

UFRRJ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS

TESE

**Utilização das ervas aromáticas salsa (*Petroselinum crispum* Mill.),
manjeriço(*Ocimum basilicum* L.) e orégano (*Origanum vulgare* L.) como
antioxidantes naturais em omeletes preparadas por diferentes métodos de
cocção**

Vanessa Sales de Oliveira

2022



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS**

**UTILIZAÇÃO DAS ERVAS AROMÁTICAS SALSA (*Petroselinum
Crispum* Mill.), MANJERICÃO (*Ocimum basilicum* L.) E ORÉGANO
(*Origanum vulgare* L.) COMO ANTIOXIDANTES NATURAIS EM
OMELETES PREPARADAS POR DIFERENTES MÉTODOS DE
COCCÃO**

VANESSA SALES DE OLIVEIRA

Sob a Orientação da Professora
Dra. Tatiana Saldanha

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de **Doutora em
Ciências e Tecnologia de Alimentos**,
no Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos,
área de concentração em Ciência de
Alimentos

Seropédica, RJ
Agosto de 2022

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

O48u Oliveira, Vanessa Sales de, 1990-
Utilização das ervas aromáticas salsa (*Petroselinum
crispum* Mill.), manjericão (*Ocimum basilicum* L.) e
orégano (*Origanum vulgare* L.) como antioxidantes
naturais em omeletes preparadas por diferentes
métodos de cocção / Vanessa Sales de Oliveira. -
Rondonópolis, 2022.
135 f.: il.

Orientadora: Tatiana Saldanha. Tese (Doutorado).
-- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro,
Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2022.

1. ovos. 2. antioxidantes naturais. 3. termo
oxidação. I. Saldanha, Tatiana, 1971-, orient. II
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Ciência
e Tecnologia de Alimentos III. Título.

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal
de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001”



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL
RURAL DO RIO DE JANEIRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

TERMO Nº 913/2022 - PPGCTA (12.28.01.00.00.00.41)

**Nº do Protocolo: 23083.049819/2022-11
Seropédica-RJ, 16 de agosto de 2022.**

VANESSA SALES DE OLIVEIRA

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos, no Curso de Pós- Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de Concentração em Ciência de Alimentos.

TESE APROVADA EM 12/08/2022

TATIANA SALDANHA (Dra.) UFRRJ (orientadora)

MARCO ANDRE ALVES DE SOUZA (Dr) UFRRJ

ELIANE TEIXEIRA MARSICO (Dra) UFF

ROSANA MANOLIO SOARES FREITAS (Dra)USP

MICHELI DA SILVA FERREIRA (Dra) UFF

(Assinado digitalmente em 16/08/2022 20:08)
MARCO ANDRE ALVES DE SOUZA
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIORDBQ
(11.39.00.24)
Matrícula: 2582213

(Assinado digitalmente em 17/08/2022 12:29)
TATIANA SALDANHA
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIORDTA
(12.28.01.00.00.00.46)
Matrícula: 2563412

(Assinado digitalmente em 16/08/2022 15:10)
ELIANE TEIXEIRA MARSICO
ASSINANTE EXTERNO CPF: 709.453.657-72

(Assinado digitalmente em 17/08/2022 07:51)
MICHELI DA SILVA FERREIRA
ASSINANTE EXTERNO CPF: 052.766.347-69

(Assinado digitalmente em 17/08/2022 17:06)
ROSANA APARECIDA MANÓLIO SOARES FREITAS
ASSINANTE EXTERNO CPF: 314.305.738-64

Para verificar a autenticidade deste documento entre em
<https://sipac.ufrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número:
913, ano: 2022, tipo: TERMO, data de emissão: 16/08/2022 e o código de verificação: 0b03efcdf4

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida e por me permitir chegar até aqui. A confiança e força em Deus que tornou tudo isso possível!

Agradeço aos meus pais, Vanderli e Maria Aparecida, pelo constante suporte e por não medirem esforços para a realização e sucesso deste doutorado. Agradeço a minha família e aos amigos pelo apoio. Agradeço ao meu namorado Bruno, que como meu companheiro foi compreensão, presença e incentivo durante todo o doutorado.

Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), pela oportunidade da realização do doutorado e pelo suporte oferecido ao longo do curso.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão da bolsa de doutorado.

Agradeço a minha orientadora Tatiana Saldanha por mais esta oportunidade e pela confiança depositada em mim, pela disponibilidade, orientação, conhecimentos transmitidos, desafios propostos e parceria formada ao longo desses anos.

Agradeço a Dra. Geni Rodrigues Sampaio (USP) e a Dra. Alexandra C. H. F. Sawaya (UNICAMP) por todo o apoio durante a elaboração dos artigos e pelo suporte na realização das análises nos Laboratórios do Departamento de Nutrição, Faculdade de Saúde Pública (USP) e Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

Agradeço a Dra. Rosane Nora Castro, do Departamento de Química da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, por possibilitar as análises cromatográficas do colesterol e dos óxidos de colesterol ao disponibilizar o equipamento (HPLC-MS-PDA) para a realização das mesmas.

Agradeço ao Dr. Ormindo Domingues Gamallo pelos conhecimentos transmitidos e constante apoio e suporte com os cromatógrafos no Departamento de Tecnologia de Alimentos.

Agradeço ao Dr. Davy Willian Hidalgo Chávez pela parceria com as análises estatísticas e disponibilidade para ajudar.

Agradeço a todos do Departamento de Tecnologia de Alimentos que participaram direta ou indiretamente da realização deste trabalho, com ressalva a caríssima Ivanilda Maria Augusta.

Agradeço aos colegas de Pós-graduação pelo apoio e conhecimentos compartilhados, em especial aos que contribuíram nas atividades experimentais e teóricas dessa pesquisa: Fernanda Gouveia, Barbara Mariano, Isabella Carvalho, Carla Targueta e Fernanda Ferreira.

Agradeço as estagiárias que ajudaram nas análises experimentais: Paula Paiva e Maira Anechino.

Muito obrigada a todos!

RESUMO

DE OLIVEIRA, Vanessa Sales. **Utilização das ervas aromáticas salsa (*Petroselinum crispum* Mill.), manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) e orégano (*Origanum vulgare* L.) como antioxidantes naturais em omeletes preparadas por diferentes métodos de cocção.** 135p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

O ovo é um constituinte essencial da dieta humana, principalmente devido à biodisponibilidade de seus nutrientes, bem como a acessibilidade e versatilidade no preparo culinário. Entretanto, os ovos são ricos em ácidos graxos poli-insaturados e colesterol, compostos altamente susceptíveis a oxidação lipídica quando expostos a tratamentos térmicos empregados durante o preparo para o consumo humano, acarretando a formação de produtos de oxidação do colesterol (POCs) ou óxidos de colesterol. Os POCs, quando ingeridos a partir da dieta, apresentam diversos efeitos deletérios à saúde, como aumento do risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, doenças inflamatórias e câncer. Assim, estudos sobre estratégias alternativas baseadas no emprego de fontes naturais de compostos antioxidantes são necessários para contribuir com a qualidade e segurança destes alimentos. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito protetor da adição de ervas aromáticas, como a salsa (*Petroselinum crispum* Mill.), o manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) e o orégano (*Origanum vulgare* L.), em ovos preparados por diferentes métodos de cocção na forma de omeletes. As ervas foram previamente caracterizadas quanto aos teores totais de compostos fenólicos e flavonoides, assim como a capacidade antioxidante *in vitro* (DPPH, ORAC e sistema β -caroteno/ácido linoleico). O extrato do orégano apresentou os teores mais elevados de fenólicos totais ($11,21 \pm 0,20$ mg EAG/g) e flavonoides ($34,25 \pm 0,21$ mg EQ/g). A maior capacidade antioxidante também foi determinada para o orégano, exceto pelo método ORAC, onde o orégano e o manjeriço apresentaram resultados similares ($p > 0,05$). As ervas também foram caracterizadas quanto à presença de compostos bioativos, os quais foram identificados por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas. Assim, compostos com propriedades antioxidantes como ácidos fenólicos e seus derivados (ácido *p*-coumárico, ácido *p*-coumárico 4-O-hexosídeo, ácido rosmarínico, ácido vanílico, ácido cafeico) e flavonoides (apigenina 7-glicosídeo, quercetina-O-pentosil-hexosídeo, diosmetina 7-apiosilglicosídeo) foram identificados nas ervas. Na salsa foi observada a predominância de flavonoides, enquanto os ácidos fenólicos foram os principais compostos determinados no manjeriço e no orégano. O aquecimento induziu a oxidação lipídica durante o preparo térmico para todos os métodos utilizados, resultando na degradação de ácidos graxos poli-insaturados e na oxidação do colesterol. Foi observado um aumento nos teores de POCs nas omeletes controle, de $40,69 \pm 2,26$ $\mu\text{g/g}$ (amostra crua) para $821,05 \pm 13,77$ $\mu\text{g/g}$ (*air fryer*), $805,21 \pm 14,50$ $\mu\text{g/g}$ (micro-ondas) e $311,07 \pm 13,84$ $\mu\text{g/g}$ (fogão) ($p < 0,05$). A formação dos óxidos de colesterol foi mais pronunciada nas amostras tratadas em *air fryer* e micro-ondas, as quais apresentaram maiores temperaturas internas após a cocção (138 e 95 °C, respectivamente), destacando o maior impacto do aquecimento quando condições mais extremas de processo foram utilizadas. No entanto, a adição das ervas provou ser eficaz na redução da formação de POCs para todos os métodos de cocção, principalmente nos tratamentos com 0,75% de erva, que foi a maior concentração empregada. Teores inferiores foram determinados nas amostras contendo as ervas, de $72,76 \pm 7,73$ (0,75% orégano/fogão) a $670 \pm 8,77$ $\mu\text{g/g}$ (0,25% salsa/micro-ondas), quando comparados às amostras controle ($311,07 \pm 13,84 - 821,05 \pm 13,77$ $\mu\text{g/g}$). A salsa e o orégano apresentaram a melhor proteção frente à

formação de POCs para o tratamento em *air fryer*. O manjericão foi mais eficaz nas amostras preparadas em micro-ondas, enquanto para o fogão, o manjericão e o orégano apresentaram maior potencial referente à oxidação do colesterol. Além disso, análises cromatográficas revelaram a possível degradação térmica dos constituintes bioativos das ervas, principalmente na salsa, visto que alguns compostos que foram encontrados nas ervas não foram detectados nas amostras de omeletes que continham as ervas após a cocção. No entanto, os resultados deste estudo indicam a potencial aplicação da salsa, do manjericão e do orégano como inibidores naturais da oxidação lipídica e do colesterol durante o preparo térmico de omeletes. Ademais, esta estratégia também pode ser considerada pela indústria de alimentos para substituir ou reduzir o emprego de antioxidantes sintéticos na produção de alimentos.

Palavras-chave: ovos, antioxidantes naturais, termo-oxidação.

ABSTRACT

DE OLIVEIRA, Vanessa Sales. **The use of the aromatic herbs parsley (*Petroselinum crispum* Mill.), basil (*Ocimum basilicum* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) as natural antioxidants in omelets prepared by different cooking methods.** 135p. Thesis (Doctoral program in Food Science and Technology). Institute of Technology, Food Technology Department, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

The egg is an essential constituent of the human diet, mainly due to the bioavailability of its nutrients, as well as accessibility and versatility in culinary preparation. However, eggs are rich in polyunsaturated fatty acids and cholesterol, compounds highly susceptible to lipid oxidation when exposed to heat treatments employed during the preparation for human consumption, leading to the formation of cholesterol oxidation products (COPs) or cholesterol oxides. COPs, when ingested through the diet, present several deleterious health effects, such as the increased risk for the development of cardiovascular diseases, inflammatory diseases, and cancer. Thus, studies about alternative strategies based on the use of natural sources of antioxidant compounds are necessary to contribute to the quality and safety of these foods. Therefore, this work aimed to evaluate the protective effect of adding aromatic herbs, such as parsley (*Petroselinum crispum* Mill.), basil (*Ocimum basilicum* L.), and oregano (*Origanum vulgare* L.), in eggs prepared by different cooking methods as omelets. The herbs were previously characterized by their total contents of phenolic compounds and flavonoids, as well as their antioxidant capacity *in vitro* (DPPH, ORAC, and β -carotene/linoleic acid assay). Oregano extract showed the highest levels of total phenolics (11.21 ± 0.20 mg GAE/g) and flavonoids (34.25 ± 0.21 mg QE/g). The highest antioxidant capacity was also determined for oregano, except by the ORAC method, where oregano and basil presented similar results ($p > 0.05$). The herbs were also characterized by the presence of bioactive compounds, which were identified by liquid chromatography coupled to mass spectrometry. Thus, compounds with antioxidant properties such as phenolic acids and their derivatives (*p*-coumaric acid, *p*-coumaric acid 4-O-hexoside, rosmarinic acid, vanillic acid, caffeic acid) and flavonoids (apigenin 7-glucoside, quercetin-O-pentosyl-hexoside, diosmetin 7-aposylglucoside) were identified in herbs. In parsley, the predominance of flavonoids was observed, while the phenolic acids were the main compounds determined in basil and oregano. Heating induced lipid oxidation during the thermal preparation for all methods used, resulting in the degradation of polyunsaturated fatty acids and the oxidation of cholesterol. An increase in the total contents of COPs was observed in control omelets, from 40.69 ± 2.26 μ g/g (raw sample) to 821.05 ± 13.77 μ g/g (air fryer), 805.21 ± 14.50 μ g/g (microwave), and 311.07 ± 13.84 μ g/g (pan frying) ($p < 0.05$). The formation of cholesterol oxides was more pronounced in samples treated in air fryer and microwave, which showed the highest internal temperatures after cooking (138 and 95 °C, respectively), highlighting the greatest impact of heating when more extreme processing conditions were used. However, the addition of the herbs proved to be effective in reducing COPs formation for all cooking methods, mainly for the treatments with 0.75% herb, which was the highest concentration applied. Lower levels were determined in samples containing the herbs, from 72.76 ± 7.73 (0.75% oregano/pan frying) to 670 ± 8.77 μ g/g (0.25% parsley/microwaving), when compared to control samples (311.07 ± 13.84 – 821.05 ± 13.77 μ g/g). Parsley and oregano presented the best protection against COPs formation for the treatment in air fryer. Basil was the most effective in samples prepared in the microwave, while for pan frying, basil and oregano presented the highest potential regarding the cholesterol oxidation. In addition, chromatographic analyses revealed the possible thermo-degradation of bioactive constituents of herbs, principally in parsley, since

some compounds that were found in the herbs were not detected in omelet samples containing the herbs after cooking. Nonetheless, the results from this study indicate the potential application of parsley, basil, and oregano as natural inhibitors of lipid and cholesterol oxidation during the thermal preparation of omelets. Moreover, this strategy may also be considered by the food industry to substitute or reduce the use of synthetic antioxidants in food production.

