo geral os diferentes marinados foram eficazes na redução da formação de AAH. Na formação de amina por utensílio, a panela de inox foi a que apresentou menor nível das aminas IQ e MeIQ.

O presente estudo demonstrou que ingredientes comumente utilizados para marinar carnes, bem como a folha de videira, foram eficazes na redução da formação de AAH. O uso de marinados com diferentes ervas, especiarias e frutas são estratégias importantes para reduzir os riscos que a formação desses compostos pode causar à saúde. Enfatiza-se a necessidade de mais estudos, que avaliem a influência dos metais presentes nos utensílios sobre a formação de AAH.

REFERÊNCIAS

- AGARWAL, P.; SRIVASTAVA, S.; SRIVASTAVA, M. M. et al. Studies on leaching of Cr and Ni from stainless steel utensils in certain acids and in some Indian drinks. **Sci Total Environ**, v. 199, n. 3, p. 217-5, 1997.
- AHN, J.; GRÜN, I. U. Heterocyclic amines: 2. Inhibitory effects of natural extracts on the formation of polar and nonpolar heterocyclic amines in cooked beef. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 4, p. 263-268, 2005.
- ALAEJOS, M. S.; AFONSO A. M. Factors that affect the content of heterocyclic aromatic amines in foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 10, p. 52-108, 2011.
- BALOGH, Z.; GRAY, J. I. et al. Formation and inhibition of heterocyclic aromatic amines in fried ground beef patties. **Food and Chemical Toxicology**, v. 38, p. 395-401, 2000.
- BÂNG, J., NUKAYA, H., SKOG, K. Blue Chitin columns for the extraction of heterocyclic amines from cooked meat. **Journal of Chromatography A**, 977(1), 97–105, 2002. DOI: 10.1016/S0021-9673(02)01351-1
- BARROS, H. R. M., FERREIRA, T. A. P. C., GENOVESE, M. I. Antioxidant capacity and mineral content of pulp and peel from commercial cultivars of citrus from Brazil. **Food Chemistry**, 134(4), 1892-1898, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.090>
- BASTIDE, N. M., CHENNI, F., AUDEBERT, M., SANTARELLI, R. L., TACHÉ, S., NAUD, N., BARADAT, M., JOUANIN, I., SURYA, R., HOBBS, D. A., KUHNLE, G. G., RAYMOND-LETRON, I., GUERAUD, F., CORPET, D. E., PIERRE, F. H. F. A Central Role for Heme Iron in Colon Carcinogenesis Associated with Red Meat Intake. **Cancer Research**, 75(5), 870-9, 2015. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-2554
- BOUVARD, V.; LOOMIS, D.; GUVTON, K. Z. et al. Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. *Lancet Oncol.*, v. 16, n. 16, p. 1599-600, 2015.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm Wiss Technol**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.
- BRASIL. Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Rio de Janeiro: INCA, 2017. Disponível em:<www.inca.gov.br/estimativa/2018/introducao.asp>. Acesso em: 20 Ago 2018.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Instituto Nacional de Câncer. Disponível em: <http://www1.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=322>. Acesso em: 6 Mar 2017.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de atenção à saúde. Departamento de atenção básica. Guia alimentar para a população brasileira. – 2. ed. – Brasília, 2014. 156 p. Disponível em: <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2014/novembro/05/Guia-Alimentar-para-a-pop-brasiliera-Miolo-PDF-Internet.pdf>>. Acesso em: 6 Mar 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação de Saúde. Plano de Ações Estratégicas para o Enfrentamento das Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT) no Brasil 2011-2022. Brasília: Ministério da Saúde; 2011.

BRUN, R. Nickel in food: the role of stainless-steel utensils. **Contact Dermatitis**, v. 5, n. 1, p. 43-5, 1979.