Keywords: eggs, natural antioxidants, thermo-oxidation.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 1: Consumo <i>per capita</i> de ovos no Brasil durante o período de 2010 a 2021.....	3
Figura 2: Composição do ovo: a) clara. b) gema.....	5
Figura 3: Esquema geral para a auto-oxidação lipídica.....	7
Figura 4: Posições da molécula de colesterol susceptíveis ao ataque oxidativo.....	8
Figura 5: Vias de formação dos principais óxidos de colesterol.....	9
Figura 6: Ervas aromáticas e estrutura química de compostos antioxidantes identificados nas folhas das ervas. a) salsa (<i>Petroselinum crispum</i> Mill.), b) manjeriço (<i>Ocimum basilicum</i> L.), c) orégano (<i>Origanum vulgare</i> L.).....	14

CAPÍTULO I

Figura 1: Análise multivariada. Análise dos Componentes Principais para os tratamentos (a) e variáveis (b). Mapa de calor (c). AF = <i>Air fryer</i> ; M = micro-ondas; F = fogão; Cont = controle; AGS = ácido graxo saturado; AGMI = ácido graxo monoinsaturado; AGPI = ácido graxo poli-insaturado; AGI = ácido graxo insaturado; deg_AGPI = degradação de AGPI; POCs = produtos da oxidação do colesterol. Os valores 0,25, 0,5 e 0,75 representam os diferentes níveis de adição da salsa.....	56
--	----

CAPÍTULO II

Figura 1: Espectro MS/MS dos compostos identificados no extrato de manjeriço.....	78
Figura 2: Espectro MS/MS dos compostos identificados no extrato de orégano.....	79
Figura 3: Análise multivariada. Análise dos Componentes Principais para os tratamentos (a) e variáveis (b). Mapa de calor (c). AF = <i>Air fryer</i> ; M = micro-ondas; F = fogão; c = controle; o = orégano; m = manjeriço; AGPI = ácido graxo poli-insaturado; deg_AGPI = degradação de AGPI; deg_colesterol = degradação do colesterol; POCs = produtos da oxidação do colesterol. Os valores 0,25, 0,5 e 0,75 representam os diferentes níveis de adição das ervas.....	100

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1: Teores totais de compostos fenólicos e flavonoides e capacidades antioxidantes <i>in vitro</i> determinadas pelos métodos de DPPH, ORAC e sistema β -caroteno/ácido linoleico do extrato da salsa.....	38
Tabela 2: Identificação dos compostos bioativos presentes no extrato da salsa por UHPLC-ESI-MS no modo negativo.....	39
Tabela 3: Teores de umidade (g/100 g) e lipídios totais (g/100 g, base seca) das amostras de omeletes cruas e cozidas (controle e com adição da salsa a 0,25, 0,5 e 0,75%).....	41
Tabela 4: Composição de ácidos graxos (g/100 g óleo) das amostras de omeletes cruas e cozidas (controle e com adição da salsa a 0,25, 0,5 e 0,75%).....	43
Tabela 5: Teores de colesterol (mg/100 g, base seca) e óxidos de colesterol ($\mu\text{g/g}$, base seca) das amostras de omeletes cruas e cozidas (controle e com adição da salsa a 0,25, 0,5 e 0,75%).....	49
Tabela 6: Comparação entre os compostos bioativos presentes no extrato da salsa e nas amostras de omelete.....	54

CAPÍTULO II

Tabela 1: Teores totais de compostos fenólicos e flavonoides e capacidades antioxidantes <i>in vitro</i> determinadas pelos métodos de DPPH, ORAC e sistema β -caroteno/ácido linoleico dos extratos de manjeriço e orégano.....	74
Tabela 2: Identificação dos compostos bioativos presentes nos extratos de manjeriço e orégano por UHPLC-ESI-MS no modo negativo.....	76
Tabela 3: Teores de umidade (g/100 g) e lipídios totais (g/100 g, base seca) das amostras de omeletes cruas e cozidas (controle e com adição de manjeriço (0,25, 0,5 e 0,75%) e orégano (0,25, 0,5 e 0,75%)).....	82
Tabela 4: Composição de ácidos graxos (g/100 g óleo) das amostras de omeletes cruas e cozidas (controle e com adição de manjeriço (0,25, 0,5 e 0,75%) e orégano (0,25, 0,5 e 0,75%)).....	84
Tabela 5: Teores de colesterol (mg/100 g, base seca) e óxidos de colesterol ($\mu\text{g/g}$, base seca) das amostras de omeletes cruas e cozidas (controle e com adição de manjeriço (0,25, 0,5 e 0,75%) e orégano (0,25, 0,5 e 0,75%)).....	90
Tabela 6: Comparação entre os compostos bioativos presentes nos extratos das ervas (manjeriço e orégano) e nas amostras de omelete.....	97

LISTA DE QUADROS

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Quadro 1: Estudos referentes aos óxidos de colesterol e seus efeitos deletérios à saúde.....11

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AAPH	2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride
ABTS	2,2-Azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid
APCI	Atmospheric Pressure Chemical Ionization
BHA	Butilidroxianisol
BHT	Butilidroxitolueno
CID	Collision-induced Dissociation
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidraliza
EAG	Equivalente Ácido Gálico
EQ	Equivalente Quercetina
ESI	Electrospray Ionization
FAME	Fatty Acid Methyl Ester
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
GP	Galato de Propila
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
MS	Mass Spectrometry
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity
PDA	Photo Diode Array
POC	Produto da Oxidação do Colesterol
SIM	Selective Ion Monitoring
TBHQ	<i>Terc</i> -butilidroquinona
UHPLC	Ultra-High Performance Liquid Chromatography
$\omega 3 / n3$	Ômega 3
$n6$	Ômega 6
$n9$	Ômega 9
5,6 α -OH	5,6 α -hidroxicolesterol
5,6 β -OH	5,6 β -hidroxicolesterol
7-ceto	7-cetocolesterol
7 α -OH	7 α -hidroxicolesterol
7 β -OH	7 β -hidroxicolesterol
20 α -OH	20 α -hidroxicolesterol
24-OH	24-hidroxicolesterol
25-OH	25-hidroxicolesterol
27-OH	27-hidroxicolesterol

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
1 Consumo e produção de ovos.....	3
2 Importância nutricional e lipídios em ovos.....	4
3 Oxidação lipídica.....	6
4 Oxidação do colesterol e formação de óxidos de colesterol.....	7
5 Efeito dos óxidos de colesterol à saúde.....	9
6 Preparo térmico de alimentos e oxidação lipídica.....	11
7 Antioxidantes sintéticos x antioxidantes naturais.....	12
8 Uso de ervas aromáticas como antioxidantes naturais.....	13
8.1 Salsa (<i>Petroselinum crispum</i> Mill.).....	15
8.2 Manjeriço (<i>Ocimum basilicum</i> L.)	16
8.3 Orégano (<i>Origanum vulgare</i> L.).....	17
REFERÊNCIAS.....	18

CAPÍTULO I - SALSA (*Petroselinum Crispum* Mill.): FONTE DE COMPOSTOS BIOATIVOS COMO ESTRATÉGIA DOMÉSTICA PARA MINIMIZAR A OXIDAÇÃO DO COLESTEROL DURANTE O PREPARO TÉRMICO DE OMELETES

ABSTRACT.....	27
RESUMO.....	28
1 INTRODUÇÃO.....	29
2 MATERIAIS E MÉTODOS	30
2.1 Reagentes, solventes e padrões.....	30
2.2 Análises da salsa (<i>Petroselinum crispum</i> Mill.).....	30
2.2.1 Material vegetal.....	30
2.2.2 Preparo do extrato.....	31
2.2.3 Determinação do teor total de compostos fenólicos.....	31
2.2.4 Determinação do teor total de flavonoides.....	31
2.2.5 Capacidade antioxidante <i>in vitro</i>	31
2.2.5.1 DPPH.....	31
2.2.5.2 ORAC (Oxygen radical absorbance capacity).....	32
2.2.5.3 Sistema β -caroteno/ácido linoleico.....	32
2.2.6 Identificação dos compostos bioativos da salsa por UHPLC-ESI-MS.....	33
2.3 Omeletes.....	33
2.3.1 Preparo das omeletes.....	33
2.3.2 Cocção das omeletes.....	34
2.4 Análises das omeletes.....	35
2.4.1 Determinação dos teores de umidade.....	35
2.4.2 Determinação dos teores de lipídios totais.....	35
2.4.3 Determinação de ácidos graxos.....	35
2.4.4 Determinação do colesterol e dos óxidos de colesterol.....	36
2.4.5 Identificação dos compostos bioativos da salsa presentes nas omeletes por UHPLC-ESI-MS.....	36
2.5 Análises estatísticas.....	36
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37

3.1 Análises da salsa.....	37
3.1.1 Compostos fenólicos, flavonoides e capacidade antioxidante da salsa.....	37
3.1.2 Compostos bioativos da salsa determinados por UHPLC-ESI-MS.....	38
3.2 Omeletes.....	40
3.2.1 Teores de umidade e lipídios totais das amostras de omelete.....	40
3.2.2 Efeitos da adição da salsa frente à degradação de ácidos graxos.....	42
3.2.3 Efeitos da adição da salsa frente à formação dos óxidos de colesterol.....	48
3.2.4 Determinação dos compostos bioativos da salsa presentes nas amostras cozidas de omelete.....	53
3.3 Análise dos Componentes Principais e mapa de calor.....	55
4 CONCLUSÃO.....	57
5 REFERÊNCIAS.....	57

CAPÍTULO II – POTENCIAL DE ERVAS CULINÁRIAS (MANJERICÃO E ORÉGANO) FRENTE À DEGRADAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS E A FORMAÇÃO DE ÓXIDOS DE COLESTEROL EM OMELETES PREPARADAS POR DIFERENTES MÉTODOS DE COCÇÃO

ABSTRACT.....	64
RESUMO.....	65
1 INTRODUÇÃO.....	66
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	67
2.1 Reagentes, solventes e padrões.....	67
2.2 Ervas.....	67
2.2.1 Preparo dos extratos.....	68
2.2.2 Determinação dos teores totais de compostos fenólicos e flavonoides.....	68
2.2.3 Capacidade antioxidante <i>in vitro</i>	68
2.2.3.1 DPPH.....	68
2.2.3.2 ORAC (Oxygen radical absorbance capacity)	69
2.2.3.3 Sistema β -caroteno/ácido linoleico.....	69
2.2.4 Identificação dos compostos bioativos das ervas por UHPLC-ESI-MS.....	69
2.3 Omeletes.....	70
2.3.1 Ovos e preparo das omeletes.....	70
2.3.2 Tratamento térmico.....	70
2.4 Análises das omeletes.....	71
2.4.1 Determinação dos teores de umidade.....	71
2.4.2 Determinação dos teores de lipídios totais.....	71
2.4.3 Determinação de ácidos graxos.....	72
2.4.4 Determinação do colesterol e dos óxidos de colesterol.....	72
2.4.5 Identificação dos compostos bioativos das ervas presentes nas omeletes por UHPLC-ESI-MS.....	73
2.5 Análises estatísticas.....	73
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	73
3.1 Ervas.....	73
3.1.1 Compostos fenólicos, flavonoides e capacidade antioxidante.....	73
3.1.2 Compostos bioativos do manjericão e do orégano identificados por UHPLC-ESI-MS.....	75
3.2 Omeletes.....	81
3.2.1 Teores de umidade e lipídios totais das amostras de omelete.....	81
3.2.2 Efeitos da adição das ervas frente à degradação de ácidos graxos.....	83
3.2.3 Efeitos da adição das ervas frente à degradação do colesterol.....	89

3.2.4 Efeitos da adição das ervas frente à formação dos óxidos de colesterol.....	92
3.2.5 Determinação dos compostos bioativos das ervas presentes nas amostras cozidas de omelete.....	95
3.3 Análise dos Componentes Principais e mapa de calor.....	99
4 CONCLUSÃO.....	101
5 REFERÊNCIAS.....	102
CONCLUSÕES GERAIS.....	109
ANEXO.....	110

1 INTRODUÇÃO GERAL

O ovo é um alimento primordial na composição da dieta humana. Rico em nutrientes como proteínas de alto valor biológico, vitaminas e minerais, os ovos também apresentam elevados teores de compostos bioativos como carotenoides e uma fração lipídica rica em elementos tais como ácidos graxos insaturados. Os ovos se destacam devido a características como a conveniência, a acessibilidade e a versatilidade, apresentando ampla disponibilidade e fácil aquisição, uma vez que são comercializados a preços inferiores aos de outros alimentos de origem animal. Além disso, os ovos proporcionam diversas possibilidades de preparo para consumo.

Ovos comercializados *in natura* podem ser consumidos após diferentes preparações culinárias ou utilizados como ingredientes de receitas, enquanto os ovos processados são comumente empregados pela indústria de alimentos no preparo de produtos como massas, biscoitos, pães, entre outros. De fato, as pesquisas demonstram um aumento na produção e consumo de ovos. Assim, as diversas aplicações e a importância deste alimento indicam a necessidade de estudar os processos oxidativos em sua fração lipídica.

A fração lipídica de ovos é composta principalmente por ácidos graxos essenciais e apresenta elevados níveis de colesterol. Apesar das funções vitais exercidas por estes compostos no organismo humano, a presença de lipídios insaturados torna os ovos particularmente suscetíveis à oxidação, o que leva a perdas nutricionais e sensoriais, além de comprometer a integridade e segurança deste alimento devido à formação de compostos potencialmente tóxicos.

O colesterol tem reconhecida sua instabilidade, que é influenciada pela própria estrutura química, temperatura, pH, oxigênio, luz, presença de íons metálicos, entre outros fatores. Assim, o emprego de elevadas temperaturas durante o preparo térmico de ovos pode determinar alterações oxidativas na molécula do colesterol, acarretando a formação de produtos da oxidação do colesterol (POCs).

Embora os POCs tenham origem endógena e exerçam funções biológicas importantes no organismo humano, quando obtidos através da dieta, principalmente pelo consumo de alimentos processados de origem animal, são associados a efeitos adversos à saúde. A literatura evidencia a relação entre POCs exógenos e à citotoxicidade, aterogênese, carcinogênese e doenças neurodegenerativas, além de alterações das propriedades das membranas celulares e no metabolismo do colesterol.

Desta forma, torna-se indispensável o controle das reações de oxidação do colesterol durante o preparo de alimentos, o que pode ser alcançado por meio do emprego de antioxidantes. A utilização de antioxidantes sintéticos é a principal estratégia empregada pela indústria para controle da oxidação lipídica. Entretanto, devido ao potencial tóxico e carcinogênico destes aditivos, é crescente o interesse por antioxidantes encontrados em fontes naturais como as ervas.

A salsa (*Petroselinum crispum* Mill.), o manjericão (*Ocimum basilicum* L.) e o orégano (*Origanum vulgare* L.) são ervas aromáticas populares e tradicionalmente consumidas no Brasil. Além de agregar sabor, cor e aroma aos alimentos, apresentam aspectos nutricionais benéficos à saúde e propriedades antioxidantes que destacam a funcionalidade destas como conservantes naturais, representando alternativas viáveis e seguras durante o preparo térmico de alimentos e também para a indústria.

O efeito do preparo térmico sobre a composição lipídica de alimentos já foi esclarecido por pesquisadores e evidenciam a formação de compostos que representam riscos à saúde dos consumidores. Entretanto, não existem estudos sobre as possíveis alterações na

composição lipídica e formação de óxidos de colesterol durante o preparo térmico por diferentes métodos de cocção de ovos na forma de omeletes. Embora o preparo em fogão (por condução) ainda seja o método mais utilizado, outros métodos mais práticos de preparo como o *air fryer* e o micro-ondas tem apresentado uma crescente popularização, o que reflete hábitos alimentares comuns à população. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do emprego de ervas aromáticas (salsa, manjeriçã e orégano) como antioxidantes naturais durante o preparo térmico de omeletes em *air fryer*, micro-ondas e fogão.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 Consumo e produção de ovos

Conforme o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal (RIISPOA), entende-se por “ovos”, sem outra especificação, os ovos de galinha em casca (BRASIL, 2020). O ovo é um alimento primordial para a dieta e manutenção da saúde, cujo consumo e produção têm apresentado um incremento significativo nas últimas décadas.

Segundo a FAO (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura), a produção mundial de ovos alcançou 83 milhões de toneladas em 2019, onde a China se destacou como o principal produtor com 35% do mercado (FAO, 2021). No Brasil, os dados divulgados pela Associação Brasileira de Proteínas Animais (ABPA) demonstram que a produção de ovos brasileira foi de 54,973 bilhões de unidades em 2021, sendo que 99,54% da produção foram destinadas para atender o mercado interno. Tais valores indicam um acréscimo de aproximadamente 11% em comparação com a produção total no ano de 2019, mesmo durante um período desafiador para o setor devido à crise econômica mundial que se iniciou em 2020 com a chegada da pandemia do COVID 19 (ABPA, 2022). Além disso, o consumo de ovos registrado no Brasil em 2021 foi de 257 unidades por habitante, 27 ovos a mais do que em 2019 (Figura 1).



Figura 1: Consumo *per capita* de ovos no Brasil durante o período de 2010 a 2021 (ABPA, 2022).

O aumento no consumo de ovos pode ser atribuído a diversos fatores. A população esta cada vez mais preocupada com os alimentos que consome, uma vez que os tipos de alimentos presentes na dieta refletem diretamente na saúde. Assim, a realização de estudos e circulação de informações concretas e relevantes contribui para o melhor entendimento por parte do consumidor dos benefícios associados ao consumo deste alimento devido a sua rica composição em nutrientes (RÉHAULT-GODBERT, GUYOT e NYS, 2019; SANLIER e

ÜSTÜN, 2021).

Os ovos representam uma alternativa acessível e versátil para a população, além de ampla disponibilidade, uma vez que é um alimento de fácil aquisição principalmente pelo baixo custo, quando comparado a outros alimentos de origem animal (RÉHAULT-GODBERT, GUYOT e NYS, 2019; SASS et al., 2020; MANARINI, 2021). Os ovos apresentam múltiplas possibilidades de consumo, podendo ser preparados termicamente a partir de diversos métodos de cocção e técnicas culinárias que resultam em alimentos com características sensoriais variadas (RUHLMAN, 2014; MANARINI, 2021). O aumento no número de pessoas que adotaram o vegetarianismo também reflete no consumo de ovos, visto que o ovo é consumido nas principais refeições como uma opção de fonte proteica (MANARINI, 2021).

Em um estudo realizado por Sass et al. (2020), os autores avaliaram dados de redes sociais para entender a percepção dos consumidores acerca de ovos e constataram que entre os termos utilizados em publicações referentes a este alimento a categoria mais reportada foi “Refeições diárias”, com aproximadamente 60% do conteúdo analisado. Além disso, 4% do conteúdo foram postagens referentes a dietas veganas e tratavam da dificuldade dos consumidores em substituir o ovo, seja porque simplesmente gostavam deste alimento ou porque não encontravam uma proteína adequada para a substituição. A categoria “preço” também foi citada, principalmente nos países onde a língua oficial era o Português, o que foi associado ao fato destes serem países pobres e em desenvolvimento, onde os preços impactavam mais a população.

Quanto à comercialização, os ovos podem ser encontrados *in natura* ou na forma industrializada. Os ovos processados são utilizados como produtos líquidos, congelados ou desidratados, principalmente pela indústria alimentícia na produção de produtos de panificação, sobremesas, massas, maioneses, entre outros. O emprego de ovos como ingrediente obrigatório e multifuncional em uma variedade de alimentos deve-se principalmente as suas propriedades tecnológicas como a capacidade formadora de espuma e ação emulsificante, assim como seus atributos de cor e aroma (LAMAS et al., 2016; LI et al., 2021; LÓPEZ-MARTÍNEZ, MORENO-FERNÁNDEZ e MIGUEL, 2021). Assim, o ovo está amplamente presente na dieta cotidiana como uma fonte acessível de nutrientes.

2 Importância nutricional e lipídios em ovos

Entre os alimentos que fornecem nutrientes essenciais para o corpo humano, os ovos caracterizam-se por conter uma grande variedade de compostos bioativos com atividade antioxidante, anti-inflamatória, imunomodulatória, anticarcinogênica e antidiabética (RÉHAULT-GODBERT, GUYOT e NYS, 2019; XIAO et al., 2020; SANLIER e ÜSTÜN, 2021).

Os ovos contêm proteínas de fácil digestão e elevado valor biológico (presença de todos os aminoácidos essenciais), vitaminas (A, D, E, K e do complexo B) e minerais (cálcio, ferro, magnésio, fósforo, sódio, potássio), sendo ainda caracterizados como fonte moderada de calorias (aproximadamente 140 kcal/100 g) (LESNIEROWSKI e STANGIERSKI, 2018; RÉHAULT-GODBERT, GUYOT e NYS, 2019). As proteínas são distribuídas na gema e na clara, enquanto os lipídios, as vitaminas e os minerais são essencialmente concentrados na gema (RÉHAULT-GODBERT, GUYOT e NYS, 2019). A composição básica da gema e da clara do ovo é apresentada na Figura 2.

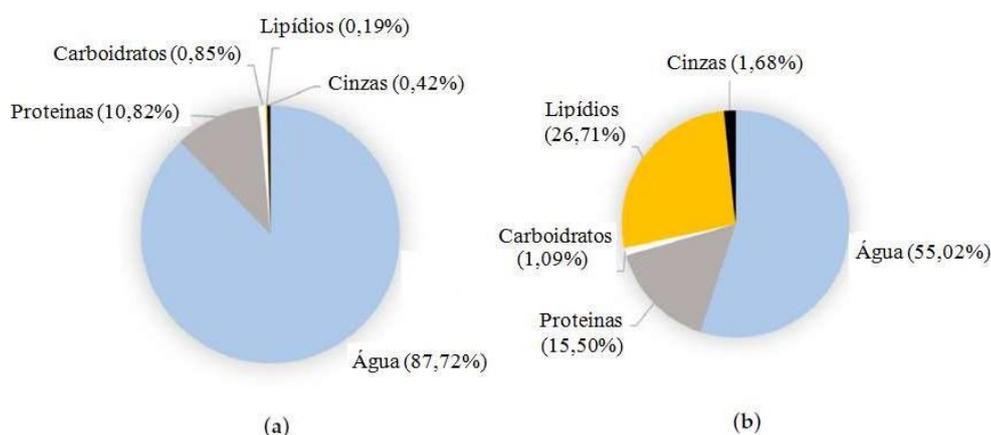


Figura 2: Composição do ovo: a) clara. b) gema. Adaptado de Réhault-Godbert, Guyot e Nys (2019).

Estudos reportam elevados teores de carotenoides como a luteína e a zeaxantina em gemas de ovos. Estes carotenoides dietéticos, também denominados pigmentos maculares, se acumulam na retina e estão associados à prevenção e tratamento de doenças oculares como a degeneração macular relacionada com a idade, além de catarata (MROWICKA et al., 2022). A gema ainda compreende a fração lipídica que inclui triacilgliceróis, fosfolipídios e colesterol (XIAO et al., 2020).

Diversas propriedades biológicas são atribuídas aos ácidos graxos presentes em ovos, onde predominam os componentes insaturados, os quais exercem funções como atividade anti-inflamatória, proteção cardiovascular e regulação de funções celulares, além do balanço homeostático fisiológico, o que acarreta diretamente em melhoras ao sistema neurológico (XIAO et al., 2020). Os principais ácidos graxos insaturados comumente encontrados em gemas de ovos são os ácidos oleico (C18:1), linoleico (C18:2) e araquidônico (C20:4), enquanto os ácidos graxos saturados predominantes são os ácidos palmítico (C16:0) e esteárico (C18:0) (ATTIA et al., 2015; MELO et al., 2019; BATKOWSKA et al., 2021).

Ao avaliar o perfil de ácidos graxos de ovos convencionais, Batkowska et al. (2021) determinaram os ácidos oleico (39,17 g/100 g) e palmítico (25,67 g/100 g) como componentes majoritários. Quanto aos diferentes grupos de ácidos graxos, os teores decresceram na seguinte ordem: ácidos graxos monoinsaturados > ácidos graxos saturados > ácidos graxos poli-insaturados.

A fração lipídica dos ovos também é caracterizada por níveis elevados de colesterol. O colesterol (C₂₇H₄₆O) é um esteroide de origem animal e constitui-se como o principal composto da fração insaponificável de óleos e gorduras. É um componente estrutural das membranas celulares e das lipoproteínas plasmáticas, onde modula a fluidez e participa do transporte e metabolismo de lipídios, além de ser precursor da síntese de hormônios esteroides, ácidos biliares e vitamina D (MORZYCKI, 2014; AGUILAR-BALLESTER et al., 2020). Quanto às fontes de colesterol, este pode ser sintetizado endogenamente no corpo humano e absorvido a partir dos alimentos de origem animal (AGUILAR-BALLESTER et al., 2020).

Os teores de colesterol das gemas de ovos podem variar de 11 a 15 mg/g de gema, representando cerca de 5% do total de lipídios das mesmas (SUN et al., 2015). Batkowska et al. (2021) determinaram um teor de colesterol de 10,10 mg/g de gema em ovos obtidos de animais tratados com dieta convencional. Os autores também avaliaram os efeitos da adição de óleo de soja e linhaça, no entanto, teores similares foram encontrados. Quanto aos

ácidos graxos, a alimentação diferenciada com os óleos acarretou no aumento do teor de ácidos graxos da série ômega 3.

De acordo com Abdalla e Ochi (2018), o teor de colesterol é reduzido em ovos de poedeiras com idade mais avançada. Alterações no perfil de ácidos graxos e nos níveis de colesterol de ovos devido ao emprego de diferentes sistemas de criação com mudanças de dieta também foram observadas por Islam et al. (2021). As variações reportadas na literatura demonstram que a composição lipídica de ovos pode ser influenciada por diversos fatores como a genética, a idade, a dieta, condições ambientais e práticas de criação, entre outros (ABDALLA e OCHI, 2018; BATKOWSKA et al., 2021; ISLAM et al., 2021; ZITA et al., 2022).

Apesar das funções vitais exercidas pelo colesterol no organismo humano, durante anos o conteúdo de colesterol presente na gema dos ovos contribuiu para a forte publicidade negativa acerca do consumo destes, devido à associação dos elevados teores de colesterol sérico com o aumento do risco de doenças cardiovasculares. Entretanto, diversas pesquisas apresentam resultados controversos e os dados obtidos não suportam a correlação entre o consumo de ovos e a incidência de doenças cardiovasculares em indivíduos saudáveis (MARVENTANO et al., 2020; HAHN et al., 2021; MA et al., 2022). Além disso, ao contrário de outros alimentos de origem animal, os ovos contêm menores teores de ácidos graxos saturados em detrimento aos insaturados, perfil característico de uma dieta direcionada para a redução de distúrbios cardiovasculares (VALENZUELA et al., 2016; KIM e REBHOLZ, 2021).

Desta forma, a problemática relacionada ao colesterol em ovos não esta propriamente relacionada aos teores, mas sim a forma como este alimento é preparado e consumido. A presença de lipídios insaturados, como os ácidos graxos e o colesterol, torna os ovos, assim como alimentos que os contêm, particularmente suscetíveis aos processos oxidativos, que levam a perdas nutricionais e sensoriais, além de comprometer a integridade e segurança por meio da formação de compostos potencialmente tóxicos (INNOSA et al., 2019; VERARDO et al., 2020).

3 Oxidação lipídica

A oxidação lipídica é um fenômeno complexo que pode ocorrer por meio de três mecanismos: a foto-oxidação, a oxidação via enzimática e a auto-oxidação. Em alimentos, a oxidação é a principal forma de degradação de lipídios e ocorre principalmente via auto-oxidação (LAGUERRE, LECOMTE e VILLENEUVE, 2007; KUMAR et al., 2015).

A auto-oxidação ocorre na presença de oxigênio e iniciadores como luz, calor, fotossensibilizadores, metais e espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. É associada à reação de oxigênio com ácidos graxos insaturados através de um mecanismo de reações em cadeia de radicais (espécies químicas instáveis e de alta reatividade que contêm um ou mais elétrons não pareados). O processo de auto-oxidação lipídica é dividido em três etapas consecutivas: iniciação, propagação e terminação (RAMALHO e JORGE, 2006; LAGUERRE, LECOMTE e VILLENEUVE, 2007; KUMAR et al., 2015).

Na etapa de iniciação, um hidrogênio é abstraído de um ácido graxo, deixando um elétron não pareado no carbono e gerando assim um radical alquil. A abstração de hidrogênio ocorre preferencialmente em ácidos graxos insaturados, pois quando um átomo de carbono é adjacente a uma ligação dupla, a ligação covalente C-H torna-se mais fraca e requer menor energia de dissociação (GORDON, 2004).