BUSQUETS, R.; PUIGNOU, L.; et al. Effect of red wine marinades on the formation of heterocyclic amines in fried chicken breast. **J Agric Food Chem.**, v. 54, n. 21, p. 8376-84, 2006

CARPES, S. T. **Estudo das características físico-químicas e biológicas do pólen apícola de Apis mellifera L. da região Sul do Brasil**. 2008. 255 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

CARVALHO, A. M.; CÉSAR, C. L. G.; FISBERG, R. M.; MARCHIONI, D. M. Meat Consumption in Sao Paulo – Brazil: Trend in the Last Decade. **PLoS ONE**, v.9, n. 5, p. 1-6, May. 2014.

CARVALHO, A. M.; MIRANDA, A. M.; SANTOS, F. A. et al. High intake of heterocyclic amines from meat is associated with oxidative stress. **British Journal of Nutrition**, v. 113, p. 1301–1307, 2015.

CHAN, D. S. M.; LAU, R.; AUNE, D. et al. Red and Processed Meat and Colorectal Cancer Incidence: Meta-Analysis of Prospective Studies. **PLoS ONE**, v. 6, n. 6, p. 1-11, 2011.

CLARO, R.M.; SANTOS, M. A. S.; OLIVEIRA, T. P.; PEREIRA, C. A.; SZWARCOWALD, C. L.; MALTA, D. C. Consumo de alimentos não saudáveis relacionados a doenças crônicas não transmissíveis no Brasil: Pesquisa Nacional de Saúde, 2013. **Epidemiol. Serv. Saúde**, v. 24, n. 2, p. 257-265, 2015.

COSTA, M. P.O. **Aminas Aromáticas Heterocíclicas em sardinha e salmão grelhados: Influência do processamento culinário**. 2011. 92 f. Dissertação (Mestrado em Controle de Qualidade) - Faculdade de farmácia, Universidade do Porto, Porto, 2011.

COZZOLINO, S. M. F., COMINETTI, C. (2013). **Bases bioquímicas e fisiológicas da nutrição: nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença.** (1ª ed.) São Paulo: Manole, (Capítulo 2).

CROSS, A. J., SINHA, R. Meat-related mutagens/carcinogens in the etiology of colorectal cancer. **Environmental Molecular Mutagenesis**, 44(1),44-55, 2004. <https://doi.org/10.1002/em.20030>

CROSS, A. J.; FREEDMAN, N. D. et al. Meat consumption and risk of esophageal and gastric cancer in a large prospective study. **Am J Gastroenterol.**, v. 106, n. 3, p. 432-42, 2011.

DAMAŠIUS, J. VENSKUTONIS, P. R., ROVIRA, J., GONZÁLEZ, J., GONZÁLES, L., VINAUSKIEN, R. Characterisation of oregano water extracts and their effect on the quality characteristics of cooked pork. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 394–401, 2009. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2008.01781.x

DAMAŠIUS, J., VENSKUTONIS, P.R., FERRACANE, R., FOGLIANO, V. Assessment of the influence of some spice extracts on the formation of heterocyclic amines in meat. **Food Chemistry**, 126(1),149-156, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.091>

DANI, C.; OLIBONI, L. S.; AGOSTINI, F.; FUNCHAL, C. et al. Phenolic content of grapevine leaves (*Vitis labrusca* var. Bordo) and its neuroprotective effect against peroxide damage. **Toxicology in Vitro**, v. 24, p. 148–153, 2010.

DEL RIO, D., STEWART, A. J., PELLEGRINI, N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, 15(4), 316 – 328, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2005.05.003>

DOGAN, Y.; NEDELICHEVA, A. et al. Of the importance of a leaf: the ethnobotany of sarma in Turkey and the Balkans. **J Ethnobiol Ethnomed**, v. 11, p. 11-26, 2015.

DONG, A., LEE, J., SHIN, H. S. Influence of natural food ingredients on the formation of heterocyclic amines in fried beef patties and chicken breasts. **Food Science and Biotechnology**, 20(2), 359–365, 2011.

DORMAN, H.J.D., PELTOKETO, A., HILTUNEN, R. TIKKANEN, M.M.J. Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. **Food Chemistry**, 83, 255–262, 2003. DOI: 10.1016/S0308-8146(03)00088-8

FERNANDES, F.; RAMALHOSA, E.; PIRES, P. et al. *Vitis vinifera* leaves towards bioactivity. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 434–440, 2013.