A suscetibilidade dos ácidos graxos à oxidação lipídica aumenta com o grau de insaturação. A abstração de hidrogênio de um grupo metileno de um sistema 1,4-pentadieno ocorre mais facilmente do que em um simples grupamento alílico, além de que o radical 1,4-dieno gerado é estabilizado de modo mais eficiente por ressonância, isto é, pelo deslocamento de elétrons pelos cinco átomos de carbono (LAGUERRE, LECOMTE e VILLENEUVE, 2007; DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010).

Após a abstração do hidrogênio, a energia do radical alquil formado é reduzida por isomerização devido à formação de ligações duplas conjugadas. Desta forma, o radical alquil reage rapidamente com o oxigênio atmosférico gerando novas espécies radicais, os radicais peróxidos. Este radical peróxil tem energia suficiente para promover a abstração de hidrogênio de outro ácido graxo, formando outro radical alquil e produtos primários da oxidação (peróxidos e hidroperóxidos) (LAGUERRE, LECOMTE e VILLENEUVE, 2007; KUMAR et al., 2015).

Durante a fase de terminação ocorre a interrupção das reações de propagação com o acúmulo de radicais peróxidos que reagem entre si formando moléculas estáveis como dímeros de ácidos graxos, trímeros e oligômeros (BARDEN e DECKER, 2016). Produtos secundários são formados na terminação através da decomposição de hidroperóxidos formando aldeídos, hidrocarbonetos, álcoois, cetonas voláteis e outros compostos não voláteis (LAGUERRE, LECOMTE e VILLENEUVE, 2007). A figura 3 apresenta o esquema geral para as etapas da auto-oxidação lipídica.

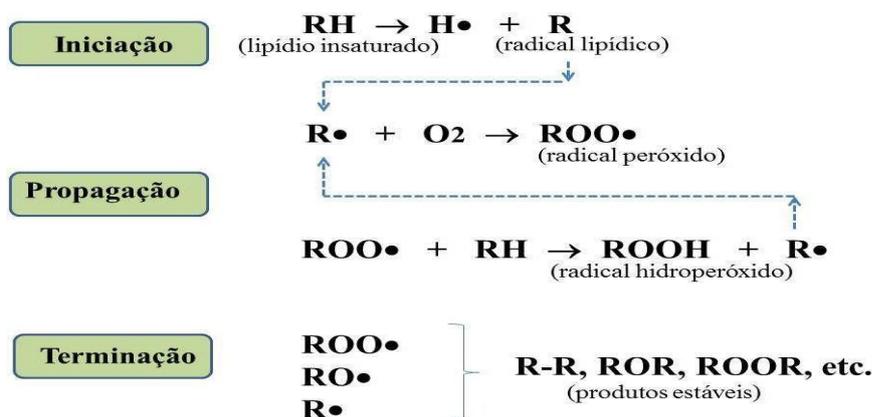


Figura 3: Esquema geral para a auto-oxidação lipídica. Adaptado de GAVAHIAN et al. (2018).

4 Oxidação do colesterol e formação de óxidos de colesterol

O colesterol apresenta-se em sua forma livre, combinado com ácidos graxos de cadeia longa ou como ésteres de colesterol em células, tecidos, fluidos e alimentos. Em sua forma livre, o colesterol apresenta uma cadeia longa de álcool policíclico com um anel tetracíclico que possui um grupo hidroxila no carbono 3 e uma insaturação entre os carbonos 5 e 6, assim como uma cadeia lateral alifática (MCCLEMENTS e DECKER, 2010; VICENTE et al., 2012).

A oxidação do colesterol em alimentos ocorre de forma similar à oxidação dos ácidos graxos insaturados, via mecanismo de auto-oxidação, e acarreta a formação de compostos

conhecidos como óxidos de colesterol ou produtos da oxidação do colesterol (POCs) (SMITH, 1987).

Os óxidos de colesterol possuem uma estrutura semelhante à do colesterol, apresentando uma hidroxila adicional, um grupo cetona ou epóxido no núcleo central, ou ainda uma hidroxila na cadeia lateral (KIM e NAWAR, 1993). A ligação dupla entre os carbonos 5 e 6 torna a molécula altamente suscetível a oxidação, sendo o carbono 7 o centro reativo. Os carbonos 4 e 7 apresentam-se no mesmo plano, entretanto, o impedimento estérico provocado pelo grupo hidroxila do carbono 3 dificulta as reações oxidativas no carbono 4. O mesmo impedimento estérico ocorre no carbono 5, devido ao substituinte triálquil (TAI, CHEN e CHEN, 1999). A figura 4 apresenta as posições mais susceptíveis à oxidação na molécula de colesterol.

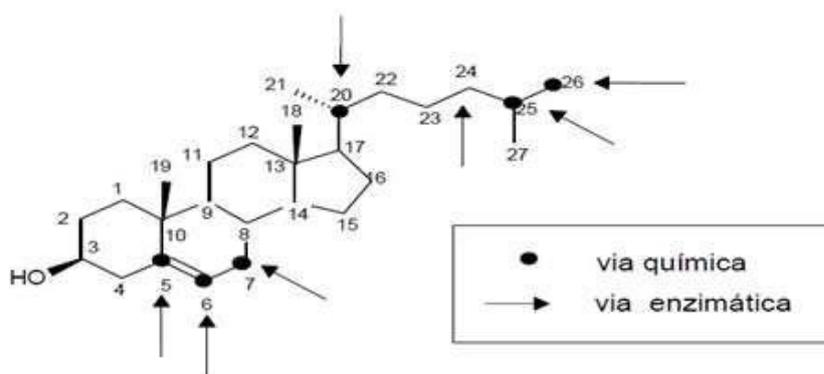


Figura 4: Posições da molécula de colesterol susceptíveis ao ataque oxidativo (SMITH, 1987).

A fraca energia da ligação C-H no carbono 7 favorece a reação, pois demanda uma menor energia de ativação para a abstração do hidrogênio (TAI, CHEN e CHEN, 1999). A auto-oxidação do colesterol se inicia com a formação de um radical no carbono 7 acarretando na formação simultânea de 7α - e 7β -hidroperóxidos, predominando o 7β -hidroperóxido por ser termodinamicamente mais estável devido a sua forma equatorial. Posteriormente, estes compostos são reduzidos aos seus álcoois correspondentes (7α - e 7β - hidroxicolesterol) ou podem originar o 7-cetocolesterol (TAI, CHEN e CHEN, 1999).

A epoxidação acarreta a formação de $5,6\alpha$ - e $5,6\beta$ -epoxicolesterol, formados principalmente em condições de elevada concentração de oxigênio. Produtos da oxidação da cadeia lateral do colesterol também podem ser formados, onde a oxidação predominante dos carbonos terciários C20 e C25 acarreta a formação de 20-hidroxicolesterol e 25-hidroxicolesterol, respectivamente, podendo ainda haver a ocorrência de 24-, 26- e 27-hidroxicolesteróis. O colesterol também pode ser degradado por outras vias e desencadear o desenvolvimento de outros produtos como hidrocarbonetos de cadeia curta, aldeídos, cetonas e álcoois (SMITH, 1987).

A figura 5 apresenta as vias de formação dos principais óxidos de colesterol. No entanto, a auto-oxidação do colesterol é um mecanismo complexo onde o perfil dos óxidos de colesterol e suas concentrações são influenciados por fatores como a atividade de água, pH, exposição à luz e a irradiação, temperaturas elevadas, a presença de oxigênio e compostos antioxidantes, íons metálicos, o estado físico do colesterol e a composição do alimento (BARRIUSO, ANSORENA e ASTIASARÁN, 2017).

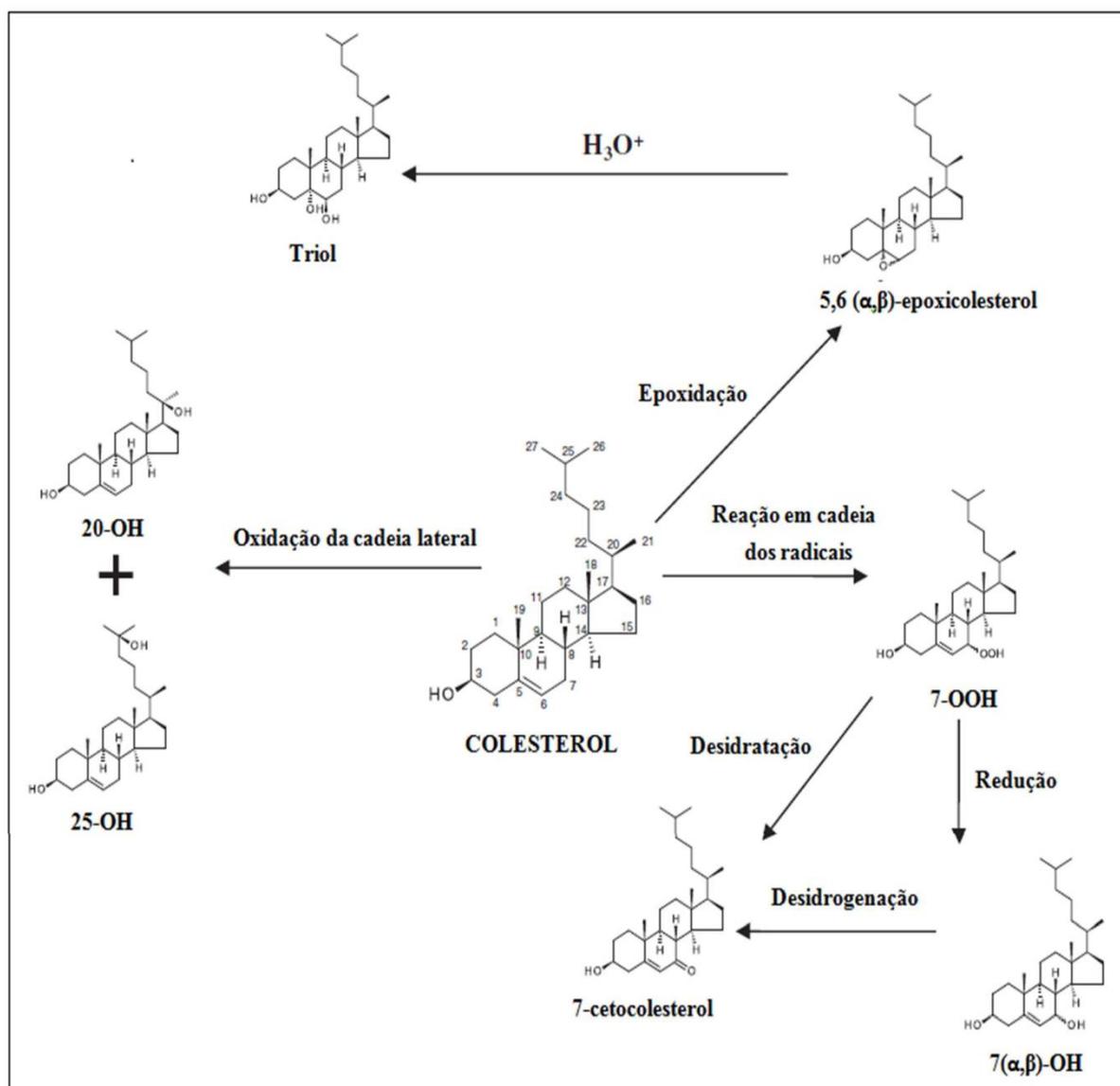


Figura 5: Vias de formação dos principais óxidos de colesterol. Adaptado de Medina-Meza e Barnaba (2013).

5 Efeitos dos óxidos de colesterol à saúde

Considerando as fontes de óxidos de colesterol, estes podem ser formados de forma endógena no organismo humano, basicamente no fígado e nos tecidos geradores de hormônios esteroides, e também serem obtidos de forma exógena por meio do consumo de alimentos de origem animal, principalmente quando processados (HUR, PARK e JOO, 2007; KULIG et al., 2016; GARCIA-LLATAS et al., 2021).

Os POCs formados endogenamente apresentam efeitos biológicos relevantes. Estes compostos participam ativamente de processos como a homeostase e o metabolismo de biomoléculas (colesterol, lipídios, glicose, hormônios esteróides e vitamina D) (KULIG et al., 2016; CHOI e FINLAY, 2020). Atuam como marcadores da oxidação lipoproteica e

moduladores da permeabilidade celular (KULIG et al., 2016), assim como em respostas imunológicas e mecanismos de defesa contra infecções (KULIG et al., 2016; CHOI e FINLAY, 2020; REINMUTH et al., 2021). Ademais, os óxidos de colesterol ainda podem ser empregados como biomarcadores para diagnosticar e/ou monitorar a progressão de câncer e doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (ZMYSŁOWSKI e SZTERK, 2019; KLOUDOVA- SPALENKOVA, HOLY e SOUCEK, 2021).

Entretanto, os POCs obtidos a partir de dietas ricas em lipídios oxidados apresentam efeitos deletérios à saúde, sendo associados ao desenvolvimento de processos inflamatórios, ao estresse oxidativo e a morte celular (DE MEDINA, SILVENTE-POIROT e POIROT, 2022). Assim, inúmeras pesquisas relacionam a ingestão de POCs exógenos com o desencadeamento de patologias como doenças cardiovasculares e neurodegenerativas, osteoporose, diabetes, artrite reumatoide, além de alterações fisiológicas como inflamações e apoptoses (WATANABE et al., 2018; MCCOMB et al., 2021; GARCIA-LLATAS et al., 2021; NURY et al., 2021; LIU et al., 2022). As vias de absorção de POCs em condições *in vivo* ainda não foram completamente elucidadas. Entretanto, os óxidos de colesterol podem ser absorvidos dos alimentos para a corrente sanguínea e, assim, acumularem nos tecidos e órgãos humanos, representando um risco concreto à saúde humana (GARCIA-LLATAS et al., 2021).

O 7-cetocolesterol, principal POC encontrado nos alimentos, ativa monócitos e macrófagos induzindo o estresse oxidativo que pode acarretar alterações na membrana plasmática, disfunções de organelas, danos ao DNA e secreção de citocinas levando à morte celular (NURY et al., 2017; BRAHMI et al., 2018; WANG et al., 2021a; MAHALAKSHMI et al., 2021). Os POCs causam injúrias ao intestino (IAIA et al., 2020) e o desenvolvimento de patologias oculares (WANG et al., 2021a). Um estudo de revisão da literatura abordou a relação do 27-hidroxicolesterol com o desenvolvimento de cânceres, onde o óxido apresentou efeitos adversos no desenvolvimento do câncer de mama, cólon, cérebro e tireóide (BIASI et al., 2021).

Inflamações em níveis neuronais induzidas por PCs podem levar ao desenvolvimento de doenças neurodegenerativas como Alzheimer, Parkinson, doença de Huntington e esclerose múltipla (MALAGUTI et al., 2019; MAHALAKSHMI et al., 2021; VEJUX et al., 2021). Os óxidos de colesterol também são associados à aterogênese e constantemente encontrados no plasma de indivíduos hipercolesterolêmicos e em placas ateroscleróticas (DIAS et al., 2018; ANDERSON et al., 2020). O quadro 1 apresenta alguns estudos recentes presentes na literatura que reportam efeitos adversos dos óxidos de colesterol à saúde.

Quadro 1: Estudos referentes aos óxidos de colesterol e seus efeitos deletérios à saúde.

Óxido de colesterol	Efeito	Referência
7-cetocolesterol	Induz alterações peroxissomais morfológicas, topográficas e funcionais associadas a disfunções graves e leves em mitocôndrias.	Nury et al. (2018)
7-cetocolesterol	Aumenta a expressão do mRNA de citocinas pró-inflamatórias em células mesangiais humanas contribuindo para a elucidação dos mecanismos envolvidos na fisiologia de nefropatias diabéticas.	Watanabe et al. (2018)
25-OH	Promove a calcificação vascular (comum em pacientes com doença renal, diabetes e aterosclerose) em células musculares lisas vasculares in modelos <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> por meio do estresse do retículo endoplasmático.	Dong et al. (2020)
7-cetocolesterol	Efeito mutagênico em células ovarianas em hamsters.	Wang et al. (2020)
7-cetocolesterol e 7 β -OH	Associação com lesões neuroaxonais em esclerose múltipla.	Mccomb et al. (2021)
Misturas de POCs (24-OH, 27-OH, 7-cetocolesterol, 7 α - e 7 β -OH, 5,6 α - e 5,6 β -epoxicolesterol) em quantidades encontradas em cérebros com Alzheimer em nível leve e grave	Induz a reatividade de astrócitos e a liberação de mediadores que afetam à saúde neuronal e sinapses em camundongos.	Staurenghi et al. (2021)
7-cetocolesterol	Induz a transição endotelial-mesenquimal em células endoteliais coroidais e promove fibrose causando implicações na neovascularização durante a degeneração macular relacionada à idade.	Wang et al. (2021a)
25-OH	Induz a morte celular apoptótica em células L929 de fibroblastos em camundongos.	You et al. (2021)
27-OH	Contribui para a fosforilação da proteína tau, abundante em neurônios do sistema nervoso central, prejudicando a autofagia, a memória e o aprendizado em camundongos.	Wang et al. (2022)

*25-OH = 25-hidroxicolesterol; 7 β -OH = 7 β -hidroxicolesterol; 24-OH = 24-hidroxicolesterol; 27-OH = 27-hidroxicolesterol.

6 Preparo térmico de alimentos e oxidação lipídica

A formação de óxidos de colesterol em alimentos é inevitável, sendo atribuída principalmente ao binômio tempo-temperatura de processamento, condições de armazenamento, manuseio e embalagem. Ademais, os POCs também podem ser formados involuntariamente durante o preparo doméstico (GARCIA-LLATAS et al., 2021).

Dentre os fatores que induzem os processos oxidativos em alimentos, a termo-oxidação é um dos mais relevantes. Temperaturas elevadas atuam diminuindo a energia de ativação necessária para a abstração do hidrogênio que leva a formação de radicais, iniciando assim as reações da auto-oxidação em cadeia (BARRIUSO, ANSORENA e ASTIASARÁN, 2017).

O impacto do aquecimento na formação de POCs em ovos e produtos preparados com ovos foi demonstrado em estudos anteriores. Elevados teores de 7-cetocolesterol, 7 α -hidroxicolesterol e 7 β -hidroxicolesterol foram determinados em ovos enriquecidos com ácidos graxos da série ômega 3 após fervura e fritura (MAZALLI e BRAGAGNOLO, 2009; REN et al., 2013). Zardetto, Barbanti e Dalla Rosa (2014) mostraram que a concentração de POCs em massas preparadas com ovos pasteurizados aumentou de 66,44 $\mu\text{g/g}$ para 117,90 $\mu\text{g/g}$ após o cozimento a 100°C por 120 minutos. Biscoitos formulados com ovos pasteurizados apresentaram maiores teores de óxidos de colesterol do que amostras formuladas com ovos em pó, o que foi atribuído ao fato da secagem por pulverização ter ocasionado menos danos oxidativos em relação ao método de pasteurização (VERARDO et al., 2020).

O preparo térmico de alimentos por diferentes métodos de cocção é associado à ocorrência de processos oxidativos. Embora sejam poucos os estudos acerca do preparo térmico de ovos e estes não abordem a oxidação do colesterol, estudos reportaram o efeito do *air fryer* durante o preparo térmico de sardinhas (FERREIRA et al., 2017; DE CARVALHO et al., 2021). De acordo com de Carvalho et al. (2021) e Ferreira et al. (2022), o cozimento em *grill* também acarretou a oxidação lipídica e formação de óxidos de colesterol em sardinhas, assim como a fritura em óleo (DE CARVALHO et al., 2021). Min et al. (2016) demonstraram os efeitos de diferentes métodos de cocção, como o micro-ondas, vapor, *grill* e fogão convencional, na formação de óxidos de colesterol durante o preparo térmico de lombo suíno. Desta forma, devido aos efeitos deletérios associados à ingestão de POCs é notável a importância de controlar a formação destes compostos em alimentos, onde o emprego de antioxidantes é a principal estratégia para minimizar os danos decorrentes da oxidação lipídica.

7 Antioxidantes sintéticos x antioxidantes naturais

Antioxidantes são substâncias sintéticas ou naturais que mesmo em baixas concentrações são capazes de retardar ou inibir as reações oxidativas. Este efeito pode ser observado devido à interrupção da oxidação lipídica durante a fase de propagação por meio da doação de elétrons ou átomos de hidrogênio e estabilização dos radicais ou pela ação protetora dos antioxidantes frente aos iniciadores destas reações (LAGUERRE, LECOMTE e VILLENEUVE, 2007; FERNANDES, TRINDADE e DE MELO, 2018; ADMASSU, 2019).

Os antioxidantes sintéticos são amplamente utilizados na indústria de alimentos, onde os principais são o butilidroxianisol (BHA), butilidroxitolueno (BHT), galato de propila (GP) e *tert*-butilidroquinona (TBHQ) (ADMASSU, 2019; XU et al., 2021). Embora esta seja uma estratégia eficaz no controle dos processos oxidativos, nos últimos anos é notável a preocupação da população em relação aos alimentos que consomem e a busca por produtos isentos de aditivos sintéticos (FERNANDES, TRINDADE e DE MELO, 2018; VERMA e THAKUR, 2021). Além disso, a ingestão de antioxidantes sintéticos pode causar efeitos adversos à saúde, devido ao potencial tóxico e carcinogênico destes (WANG et al., 2021b; XU et al., 2021).

De acordo com Kamemura et al. (2018), o BHT pode aumentar a concentração intracelular de Ca^{2+} e Zn^{2+} e induzir o estresse oxidativo, aumentando a letalidade celular em ratos. Sun et al. (2021) demonstraram que a exposição ao BHT pode comprometer a decidualização endometrial durante o início da gestação em camundongos, o que pode ser atribuído a distúrbios dos hormônios reprodutivos e alterações nos sinais dos receptores hormonais. O BHA apresentou potencial citotóxico frente à astrócitos humanos devido ao

acúmulo de cálcio citosólico e estresse do retículo endoplasmático, o que pode resultar em danos cerebrais (PARK et al., 2019).

Desta forma, é crescente a tendência pela substituição dos antioxidantes sintéticos por antioxidantes naturais, que compreendem uma diversidade de substâncias bioativas distribuídas na natureza (DE OLIVEIRA et al., 2018; FERNANDES, TRINDADE e DE MELO, 2018; FERREIRA et al., 2022). Além de minimizar os processos oxidativos e reduzir a ingestão de aditivos sintéticos, o emprego dos antioxidantes naturais também proporciona benefícios extras à saúde, visto que estes compostos podem ser efetivamente assimilados pelo organismo e apresentam diversas propriedades biológicas (SILVA et al., 2019; VERMA e THAKUR, 2021).

Mitterer-Daltoé et al. (2020) utilizaram uma técnica chamada “Word Association” para explorar a avaliação cognitiva de antioxidantes em alimentos por consumidores. Solicitou-se aos consumidores que escrevessem quatro palavras que vinham à mente ao ler “Antioxidantes alimentares” e “Antioxidantes alimentares naturais”. Os resultados revelaram a percepção negativa associada à saúde para o estímulo “Antioxidante alimentar”, uma vez que a categoria “prejudicial à saúde” foi citada por 39,6% dos participantes. Já para “Antioxidantes alimentares naturais”, a percepção dos consumidores apontou para pontos positivos à saúde, conforme demonstrado pelas categorias “saudável” e “bem estar”.

O reino vegetal representa a principal fonte de antioxidantes naturais, os quais são caracterizados principalmente por pigmentos ou produtos do metabolismo secundário das plantas, geralmente derivados de reações de defesa contra agressões ambientais. Vegetais, frutas, ervas e especiarias apresentam uma grande variedade de fitoquímicos que podem atuar tanto individualmente como em sinergia (OROIAN e ESCRICHE, 2015; EMBUSCADO, 2019; KUMAR et al., 2021).

Os antioxidantes naturais presentes em maior quantidade no reino vegetal são os compostos fenólicos, dentre os quais os principais são os ácidos fenólicos, os flavonoides, as lignanas e os estilbenos. Os fenólicos variam estruturalmente de uma única molécula fenólica a complexos polímeros de alto peso molecular, que possuem um anel aromático com uma ou mais hidroxilas, podendo também apresentar outros grupos substituintes como ésteres, ésteres metílicos e glicosídeos (OROIAN e ESCRICHE, 2015; SHAHIDI e AMBIGAIPALAN, 2015).

A propriedade antioxidante do composto fenólico esta associada principalmente à facilidade com a qual um átomo de hidrogênio de um grupo hidroxila do anel aromático é doado para um radical, assim como a habilidade do composto fenólico em suportar um elétron não emparelhado por meio do mecanismo de ressonância (MCCLEMENTS e DECKER, 2010). O potencial antioxidante do composto fenólico depende da estrutura molecular deste, pois a quantidade, a localização e atividade dos grupamentos hidroxila podem variar alterando assim a capacidade de inativação dos radicais reativos (SHAHIDI e AMBIGAIPALAN, 2015).

Os antioxidantes sintéticos utilizados pela indústria apresentam o mesmo princípio de ação dos compostos antioxidantes presentes na natureza, chamando a atenção para pesquisas que envolvam novas fontes naturais de compostos antioxidantes e sua aplicação em produtos alimentícios. Quanto ao preparo doméstico de alimentos, o emprego destas fontes naturais, como ervas e especiarias, representa uma alternativa viável, prática e acessível.

8 Uso de ervas aromáticas como antioxidantes naturais

As ervas aromáticas são plantas utilizadas para conferir e realçar características como sabor, cor e aroma dos alimentos. A atividade antioxidante, comumente reportada em ervas, possibilita não só a melhora da saúde por meio da dieta, mas também sugere o emprego destas como conservantes naturais. Amplamente cultivadas e seguras para consumo, às ervas apresentam funcionalidade tanto no controle de processos oxidativos como na deterioração microbiana (FERNANDES, TRINDADE e DE MELO, 2018; EMBUSCADO, 2019; JIANG, 2019; VEENSTRA e JOHNSON, 2019; SHARIFI-RAD et al., 2021). Dentre as ervas mundialmente conhecidas que apresentam constituintes antioxidantes pode-se citar a salsa (*Petroselinum crispum* Mill.), o manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) e o orégano (*Origanum vulgare* L.). A figura 6 apresenta cada uma destas ervas, assim como a estrutura química de alguns compostos antioxidantes identificados nas mesmas.

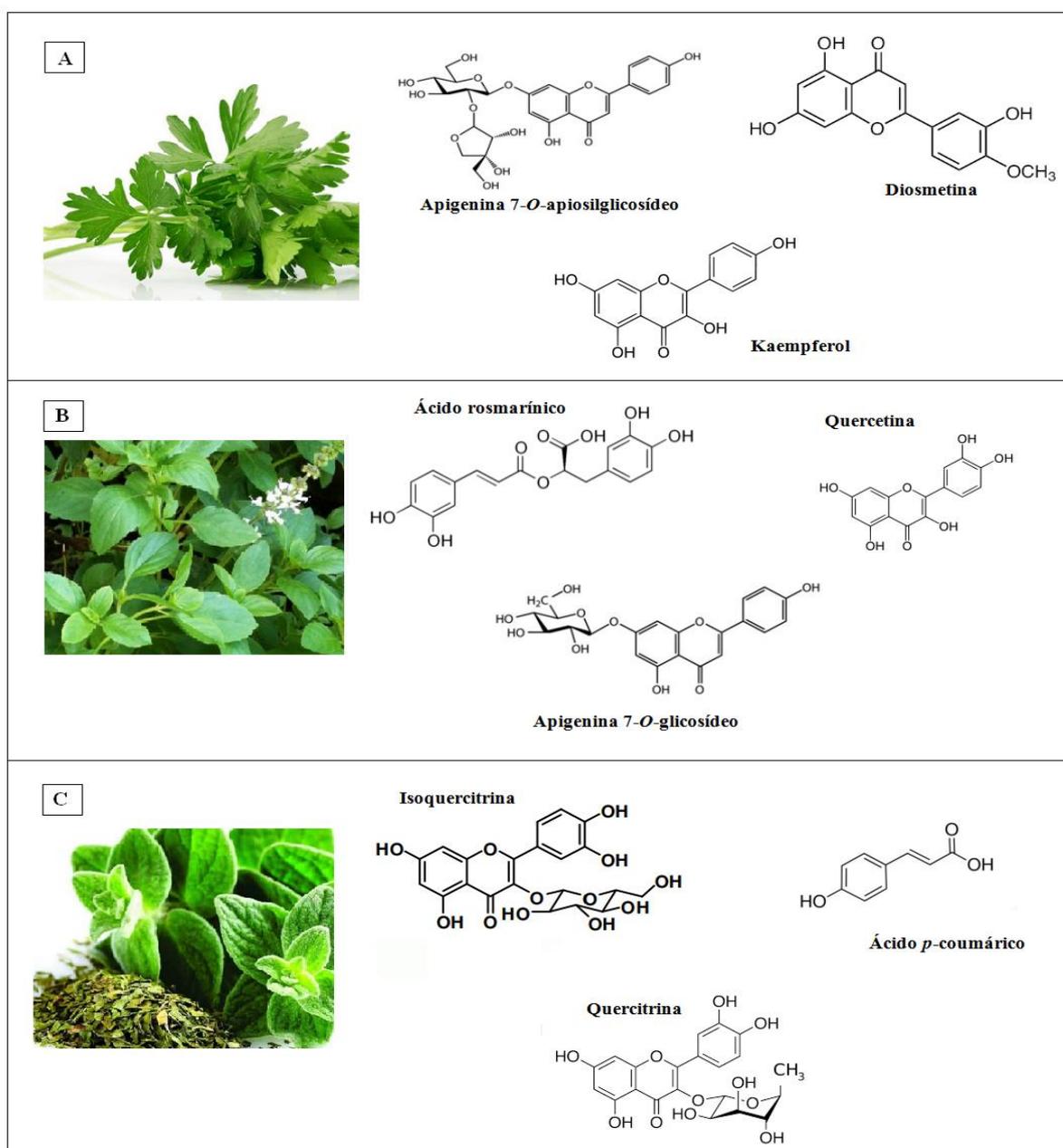


Figura 6: Ervas aromáticas e estrutura química de compostos antioxidantes identificados nas

folhas das ervas. a) salsa (*Petroselinum crispum* Mill.), b) manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), c) orégano (*Origanum vulgare* L.).