FERNANDES, R. P. P. **Uso de extratos antioxidantes naturais obtidos de ervas aromáticas na elaboração de produtos a base de carne ovina.** 2015. 253 f. Dissertação (Ciência da Engenharia de Alimentos) – Faculdade de

Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

FERREIRA, C. P.; PIAI, K. A. et al. Alumínio como fator de risco para a doença de Alzheimer. **Rev Latino-am Enfermagem**, v.16, n. 1, p. 1-7, 2008.

GARCÍA-LOMILLO, J.; VIEGAS, O.; GONZALEZ-SANJOSE, M. L. FERREIRA, I. M. Influence of red wine pomace seasoning and high-oxygen atmosphere storage on carcinogens formation in barbecued beef patties. **Meat Sci.**, v. 125, p. 10-15, 2017.

GEVAART-DURKIN, A.; de PEYSTER, A. High-temperature cooked meats. **Encyclopedia of toxicology**. 3rd ed. v. 2, p 912–5, 2014.

GIBIS, M. Effect of Oil Marinades with Garlic, Onion, and Lemon Juice on the Formation of Heterocyclic Aromatic Amines in Fried Beef Patties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 55, 10240–10247, 2007. DOI: 10.1021/jf071720t

GIBIS, M., WEISS, J. Antioxidant capacity and inhibitory effect of grape seed and Rosemary extract in marinades on the formation of heterocyclic amines in fried beef patties. **Food Chemistry**, 125, 10-15, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.11.009>

GIBIS, M.; WEISS, J. Inhibitory effect of marinades with hibiscus extract on formation of heterocyclic aromatic amines and sensory quality of fried beef patties. **Meat Science**, v. 85, n. 4, p. 735-742, 2010.

GONÇALVES, J. H. T., SANTOS, A. S., MORAIS, H. A. Atividade antioxidante, compostos fenólicos totais e triagem fitoquímica de ervas condimentares desidratadas. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, 13(1), 486-497, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.5892/ruvrd.v13i1.2003>

GROSS, G. A. Simple methods for quantifying mutagenic heterocyclic aromatic amines in food products. *Carcinogenesis*, v. 11, p. 1597- 1603, 1990.

GUIMARÃES, L.; BARROS, L.; et al. Targeting excessive free radicals with peels and juices of citrus fruits: Grapefruit, lemon, lime and orange. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 1, p. 99-106, 2010.

GÜLER, A.; CANDEMIR, A. Total Phenolic and Flavonoid Contents , Phenolic Compositions and Color Properties of Fresh Grape Leaves. **Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences**, v. 6, n. 1, p. 778–782, 2014.

GUYTON, A., HALL, J. E. (2017). **Tratado de fisiologia médica**. (13ª ed.). Rio de Janeiro, Elsevier.

HERNÁNDEZ, A. R.; BOADA, L. D.; GONZÁLEZ-ALMEIDA, M.; MENDOZA, Z. et al. An estimation of the carcinogenic risk associated with the intake of multiple relevant carcinogens found in meat and charcuterie products. **Science of the Total Environment**, v. 514, p. 33–41, 2015.

HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, E., PONCE-ALQUICIRA, E., JARAMILLO-FLORES, M.E., & GUERRERO, L. I. Antioxidant effect rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) extracts on TBARS and colour of model raw pork batters. **Meat Science**, 81(2), 410-417, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.09.004>

HERTING, G.; WALLINDER, I. O.; LEYGRAF, C. Corrosion-induced release of chromium and iron from ferritic stainless steel grade AISI 430 in simulated food contact. **Journal of Food Engineering**, v.87, p. 291-300, 2008.

IARC. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 56, 165-195, 1993.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil. Disponível em: <www.inca.gov.br/estimativa/2018/introducao.asp> Acesso em 20 Agosto 2018. IWASAKI, M.; KATAOKAB, H. et al. Heterocyclic amines content of meat and fish cooked by Brazilian methods. **J Food Compost Anal.**, v. 23, n. 1, p. 61–69, 2010.