8.1 Salsa (*Petroselinum crispum* Mill.)

A salsa (*Petroselinum crispum* Mill.), também conhecida como salsinha, é originária das regiões mediterrâneas da Europa e pertence à família Apiaceae (FARZAEI et al., 2013). É uma planta herbácea bienal que desenvolve um pendão floral com até 75 cm de altura. Possui caule estriado e ramoso e suas folhas são serrilhadas, verde-escuras brilhantes e divididas em longos pecíolos (HEREDIA et al., 2003). É uma cultura que apresenta melhores condições de crescimento em solos areno-argilosos e em regiões de clima temperado, entretanto, é de fácil adaptação e pode ser cultivada durante todo o ano (HEREDIA et al., 2003, CORRÊA FILHO et al., 2018).

Folhas de salsa frescas e secas são comercializadas sendo empregadas como condimento, guarnição e ingredientes aromatizantes (ALVES, 2019; DOBRIČEVIĆ et al., 2019; DE OLIVEIRA, 2021). O óleo essencial extraído das folhas e das sementes atua como agente aromatizante ou fragrância na indústria de cosméticos. Esta planta também é empregada pela medicina popular devido a propriedades como ação anticoagulante, antiplaquetária, antidiabética, analgésica, diurética, gastroprotetora, antimicrobiana, antioxidante, entre outras (FARZAEI et al., 2013; CHAUHAN e AISHWARYA, 2018; ALVES, 2019; DE OLIVEIRA, 2021).

Compostos bioativos como ácidos fenólicos, flavonoides e carotenoides sustentam o potencial valor biológico da salsa (FARZAEI et al., 2013; SALEH et al., 2018; DOBRIČEVIĆ et al., 2019; PROZ et al., 2021; FERREIRA et al., 2022). Em estudo realizado por Liberal et al. (2020), sete compostos fenólicos da classe dos flavonoides foram identificados, incluindo compostos derivados da apigenina e kaempferol. Além da apigenina, flavonoides glicosídeos como isorhamnentina, diosmetina e seus derivados também foram encontrados em extratos da salsa por El-Zaedi et al. (2016) e Slimstad, Fossen e Brede (2020).

Saleh et al. (2018) identificaram os ácidos gálico, *p*-coumárico, ferúlico e siríngico como os principais ácidos fenólicos presentes em folhas de salsa. Quanto à classe dos flavonoides, quercetina e rutina foram os compostos predominantes. Ao avaliar o perfil fitoquímico de folhas frescas de salsa, Andrei et al. (2018) quantificaram teores de 2,15 mg/g, 69 µg/g e 216,4 µg/g para polifenóis, clorofilas totais e carotenóides totais, respectivamente. Dobričević et al. (2019) avaliaram seis cultivares diferentes de salsa e verificaram que todas as amostras estudadas apresentaram elevado potencial antioxidante devido as quantidades significativas de clorofilas, carotenoides, fenólicos e vitamina C.

Compostos das classes dos carotenoides (luteína e β-caroteno) também foram identificados por Proz et al. (2021), assim como compostos derivados de flavonoides (apigenina, kaempferol, diosmetina) e ácidos fenólicos (ácido *p*-coumárico). Ferreira et al. (2022) reportaram a presença dos ácidos protocatequínico, clorogênico, *p*-coumárico e cafeico em extrato etanólico da salsa, assim como flavonoides (apigenina e seus derivados). De acordo com os autores, o extrato da salsa também apresentou potencial antioxidante ao ser avaliado por métodos *in vitro* (DPPH, β-caroteno/ácido linoleico, ORAC) e *in vivo*.

8.2 Manjeriço (*Ocimum basilicum* L.)

Dentre as mais de 150 espécies que compreendem o gênero *Ocimum*, família Lamiaceae, o manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) tem se destacado devido ao seu grande potencial de exploração e uso (PEREIRA e MOREIRA, 2011; ROCHA, 2021). É originário do sudoeste da Ásia e da região central da África, disperso por regiões tropicais e subtropicais da Ásia, África, América Central e América do Sul (PEREIRA e MOREIRA, 2011; ABRAMOVIC et al., 2018). No Brasil, onde também é conhecido como alfavaca, alfavaca-doce, alfavaca-cheirosa, basílico ou manjeriço comum, foi introduzido pela colônia italiana e é cultivado principalmente por pequenos produtores, o que gera a escassez de dados oficiais com relação à produção (ROCHA, 2021; SOUZA, 2021).

A espécie caracteriza-se por apresentar ciclo anual ou perene, dependendo do local onde é cultivada e das características agrônômicas. Classificado como um subarbusto ramificado, o manjeriço pode atingir de 50 a 100 cm. Suas folhas possuem coloração variada, a partir de tons de verde ou roxo, e as flores são pequenas com coloração que variam do branco ao avermelhado (FAVORITO et al., 2011).

O manjeriço é reconhecido por suas propriedades aromatizantes, culinárias, ornamentais e medicinais (PURUSHOTHAMAN et al., 2018; ROCHA, 2021). Suas folhas aromáticas são utilizadas secas ou frescas como condimento (PEREIRA e MOREIRA, 2011; ROCHA, 2021). O óleo essencial extraído desta planta pode ser empregado como aditivo alimentar, bem como na indústria farmacêutica e de cosméticos (SUNDARARAJAN et al., 2018; SHAHRAJABIAN, SUN e CHENG, 2020; DHAMA et al., 2021; KAČÁNIOVÁ et al., 2022).

As folhas são tradicionalmente usadas pela medicina popular no tratamento de distúrbios intestinais e digestivos, além de dores de cabeça, tosse, resfriados, pressão alta, insônias e disfunções renais (PURUSHOTHAMAN et al., 2018; ROCHA, 2021). Além disso, o manjeriço apresenta constituintes biologicamente ativos com características antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias, inseticidas e larvicidas (PURUSHOTHAMAN et al., 2018; SUNDARARAJAN et al., 2018; AHMED et al., 2019; DHAMA, 2021; RUBAB et al., 2021; KAČÁNIOVÁ et al., 2022).

Análises dos componentes fitoquímicos presentes no manjeriço indicam os ácidos fenólicos e os flavonoides como principais constituintes antioxidantes desta erva (PRINSI et al., 2019; IBRAHIM, MANSOUR e ELKADY, 2020; TEOFILOVIĆ et al., 2021). De acordo com Ahmed et al. (2019), elevados níveis de compostos fenólicos são diretamente correlacionados com a capacidade antioxidante do manjeriço.

Ibrahim, Mansour e Elkady (2020) identificaram a apigenin 7-*O*-glicosídeo (7,53%) como o principal flavonoide presente no extrato de manjeriço, seguido pela luteolina (5,94%). Quanto aos ácidos fenólicos, foi observada a predominância dos ácidos rosmarínico (15,76%) e caftárico (9,39%). Os teores totais de compostos fenólicos (146,31 mg/g) e flavonoides (28,63 mg/g) também foi determinado por análises espectrofotométricas. Estas classes de compostos também foram reportadas em extratos de manjeriço preparados de diferentes formas (variando o solvente, método e tempo de extração, totalizando 100 extratos), onde além do ácido rosmarínico, também foram encontrados os ácidos clorogênico, cafeico, ferúlico, vanílico, *p*-hidroxibenzoico e cinâmico. Flavonoides como a quercetina, a naringenina e a rutina também foram identificados (TEOFILOVIĆ et al., 2021).

Em estudo realizado por Al Jaouni et al. (2018), os principais compostos fenólicos encontrados nos extratos da erva foram (em base seca): ácido gálico (13,52 mg/g), ácido ferúlico (2,75 mg/g), ácido *p*-coumárico (1,40 mg/g) e quercetina (1,19 mg/g). Os extratos em

questão também apresentaram capacidade antioxidante para os métodos de DPPH e FRAP. Ao avaliar as concentrações de ácidos fenólicos de forma individual, Prinsi et al. (2019) mostraram que o ácido rosmarínico foi determinado em maior quantidade nas folhas de manjeriço, correspondendo a mais de 80% da soma de todos os compostos identificados, seguido pelos ácidos chicórico e caftárico. Além dos ácidos fenólicos, flavonoides e antocianinas também foram identificados. Carotenoides e clorofilas também estão presentes no manjeriço. Conteúdos totais de clorofila e carotenoides em folhas de manjeriço foram determinados por Stagnari et al. (2018), sendo encontrados teores variando de 685 a 1330 µg/g e de 124 a 158 µg/g, respectivamente.

8.3 Orégano (*Origanum vulgare* L.)

O orégano (*Origanum vulgare* L.) é uma erva perene originária dos países mediterrâneos, sendo também encontrada nas zonas temperadas da Ásia e América. Membro da família Lamiaceae, caracteriza-se como uma planta que pode atingir até 90 cm de altura, apresentando folhas em formato oval e minúsculas flores terminais com coloração variando do rosa ao roxo dipostas em pequenos ramos compactos (KINTZIOS, 2002). Esta erva é conhecida por seu aroma característico e confere sabor e fragância a diversas receitas culinárias (KINTZIOS, 2002; NUNES, 2021). Pode ser comercializada na forma fresca ou seca, além de possibilitar a extração do óleo essencial que desfruta de extensa demanda pela indústria farmacêutica e cosmética (NI et al., 2021; BORA et al., 2022).

O orégano é utilizado pela medicina popular devido as suas propriedades terapêuticas (NUNES, 2021). Estudos reportam importantes atividades biológicas como efeito antioxidante, antimicrobiano, inseticida, analgésico, antifúngico e antisséptico (FIKRY, KHALIL e SALAMA, 2019; VEENSTRA e JOHNSON, 2019; IQUBAL, 2020; KHAN, 2020; OLEJNIKOV, 2020). O orégano é fonte de compostos bioativos como antocianinas, flavonoides, ácidos fenólicos, taninos, terpenos, entre outros, aos quais são atribuídos o potencial antioxidante desta erva (VEENSTRA e JOHNSON, 2019; SLIMESTAD, FOSSEN e BREDE, 2020; ZENGIN et al., 2020).

Os ácidos fenólicos e flavonoides são constantemente identificados em extratos de orégano. Em um estudo realizado por Parra et al. (2021), o ácido rosmarínico foi determinado como o composto fenólico predominante nesta espécie (76,01 mg/100 g, base seca), seguido pelos ácidos protocatequínico (61,99 mg/100 g, base seca) e gálico (43,60 mg/100 g, base seca). Também foram identificados compostos como rutina, luteolina, naringenina e apigenina, observando-se o maior teor de luteolina (27,31 mg/100 g, base seca) dentre os flavonoides.

Gonçalves et al. (2017) estudaram extratos metanólicos de orégano e outras três espécies (*Calamintha nepeta* L., *Helichrysum italicum*, *Mentha spicata* L.), onde o orégano apresentou a maior capacidade antioxidante para os métodos de DPPH (IC₅₀ 4,65 µg/mL) e ABTS (1479,56 µmol equivalente Trolox/g extrato). No mesmo estudo, análises cromatográficas identificaram o ácido rosmarínico como marjoritário. Oniga et al. (2018) também determinaram o ácido rosmarínico como o principal constituinte do orégano, assim como os ácidos clorogênico e *p*-coumárico, e os flavonoides rutina, isoquercitrina, quercetina, luteonina e quercitrina.

Jafari Khorsand et al. (2021) demonstraram a diversidade natural em componentes fenólicos de diferentes acessos de orégano cultivados sob as mesmas condições. Análises cromatográficas apontaram o ácido rosmarínico como predominante, com teores variando de

659,6 a 1646,9 mg/100 g (base seca). Outros compostos como a luteolina, o ácido chicórico, cumarina e quercetina também apresentaram concentrações significativas. Variações nos teores de fenólicos e flavonoides totais também foram observadas nos diferentes acessos e subespécies avaliadas apresentando os seguintes valores: de 20,3 a 35,3 mg/EAG g (base seca) para fenólicos totais e de 7,7 a 22,2 mg EQ/g (base seca) para flavonoides totais.

A literatura reporta a presença de inúmeros compostos bioativos, bem como a capacidade antioxidante de ervas aromáticas culinárias como as abordadas acima. A presença de óxidos de colesterol em ovos e alimentos contendo ovos sugere algumas questões sobre a segurança potencial na ingestão dos mesmos. Desta forma, a utilização de ervas apresenta uma alternativa no sentido de minimizar a formação de compostos oxidados. Assim, avaliar o efeito protetor decorrente do emprego de ervas tradicionais em alimentos comumente consumidos como ovos na oxidação lipídica, demonstrou ser uma forma viável de contribuir para o seu consumo seguro.

REFERÊNCIAS

- ABDALLA, Abdalla M.; OCHI, Erneo B. Effect of Laying Hen's Age and Oviposition Time on Egg Cholesterol Content. **Science Letters**, v. 6, n. 1, p. 42-46, 2018.
- ABPA. 2022. Associação Brasileira de Proteínas Animais. **Relatório Anual 2022**. Disponível em: < <https://abpa-br.org/mercados/>>. Acesso em: 23 maio 2022.
- ABRAMOVIC, Helena et al. Antioxidative and antibacterial properties of organically grown thyme (*Thymus* sp.) and basil (*Ocimum basilicum* L.). **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v. 42, n. 3, p. 185-194, 2018.
- ADMASU, Shimelis. Application of Antioxidants in Food Processing Industry: Options to Improve the Extraction Yields and Market Value of Natural Products. **Advances in Food Technology and Nutritional Sciences**, v. 5, n. 2, p. 38-49, 2019.
- AGUILAR-BALLESTER, María et al. Impact of cholesterol metabolism in immune cell function and atherosclerosis. **Nutrients**, v. 12, n. 7, p. 2021, 2020.
- AHMED, Adel F. et al. Antioxidant activity and total phenolic content of essential oils and extracts of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) plants. **Food Science and Human Wellness**, 2019.
- AL JAOUNI, Soad et al. Elevated CO₂ induces a global metabolic change in basil (*Ocimum basilicum* L.) and peppermint (*Mentha piperita* L.) and improves their biological activity. **Journal of Plant Physiology**, v. 224, p. 121-131, 2018.
- ALVES, Mayk. Salsa é erva versátil que pode ser utilizada de diversas formas. **Agro2.0**. 2019. Disponível em: < <https://agro20.com.br/salsa/>>. Acesso em: 27 maio 2022.
- ANDERSON, Amelia et al. 7-Ketocholesterol in disease and aging. **Redox Biology**, v. 29, p. 101380, 2020.
- ANDREI, Sanda et al. Bioactive Compounds and Antioxidant Activity in Some Fresh and Canned Aromatic Herbs. **Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Food Science and Technology**, v. 75, n. 2, p. 180-188, 2018.
- ATTIA, Youssef A. et al. Fatty acid and cholesterol profiles and hypocholesterolemic, atherogenic, and thrombogenic indices of table eggs in the retail market. **Lipids in Health and Disease**, v. 14, n. 1, p. 136, 2015.
- BARDEN, Leann; DECKER, Eric A. Lipid oxidation in low-moisture food: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, n. 15, p. 2467-2482, 2016.

BARRIUSO, Blanca; ANSORENA, Diana; ASTIASARÁN, Iciar. Oxysterols formation: a review of a multifactorial process. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 169, p. 39-45, 2017.

BATKOWSKA, Justyna et al. Fatty acids profile, cholesterol level and quality of table eggs from hens fed with the addition of linseed and soybean oil. **Food Chemistry**, v. 334, p. 127612, 2021.

BIASI, Fiorella et al. Role of 27-hydroxycholesterol and its metabolism in cancer progression: Human studies. **Biochemical Pharmacology**, p. 114618, 2021.

BORA, Larisa et al. An Up-To-Date Review Regarding Cutaneous Benefits of *Origanum vulgare* L. Essential Oil. **Antibiotics**, v. 11, n. 5, p. 549, 2022.

BRAHMI, Fatiha et al. Prevention of 7-ketocholesterol-induced side effects by natural compounds. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1-20, 2018.

BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Decreto 10.468 de 18 de agosto de 2020. Disponível em: <<http://site.sindicarnes-sp.org.br/wp2/wp-content/uploads/2020/09/RIISPOA-Decreto1046820-AtualizacaoDecreto901317.pdf>>. Acesso em: 05 jun 2022.

CHAUHAN, E. S.; AISHWARYA, J. Nutraceuticals Potential of *Petroselinum Crispum*: A Review. **Stress**, v. 20, n. 25, p. 26, 2018.

CHOI, Chloe; FINLAY, David K. Diverse immunoregulatory roles of oxysterols—the oxidized cholesterol metabolites. **Metabolites**, v. 10, n. 10, p. 384, 2020.

CORRÊA FILHO, Luiz Carlos et al. Microbiological quality and essential oil of parsley (*Petroselinum crispum*) submitted to the hygienizing and drying process. **Industrial Crops and Products**, v. 114, p. 180-184, 2018.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4ª Edição. Artmed, 2010.

DE CARVALHO, Isabella Oliveira Alves Moreira et al. The use of lemon juice and its role on polyunsaturated fatty acids and cholesterol oxides formation in thermally prepared sardines. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 104, p. 104087, 2021.

DE OLIVEIRA, Vanessa Sales et al. Use of natural antioxidants in the inhibition of cholesterol oxidation: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 6, p. 1465-1483, 2018.

DE OLIVEIRA, Ana Paula. 2021. Salsinha: o tempero verde que faz bem para o corpo e a mente. **Zelas Saúde**. 2021. Disponível em: <<https://saude.zelas.com.br/artigos/salsinha>>. Acesso em: 15 maio 2022.

DHAMA, Kuldeep et al. A Comprehensive review on chemical profile and pharmacological activities of *Ocimum basilicum*. **Food Reviews International**, p. 1-29, 2021.

DIAS, Irundika HK et al. Simvastatin reduces circulating oxysterol levels in men with hypercholesterolaemia. **Redox Biology**, v. 16, p. 139-145, 2018.

DOBRIČEVIĆ, Nadica et al. Bioactive compounds content and nutritional potential of different parsley parts (*Petroselinum crispum* Mill.). **Journal of Central European Agriculture**, v. 20, n. 3, p. 900-910, 2019.

DONG, Qianqian et al. 25-Hydroxycholesterol promotes vascular calcification via activation of endoplasmic reticulum stress. **European Journal of Pharmacology**, v. 880, p. 173165, 2020.

EL-ZAEDDI, Hussein et al. Irrigation dose and plant density affect the essential oil content and sensory quality of parsley (*Petroselinum sativum*). **Scientia Horticulturae**, v. 206, p. 1-6, 2016.

EMBUSCADO, Milda E. Bioactives from culinary spices and herbs: a

review. **Journal of Food Bioactives**, v. 6, 2019.

FAO. 2021. World Food and Agriculture - Statistical Yearbook. Rome.– Database. Disponível em: < <https://www.fao.org/documents/card/en/c/cb4477en/>>. Acesso em: 23 jun 2022.

FARZAEI, Mohammad Hosein et al. Parsley: a review of ethnopharmacology, phytochemistry and biological activities. **Journal of Traditional Chinese Medicine**, v. 33, n. 6, p. 815-826, 2013.

FAVORITO, P. A. et al. Características produtivas do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) em função do espaçamento entre plantas e entre linhas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, p. 582-586, 2011.

FERNANDES, Rafaella de Paula Paseto; TRINDADE, Marco A.; DE MELO, Mariza P. Natural antioxidants and food applications: healthy perspectives. In: **Alternative and Replacement Foods**. Academic Press, 2018. p. 31-64.

FERREIRA, Fernanda S. et al. Impact of air frying on cholesterol and fatty acids oxidation in sardines: Protective effects of aromatic herbs. **Journal of Food Science**, v. 82, n. 12, p. 2823-2831, 2017.

FERREIRA, Fernanda Silva et al. Bioactive compounds of parsley (*Petroselinum crispum*), chives (*Allium schoenoprasum* L) and their mixture (Brazilian cheiro-verde) as promising antioxidant and anti-cholesterol oxidation agents in a food system. **Food Research International**, v. 151, p. 110864, 2022.

FIKRY, Sahar; KHALIL, Noha; SALAMA, Osama. Chemical profiling, biostatic and biocidal dynamics of *Origanum vulgare* L. essential oil. **AMB Express**, v. 9, n. 1, p. 41, 2019.

GARCIA-LLATAS, Guadalupe et al. Oxysterols—how much do we know about food occurrence, dietary intake and absorption?. **Current Opinion in Food Science**, v. 41, p. 231-239, 2021.

GAVAHIAN, Mohsen et al. A critical analysis of the cold plasma induced lipid oxidation in foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 77, p. 32-41, 2018.

GONÇALVES, Sandra et al. Phenolic profile, antioxidant activity and enzyme inhibitory activities of extracts from aromatic plants used in Mediterranean diet. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 1, p. 219-227, 2017.

GORDON, M. H. Factors affecting lipid oxidation. In: **Understanding and measuring the shelf-life of food**. R. Steel, Ed. CRC Press, Boca Raton, 2004.

HAHN, Joshua et al. Egg consumption and risk of cardiovascular disease: A critical review. **Current Emergency and Hospital Medicine Reports**, v. 9, n. 2, p. 25-37, 2021.

HEREDIA, Z. et al. Produção e renda bruta de cebolinha e de salsa em cultivo solteiro e consorciado. **Horticultura Brasileira**, 2003.

HUR, Sun-Jin; PARK, G. B.; JOO, S. T. Formation of cholesterol oxidation products (COPs) in animal products. **Food Control**, v. 18, n. 8, p. 939-947, 2007.

IAIA, Noemi et al. Efficacy of theobromine in preventing intestinal CaCo-2 cell damage induced by oxysterols. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 694, p. 108591, 2020.

IBRAHIM, Rasha YM; MANSOUR, Suzan M.; ELKADY, Wafaa M. Phytochemical profile and protective effect of *Ocimum basilicum* aqueous extract in doxorubicin/irradiation-induced testicular injury. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 72, n. 1, p. 101-110, 2020.

ISLAM, Ziaul et al. Impact of varying housing systems on egg quality characteristics, fatty acid profile, and cholesterol content of Rhode Island Red× Fyoumi laying hens. **Tropical Animal Health and Production**, v. 53, n. 5, p. 1-7, 2021.

INNOSA, Denise et al. High temperature and heating effect on the oxidative stability of dietary cholesterol in different real food systems arising from eggs. **European Food Research and Technology**, p. 1-6, 2019.

IQUBAL, SM Shakeel. Determination of phytochemical properties and antimicrobial activities of *Oregano vulgare* against MRSA. **Asian Journal of Pharmaceutics (AJP): Free full text articles from Asian J Pharm**, v. 14, n. 03, 2020.

JAFARI KHORSAND, Ghazaleh et al. Natural diversity in phenolic components and antioxidant properties of oregano (*Origanum vulgare* L.) accessions, grown under the same conditions. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 1-9, 2022.

JIANG, T. Alan. Health benefits of culinary herbs and spices. **Journal of AOAC International**, v. 102, n. 2, p. 395-411, 2019.

KAČÁNIOVÁ, Miroslava et al. Assessment of *Ocimum basilicum* Essential Oil Anti-Insect Activity and Antimicrobial Protection in Fruit and Vegetable Quality. **Plants**, v. 11, n. 8, p. 1030, 2022.

KAMEMURA, Norio. Butylated hydroxytoluene, a food additive, modulates membrane potential and increases the susceptibility of rat thymocytes to oxidative stress. **Computational Toxicology**, v. 6, p. 32-38, 2018.

KHAN, Nida Tabassum. Pharmacological Importance of Sage and Oregano. **Journal of Advanced Pharmaceutical Science And Technology**, v. 2, n. 2, p. 13-17, 2020.

KIM, S. K.; NAWAR, W. W. Parameters influencing cholesterol oxidation. **Lipids**, v. 28, n. 10, p. 917-922, 1993.

KIM, Hyunju; REBHOLZ, Casey M. Metabolomic biomarkers of healthy dietary patterns and cardiovascular outcomes. **Current Atherosclerosis Reports**, v. 23, n. 6, p. 1-12, 2021.

KINTZIOS, S. E. **Oregano: the genera *Origanum* and *Lippia***. CRC press, New York, 2002

KLOUDOVA-SPALENKOVA, Alzbeta; HOLY, Petr; SOUCEK, Pavel. Oxysterols in cancer management: From therapy to biomarkers. **British Journal of Pharmacology**, v. 178, n. 16, p. 3235-3247, 2021.

KULIG, Waldemar et al. Cholesterol oxidation products and their biological importance. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 199, p. 144-160, 2016.

KUMAR, Yogesh et al. Recent trends in the use of natural antioxidants for meat and meat products. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, n. 6, p. 796-812, 2015.

KUMAR, Manish et al. Plants as a source of potential antioxidants and their effective nanoformulations. **Journal of Scientific Research**, v. 65, 2021.

LAGUERRE, Mickaël; LECOMTE, Jérôme; VILLENEUVE, Pierre. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. **Progress in Lipid Research**, v. 46, n. 5, p. 244-282, 2007.

LAMAS, A. et al. Technological strategies for the development of egg-derived products with reduced content of cholesterol. **Food and Bioprocess Technology**, v. 9, n. 1, p. 81-90, 2016.

LESNIEROWSKI, Grzegorz; STANGIERSKI, Jerzy. What's new in chicken egg research and technology for human health promotion?-A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 71, p. 46-51, 2018.

LI, Junhua et al. Hen egg yolk in food industry-A review of emerging functional modifications and applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 115, p. 12-21, 2021.

LIBERAL, Ângela et al. Bioactive properties and phenolic compound profiles of

turnip-rooted, plain-leafed and curly-leafed parsley cultivars. **Molecules**, v. 25, n. 23, p. 5606, 2020.

LIU, Yan et al. Dietary cholesterol oxidation products: Perspectives linking food processing and storage with health implications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 21, n. 1, p. 738-779, 2022.

LÓPEZ-MARTÍNEZ, Manuel I.; MORENO-FERNÁNDEZ, Silvia; MIGUEL, Marta. Development of functional ice cream with egg white hydrolysates. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 25, p. 100334, 2021.

MA, Zhili et al. Daily intake of up to two eggs for 11 weeks does not affect the cholesterol balance of Chinese young adults. **Food Science & Nutrition**, 2022.

MAHALAKSHMI, K. et al. Influential role of 7-Ketocholesterol in the progression of Alzheimer's disease. **Prostaglandins & Other Lipid Mediators**, v. 156, p. 106582, 2021.

MALAGUTI, Marco et al. Nutraceuticals and physical activity: Their role on oxysterols-mediated neurodegeneration. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 193, p. 105430, 2019.

MANARINI, Thaís. O ovo esta bombando!. **Veja Saúde**. 2021. Disponível em: <<https://saude.abril.com.br/alimentacao/o-ovo-esta-bombando/>>. Acesso em: 23 maio 2022.

MARVENTANO, Stefano et al. Egg consumption and human health: an umbrella review of observational studies. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 71, n. 3, p. 325-331, 2020.

MAZALLI, Monica Roberta; BRAGAGNOLO, Neura. Increase of cholesterol oxidation and decrease of PUFA as a result of thermal processing and storage in eggs enriched with n-3 fatty acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 11, p. 5028-5034, 2009.

MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. **Componentes principais dos alimentos: Lipídeos**. In: DAMODARAM, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. *Química de Alimentos de Fennema*, 4 ed. Porto Alegre: Artmed, p. 131-900, 2010.

MCCOMB, Mason et al. The cholesterol autoxidation products, 7-ketocholesterol and 7 β -hydroxycholesterol are associated with serum neurofilaments in multiple sclerosis. **Multiple Sclerosis and Related Disorders**, v. 50, p. 102864, 2021.