JINAP, S. et al. Effect of selected local spices marinades on the reduction of heterocyclic amines in grilled beef (satay). **LWT - Food Science and Technology**, v. 63, p. 919-926, 2015.

JINAP, S., IQBAL, S. Z., TALIB, N. H., HASNOL, N. D. S. Heterocyclic aromatic amines in deep fried lamb meat: The influence of spices marination and sensory quality. **Journal of Food Science and Technology**, 53(3):1411-7, 2016. doi: 10.1007/s13197-015-2137-0.

JINAP, S., MOHD-MOKHTAR, M. S., FARHADIAN, A., HASNOL, N. D. S., JAAFAR, S. N., HAJEB, P. Effects of varying degrees of doneness on the formation of heterocyclic aromatic amines in chicken and beef satay. **Meat Science**, 94(2), 202–7, 2013.

KARBOUJ, R. Aluminium leaching using chelating agents as compositions of food. **Food Chem Toxicol**, V. 45, n. 9, p. 1688-93, 2007.

KHAN, I. A., LIU, D., YAO, M., MEMON, A., HUANG, J., HUANG, M. Inhibitory effect of Chrysanthemum morifolium flower extract on the formation of heterocyclic amines in goat meat patties cooked by various cooking methods and temperatures. **Meat Science**, 147, 70-81, 2019. DOI: 10.1016/j.meatsci.2018.08.028

KOSAR, M; KÜPELI, E.; MALYER, H. et al. Effect of Brining on Biological Activity of Leaves of *Vitis vinifera* L. (Cv. Sultani Cekirdeksiz) from Turkey. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 11, p. 4596– 4603, 2007.

KULIGOWSKI, J.; HALPERIN, K. M. Stainless steel cookware as a significant source of nickel, chromium, and iron. **Arch Environ Contam Toxicol**, v. 23, n. 2, p. 211-5. 1992.

LEITE-LEGATTI, A. V., BATISTA, A. G., DRAGANO, N. R. V., MARQUES, A. C., MALTA, L.G., RICCIO, M. F., EBERLIN, M. N., MACHADO, A. R. T., CARVALHO-SILVA, L. B., RUIZ, L. T. G., CARVALHO, J. E., PASTORE, G. M., JÚNIOR, M. R. M. **Food Research International**, 49(1), 596-603, 2012.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.07.044>

LIMA, A. F. Caracterização da bioatividade de folhas de diferentes castas de videira quando sujeitas a processamento alimentar. 2015. 99 F. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) – Escola superior agrária, Bragança, 2015.

LOBO, V., PATIL, A., PHATAK, A., CHANDRA, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacognosy Reviews**, 4(8), 118-126, 2010. doi: 10.4103/0973-7847.70902

LOMOLINO, G.; CRAPISI, A.; CAGNIN, M. Study of elements concentrations of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) fillets after cooking on steel, cast iron, teflon, aluminum and ceramic pots. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 5, n. 6, p. 1–9, 2016.

LU, F., KUHNLE, K.G., CHENG Q. The effect of common spices and meat type on the formation of heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons in deep-fried meatballs. **Food Control**, 92, 399-411, 2018.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.05.018>

LU, F., KUHNLE, K.G., CHENG Q. Vegetable oil as fat replacer inhibits formation of heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons in reduced fat pork patties. **Food Control**, 81, 113-125, 2017.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.05.043>

MAILLOUX, R. J.; LEMIRE, J. APPANNA, V. D. Hepatic response to aluminium toxicity: dyslipidemia and liver diseases. **Exp Cell Res**, V. 317, n. 16, p. 2231-8, 2011.

MALTA, D.C., BERNAL, R.T.I., LIMA, M.G., ARAÚJO, S.S.C., SILVA, M.M.A., FREITAS, M.I.F., et al. Doenças crônicas não transmissíveis e a utilização de serviços de saúde: análise da Pesquisa Nacional de Saúde no Brasil. **Rev Saude Publica**. v. 51 Supl 1:4s, 2017.

MCAFEE, A. J.; et al. Red meat consumption: An overview of the risks and benefits. **Meat Scienc**, v. 84, n. 1, p. 1-13, 2010.

MELO, A. J. A. **Extração e quantificação de amins aromáticas heterocíclicas em carne por HPLC: efeito da adição de ingredientes ricos em antioxidantes**. 2008. 90 f. Dissertação (Mestrado em Controle de Qualidade), Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto. Porto. 2008.

MELO, A., VIEGAS, O., EÇA, R., PETISCA, C., PINHO, O., FERREIRA, I. M. P. L. V. O. Extraction, Detection, and Quantification of Heterocyclic Aromatic Amines in Portuguese Meat Dishes by HPLC/Diode Array. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, 31, 772–787, 2008.

MICHA, R.; WALLACE, S. K.; MOZAFFARIAN, D. Red and processed meat consumption and risk of incident coronary heart disease, stroke, and diabetes mellitus: A systematic Review and Meta-Analysis. **Circulation.**, v. 121, n. 21, p. 2271-2283, 2010.

MURKOVIC, M. Analysis of heterocyclic aromatic amines. **Anal Bioanal Chem**, v. 389, n. 1, p. 139-46, 2007.

OHKAWA, H.; OHISHI, H.; YAGI, K. Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Anal Biochem**, v. 95, n. 2, p. 351-58, 1979.

OLIBONI, L. S., DANI, C., FUNCHAL, C., HENRIQUES, J. A., SALVADOR, M. Hepatoprotective, cardioprotective, and renal-protective effects of organic and conventional grapevine leaf extracts (*Vitis labrusca* var. Bordo) on Wistar rat tissues. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 83(4), 1403-1411, 2011. <https://dx.doi.org/10.1590/S0001-37652011000400027>

ORHAN, D. D.; ORHAN, N. et al. Biological activities of *Vitis vinifera* L. leaves. **Turkish Journal of Biology**, v. 33, p. 341–348, 2009.

PERL, D.P. MOALEM, S. Aluminum and Alzheimer's disease, a personal perspective after 25 years. **J Alzheimers Dis**, v. 9, n. 3, p. 291-300, 2006.

PFAU, W.; SKOG, K. Exposure to b-carbolines Norharman and Harman. **J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life sci**, v. 802, n. 1, p. 115-26, 2004.

PIENIZ, S., COLPO, E., OLIVEIRA, V. R., ESTEFANEL, V., ANDREAZZA, R. Avaliação in vitro do potencial antioxidante de frutas e hortaliças. **Ciência e Agrotecnologia**, 33(2), 552-559, 2009. <https://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542009000200030>

QUELHAS, I.; PETISCA, C.; VIEGAS, O. et al. Effect of green tea marinades on the formation of heterocyclic aromatic amines and sensory quality of pan-fried beef. **Food chemistry**, v. 122, n. 1, p. 98-104, 2010.

QUINTAES, K. D. Utensílios para alimentos e implicações nutricionais. **Rev. Nutr**, v. 13, n. 3, p. 151-156, 2000.

QUINTAES, K. D., CALEFFI, R. (2010). **Tudo sobre panelas**. (1ªed). São Paulo: Atlântica.

QUINTAES, K. D.; CALEFFI, R. **Tudo sobre panelas**. 1. ed. São Paulo: Atlântica, 2010. 150 p.

QUINTAES, K. D.; FARFAN-AMAYA, J. et al. Migração de minerais de panelas brasileiras de aço inoxidável, ferro fundido e pedra-sabão (esteatito) para

simulantes de alimentos. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.24, n. 3, p. 397-402, jul.-set. 2004.

QUINTAES, K. D.; FARFAN-AMAYA, J. et al. Mineral Migration and Influence of Meal Preparation in Iron Cookware on the Iron Nutritional Status of Vegetarian Students. **Ecology of Food and Nutrition**, v. 46, n. 2, p. 125-141 2007.

RAHMAN, U. U. et al. Production of heterocyclic aromatic amines in meat: Chemistry, health risks and inhibition. A review. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 229-233, 2014.

RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free radical Biology and Medicine**, 26(9-10), 1231-1237, 1999.

RODRÍGUEZ-CARPENA, J. G., MORCUENDE, D., ESTÉVEZ, M. Avocado, sunflower and olive oils as replacers of pork back-fat in burger patties: effect on lipid composition, oxidative stability and quality traits. **Meat Science**, 90(1), 106-115, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.06.007>

ROESLER, R., LUCIANA, G. M., CARRASCO, L. C., HOLANDA, R. B., SOUSA, C. A. S., PASTORE, G. M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Food Science and Technology**, 27(1), 53-60, 2007. <https://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612007000100010>

ROHRMANN, S.; HERMANN, S.; LINSEISEN, J. Heterocyclic aromatic amine intake increases colorectal adenoma risk: findings from a prospective European cohort study. **Am J Clin Nutr**, v. 89,1418–24, 2009.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E. et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS. Embrapa: Comunicado técnico, 2007. Disponível em <www.cnpat.embrapa.br/download_publicacao.php?id=210>. Acesso em: 4 Mar. 2017.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E. et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Fruta pelo método de redução do ferro (FRAP). Embrapa: Comunicado técnico, 2006. Disponível em <http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/down/index.php?pub/cot_125.pdf>. Acesso em: 4 Mar. 2017.

Santos F.J., Barceló-Barrachina E., et al. Analysis of heterocyclic amines in food products: interlaboratory studies. **J. Chromatogr. B**, v. 802, p. 69–78, 2004.

SANTOS, A. A. O.; SILVA, I. V. C. et al. Elaboração de biscoitos de chocolate com substituição parcial da farinha de trigo por polvilho azedo e farinha de albedo de laranja. **Ciência Rural**, v. 41, n. 3, p. 531-536, 2011.

SANTOS, F. J.; BARCELO-BARRACHINA, E.; TORIBIO, F. et al. Analysis of heterocyclic amines in food products: Interlaboratory studies. **J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.**, v. 802, n. 1, p. 69-78, 2004.

SAT, I. G.; SENGUL, M.; KELES, F. Use of Grape Leaves in Canned Food. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.1, n. 6, p. 257–262, 2002.

SCHAFFER, T. K., WOHLBERG, M. F., MEDEIROS, N., MARTINS, J. B., AGOSTINI F., FUNCHAL, C., DANI, C. Evaluation of antioxidant activity of grapevine leaves extracts (*Vitis labrusca*) in liver of Wistar rats. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 88(1), 187-196, 2016. DOI: 10.1590/0001-3765201620140658

SCHNEIDER, B. C.; DURO, S. M. S.; ASSUNÇÃO, M. C. F. Consumo de carnes por adultos do sul do Brasil: um estudo de base populacional. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.19, n.8, p. 3583-3592, 2014.

SHIN, A.; SHRUBSOLE, M. J.; NESS, R. M. et al. Meat and meat-mutagen intake, doneness preference and the risk of colorectal polyps: the Tennessee colorectal polyp study. **Int J Cancer**, v. 121, n. 1, p. 136–42, jul. 2007.

SINGLETON, V. L., ORTHOFER, R., LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)

SUCUPIRA, N. R., SILVA, A. B., PEREIRA, G., COSTA, J. N. Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. **UNOPAR Científica.Ciências Biológicas e da Saúde**, 14(4), 263-9, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.17921/2447-8938.2012v14n4p%25p>

SUGIMURA, T. Overview of carcinogenic heterocyclic amines. **Mutat Res**, v. 376, n. 1-2, p. 211-219, 1977.

SUGIMURA, T.; WAKABAYASHI, K. et al., Heterocyclic amines: Mutagens/carcinogens produced during cooking of meat and fish. **National Cancer Center**, v. 5, n. -1-1, p. 104-0045, 2004.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *prunus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. **J. Sci. Food Agric**, v. 10, p. 63-68, 1959.

SZTERK, A. Heterocyclic aromatic amines in grilled beef: the influence of free amino acids, nitrogenous bases, nucleosides, protein and glucose on HAAs content. **Journal of Food Composition and Analysis**, 40, 39-46, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.12.011>

TEIXEIRA, A. H. D. C.; SOUZA, R. A. et al. Aptidão agroclimática da cultura da videira no Estado da Bahia, Brasil. **Rev. Bras. eng. agríc. Ambient**, v.6, n.1, p. 107-111, 2002.

TENGILIMOGLU-METINA, M. M., HAMZALIOGLU, A., GOKMENB, V., KIZILA, M. Inhibitory effect of hawthorn extract on heterocyclic aromatic amine

formation in beef and chicken breast meat. **Food Research International**, 99 (1), 586-595, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.06.044>

TSEN, S. Y.; AMERI, F.; SMITH, J. S. Effects of rosemary extracts on the reduction of heterocyclic amines in beef patties. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 8, p. 469-473, 2006.

ÜNVER, A.; ÖZCAN, M.; ARSLAN, D.; AKIN, A. The Lactic Acid Fermentation of Three Different Grape Leaves Grown in Turkey. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 31, n. 1, p. 73–82, 2007.

VERÍSSIMO, M. I. S.; OLIVEIRA, J. A. B. P.; GOMES, M. T. S. R. Leaching of aluminium from cooking pans and food containers. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 118, n. 1-2, p. 192-197.

VIEGAS, O.; AMARO, L. F.; FERREIRA, I. M.; PINHO, O. Inhibitory Effect of Antioxidant-Rich Marinades on the Formation of Heterocyclic Aromatic Amines in Pan-Fried Beef. **J Agric Food Chem.**, v. 60, n. 24, p. 6235-40, 2012.

VIEGAS, O.; YEBRA-PIMENTEL, I.; et al. Effect of Beer Marinades on Formation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Charcoal-Grilled Pork. **J Agric Food Chem.**, v. 62, n. 12, p. 2638-43, 2014.

VITAGLIONE, P.; MONTI, S. M.; AMBROSINO, P.; et al. Carotenoids from tomatoes inhibit heterocyclic amine formation. *European Food Research and Technology*, v. 215, n. 2, p. 108-113, 2002.

VITAGLIONE P.; FOGLIANO V. Use of antioxidants to minimize the human health risk associated to mutagenic/carcinogenic heterocyclic amines in food. **J. Chromatogr. B**, 802, 2004, 189 – 199.

WANDERLEY, A. L. **Atividade antioxidante e antimicrobiana do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis L.*, cultivado em sistema orgânico sob diferentes condições, frente a bactérias causadoras de mastite bovina.** 2015. 55 f Dissertação (Programa de pós-graduação em Agronomia) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

WHO. Global status report on noncommunicable diseases 2010. Disponível em: <http://www.who.int/nmh/publications/ncd_report_full_en.pdf>. Acesso em: 01 Set 2018.

WORLD CANCER RESEARCH FUND/ AMERICAN INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. **Washington DC: AICR**, p.382, 2007.

WORLD CANCER RESEARCH FUND/AMERICAN INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH (WCRF/AICR). Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. Disponível em:<<https://www.wcrf.org/sites/default/files/english.pdf>> Acesso em: 20 Agosto 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global status report on noncommunicable diseases 2010 (2010). Disponível em: <http://www.who.int/nmh/publications/ncd_report_full_en.pdf>. Acesso em: 01 Setembro 2018.

ZENG, M., WANG, J., ZHANG, M., CHEN, J., HE, Z., QIN, F., XU, Z., CAO, D., & CHEN, J. Inhibitory effects of Sichuan pepper (*Zanthoxylum bungeanum*) and sanshoamide extract on heterocyclic amine formation in grilled ground beef patties. **Food Chemistry**. 239, 111-118, 2018.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.097>

ZHU, H. C.; YANG, X.; ZHAO, L. J. TAO, G. Z. et al. Meat consumption is associated with esophageal cancer risk in a meat- and cancer- histological-type dependent manner. **Dig Dis Sci**. v. 59, n. 3, p. 664-73, 2014.