MEDINA-MEZA, Ilce Gabriela; BARNABA, Carlo. Kinetics of cholesterol oxidation in model systems and foods: current status. **Food Engineering Reviews**, v. 5, n. 3, p. 171-184, 2013.

MELO, Jair et al. Nutritional quality and functional lipids in the free-range egg yolks of Brazilian family farmers. **Revista Chilena de Nutrição**, p. 420-428, 2019.

MIN, Joong-Seok et al. Impact of cooking, storage, and reheating conditions on the formation of cholesterol oxidation products in pork loin. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, v. 36, n. 1, p. 23, 2016.

MITTERER-DALTOÉ, Marina et al. Consumer awareness of food antioxidants. Synthetic vs. Natural. **Food Science and Technology**, v. 41, p. 208-212, 2020.

MORZYCKI, Jacek W. Recent advances in cholesterol chemistry. **Steroids**, v. 83, p. 62-79, 2014.

MROWICKA, Małgorzata et al. Lutein and Zeaxanthin and Their Roles in Age-Related Macular Degeneration—Neurodegenerative Disease. **Nutrients**, v. 14, n. 4, p. 827, 2022.

NI, Zhi-Jing et al. Recent updates on the chemistry, bioactivities, mode of action, and industrial applications of plant essential oils. **Trends in Food Science & Technology**, v. 110, p. 78-89, 2021.

NUNES, Márcia Ximenes.

O orégano tempera nossas comidas e serve

comomedicamento para nossa saúde. **Agro Floresta Amazônica**. 2021. Disponível em: < <https://agroflorestamazonia.com/noticias-recentes/o-oregano-tempera-nossas-comidas-e-serve-como-medicamento-para-nossa-saude/>>. Acesso em: 13 maio 2022.

NURY, Thomas et al. 7-Ketocholesterol is increased in the plasma of X-ALD patients and induces peroxisomal modifications in microglial cells: Potential roles of 7-ketocholesterol in the pathophysiology of X-ALD. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 169, p. 123-136, 2017.

NURY, Thomas et al. Induction of peroxisomal changes in oligodendrocytes treated with 7-ketocholesterol: Attenuation by α -tocopherol. **Biochimie**, v. 153, p. 181-202, 2018.

NURY, Thomas et al. Oxiaoptophagy: A type of cell death induced by some oxysterols. **British Journal of Pharmacology**, v. 178, n. 16, p. 3115-3123, 2021.

OLEYNIKOV, Vladislav V. Antioxidant and antimicrobial properties of oregano extract (*Origanum vulgare* herba L.). **Foods and Raw Materials**, v. 8, n. 1, p. 84-90, 2020.

ONIGA, Iliora et al. *Origanum vulgare* ssp. vulgare: Chemical composition and biological studies. **Molecules**, v. 23, n. 8, p. 2077, 2018.

OROIAN, Mircea; ESCRICHE, Isabel. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. **Food Research International**, v. 74, p. 10-36, 2015.

PARK, Sunwoo et al. Butylated hydroxyanisole exerts neurotoxic effects by promoting cytosolic calcium accumulation and endoplasmic reticulum stress in astrocytes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 34, p. 9618-9629, 2019.

PARRA, Claudio et al. UHPLC-DAD Characterization of *Origanum vulgare* L. from Atacama Desert Andean Region and Antioxidant, Antibacterial and Enzyme Inhibition Activities. **Molecules**, v. 26, n. 7, p. 2100, 2021.

PEREIRA, R.; MOREIRA, A. L. M. Manjerição: cultivo e utilização. **Embrapa Agroindústria Tropical-Documentos (INFOTECA-E)**, p. 11, 2011.

PRINSI, Bhakti et al. Insight into composition of bioactive phenolic compounds in leaves and flowers of green and purple basil. **Plants**, v. 9, n. 1, p. 22, 2019.

PROZ, Mariel de los Ángeles et al. Effects of indoor, greenhouse, and field cultivation on bioactive compounds from parsley and basil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 101, n. 15, p. 6320-6330, 2021.

PURUSHOTHAMAN, Balakrishnan et al. A comprehensive review on *Ocimum basilicum*. **Journal of Natural Remedies**, v. 18, n. 3, p. 71-85, 2018.

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

RÉHAULT-GODBERT, Sophie; GUYOT, Nicolas; NYS, Yves. The golden egg: nutritional value, bioactivities, and emerging benefits for human health. **Nutrients**, v. 11, n. 3, p. 684, 2019.

REINMUTH, Lisa et al. Multiple targets for oxysterols in their regulation of the immune system. **Cells**, v. 10, n. 8, p. 2078, 2021.

REN, Yuan et al. Oxidative stability of omega-3 polyunsaturated fatty acids enriched eggs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 47, p. 11595-11602, 2013.

ROCHA, Itallo. Manjerição: quais os benefícios e como consumir. **Diário do Nordeste**. 2021. Disponível em: < <https://diariodonordeste.verdesmares.com.br/ser-saude/manjericao-quais-sao-os-beneficios-e-como-consumir-1.3170129>>. Acesso em: 13 maio 2022.

RUBAB, Saima et al. Phytochemical and antimicrobial investigation of methanolic extract/fraction of *Ocimum basilicum* L. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 31, p. 101894, 2021.

RUHLMAN, Michael. **Egg: a culinary exploration of the world's most versatile**

ingredient. Little, Brown, 2014.

SALEH, Ahmed M. et al. CO₂ enrichment can enhance the nutritional and health benefits of parsley (*Petroselinum crispum* L.) and dill (*Anethum graveolens* L.). **Food Chemistry**, v. 269, p. 519-526, 2018.

SANLIER, Nevin; ÜSTÜN, Dilara. Egg consumption and health effects: A narrative review. **Journal of Food Science**, v. 86, n. 10, p. 4250-4261, 2021.

SASS, Carla Araujo Brito et al. Exploring social media data to understand consumers' perception of eggs: A multilingual study using Twitter. **Journal of Sensory Studies**, v. 35, n. 6, p. e12607, 2020.

SHAHIDI, Fereidoon; AMBIGAIPALAN, Priyatharini. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 820-897, 2015.

SHAHRAJABIAN, Mohamad Hesam; SUN, Wenli; CHENG, Qi. Chemical components and pharmacological benefits of Basil (*Ocimum basilicum*): a review. **International Journal of Food Properties**, v. 23, n. 1, p. 1961-1970, 2020.

SHARIFI-RAD, Javad et al. Antimicrobial, Antioxidant and Other Pharmacological Activities of *Ocimum* Species: Potential to Be Used as Food Preservatives and Functional Ingredients. **Food Reviews International**, p. 1-31, 2021.

SILVA, Livia Beatriz Aparecida Ribeiro et al. Bioactive food compounds, epigenetics and chronic disease prevention: Focus on early-life interventions with polyphenols. **Food Research International**, v. 125, p. 108646, 2019.

SLIMESTAD, Rune; FOSSEN, Torgils; BREDE, Cato. Flavonoids and other phenolics in herbs commonly used in Norwegian commercial kitchens. **Food Chemistry**, v. 309, p. 125678, 2020.

SMITH, Leland L. Cholesterol autoxidation 1981–1986. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 44, n. 2-4, p. 87-125, 1987.

SOUZA, Vivian. De onde vem o que eu como: pequenos agricultores dominam a produção de temperos no Brasil. **G1**. 2021. Disponível em: <<https://g1.globo.com/economia/agronegocios/agro-a-industria-riqueza-do-brasil/noticia/2021/05/03/de-onde-vem-o-que-eu-como-pequenos-agricultores-dominam-a-producao-de-temperos-no-brasil.ghtml>>. Acesso em: 13 maio 2022.

STAGNARI, Fabio et al. Light quantity and quality supplies sharply affect growth, morphological, physiological and quality traits of basil. **Industrial Crops and Products**, n. 122, p. 277-289, 2018.

STAURENGHI, Erica et al. Oxysterols present in Alzheimer's disease brain induce synaptotoxicity by activating astrocytes: A major role for lipocalin-2. **Redox Biology**, v. 39, p. 101837, 2021.

SUN, Hongy et al. Effects of increasing concentrations of corn distiller's dried grains with solubles on chemical composition and nutrients content of egg. **Animal Industry Report**, v. 661, n. 1, p. 52, 2015.

SUN, Zhifang et al. Exposure to butylated hydroxytoluene compromises endometrial decidualization during early pregnancy. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 31, p. 42024-42036, 2021.

SUNDARARAJAN, Balasubramani et al. Formulation of nanoemulsion from leaves essential oil of *Ocimum basilicum* L. and its antibacterial, antioxidant and larvicidal activities (*Culex quinquefasciatus*). **Microbial Pathogenesis**, v. 125, p. 475-485, 2018.

TAI, C.-Y.; CHEN, Y. C.; CHEN, B. H. Analysis, formation and inhibition of cholesterol oxidation products in foods: An overview (Part I). **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 7, n. 4, 1999.

TEOFILOVIĆ, Branislava et al. Analysis of functional ingredients and composition of *Ocimum basilicum*. **South African Journal of Botany**, v. 141, p. 227-234, 2021.

VALENZUELA, B. et al. Nikolai Anichkov and one hundred years of the hypothesis about cholesterol and atherogenesis Nikolai Anichkov y los cien años de la hipótesis sobre el colesterol y la aterogénesis. **Revista Chilena de Nutrición**, v. 43, n. 4, p. 416-419, 2016.

VEENSTRA, Jacob P.; JOHNSON, Jeremy J. Oregano (*Origanum vulgare*) extract for food preservation and improvement in gastrointestinal health. **International Journal of Nutrition**, v. 3, n. 4, p. 43, 2019.

VEJUX, Anne et al. Oxysterols and multiple sclerosis: Physiopathology, evolutive biomarkers and therapeutic strategy. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 210, p. 105870, 2021.

VERARDO, Vito et al. Effect of different egg products on lipid oxidation of biscuits. **Foods**, v. 9, n. 11, p. 1714, 2020.

VERMA, Deepak Kumar; THAKUR, Mamta (Ed.). **Phytochemicals in food and health: Perspectives for research and technological development**. CRC Press, 2021.

VICENTE, Silvio JV et al. Oxidation of cholesterol in foods and its importance for human health. **Food Reviews International**, v. 28, n. 1, p. 47-70, 2012.

WANG, Xiaofei et al. Mutagenicity of 7-ketocholesterol in CHO cells: The role of lipid peroxidation. **Toxicology**, v. 446, p. 152587, 2020.

WANG, Haibo et al. 7-ketocholesterol induces endothelial-mesenchymal transition and promotes fibrosis: Implications in neovascular age-related macular degeneration and treatment. **Angiogenesis**, v. 24, n. 3, p. 583-595, 2021a.

WANG, Wanyi et al. Analysis, occurrence, toxicity and environmental health risks of synthetic phenolic antioxidants: A review. **Environmental Research**, v. 201, p. 111531, 2021b.

WANG, Tao et al. High cholesterol and 27-hydroxycholesterol contribute to phosphorylation of tau protein by impairing autophagy causing learning and memory impairment in C57BL/6J mice. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, p. 109016, 2022.

WATANABE, Yasuhiro et al. 7-Ketocholesterol induces ROS-mediated mRNA expression of 12-lipoxygenase, cyclooxygenase-2 and pro-inflammatory cytokines in human mesangial cells: Potential role in diabetic nephropathy. **Prostaglandins & Other Lipid Mediators**, v. 134, p. 16-23, 2018.

XIAO, Nanhai et al. Biological activities of egg yolk lipids: A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 7, p. 1948-1957, 2020.

XU, Xiaoqing et al. Synthetic phenolic antioxidants: Metabolism, hazards and mechanism of action. **Food Chemistry**, v. 353, p. 129488, 2021.

YOU, Jae-Seek et al. 25-Hydroxycholesterol-Induced Oxidative Stress in L929 Mouse Fibroblast Cell Line. **Molecules**, v. 27, n. 1, p. 199, 2021.

ZARDETTO, Stefano; BARBANTI, Davide; DALLA ROSA, Marco. Formation of cholesterol oxidation products (COPs) and loss of cholesterol in fresh egg pasta as a function of thermal treatment processing. **Food Research International**, v. 62, p. 177-182, 2014.

ZENGIN, Gokhan et al. UHPLC-LTQ OrbiTrap MS analysis and biological properties of *Origanum vulgare* subsp. *viridulum* obtained by different extraction methods. **Industrial Crops and Products**, v. 154, p. 112747, 2020.

ZITA, Lukáš et al. Changes in Fatty Acids Profile, Health Indices, and Physical Characteristics of Organic Eggs from Laying Hens at the Beginning of the First and Second Laying Cycles. **Animals**, v. 12, n. 1, p. 125, 2022.

ZMYSŁOWSKI, Adam; SZTERK, Arkadiusz. Oxysterols as a biomarker in diseases. **Clinica Chimica Acta**, v. 491, p. 103-113, 2019.

CAPÍTULO I

SALSA (*Petroselinum Crispum* Mill.): FONTE DE COMPOSTOS BIOATIVOS COMO ESTRATÉGIA DOMÉSTICA PARA MINIMIZAR A OXIDAÇÃO DO COLESTEROL DURANTE O PREPARO TÉRMICO DE OMELETES

Capítulo referente ao artigo publicado na revista Food Research International (Anexo)

ABSTRACT

This study evaluated the protective effect of parsley (*Petroselinum crispum* Mill.) against lipid and cholesterol oxidation in omelets prepared by air frying, pan frying, and microwaving. The bioactive composition and *in vitro* antioxidant capacity of parsley extract was characterized. Compounds such as phenolic acids and their derivatives (*p*-coumaric acid, *p*-coumaric acid 4-O-hexoside) and flavonoids (apigenin 7-glucoside, quercetin-O-pentosyl-hexoside) were identified in parsley by UHPLC-ESI-MS. Moreover, the presence of these bioactive constituents was investigated in the omelets. Cooking induced lipid oxidation and increased the levels of cholesterol oxidation products (COPs) in control omelets, which was more pronounced after air frying and microwaving. The total content of COPs increased from 40.69 ± 2.26 $\mu\text{g/g}$ (raw) to 821.05 ± 13.77 $\mu\text{g/g}$ (air frying), 805.21 ± 14.50 $\mu\text{g/g}$ (microwaving), and 311.07 ± 13.84 $\mu\text{g/g}$ (pan frying). The addition of parsley proved to be effective reducing COPs formation, mainly in air-fried samples with 0.75% parsley (81.73% of protection). Chromatographic analyses revealed the thermo-degradation of parsley compounds, since only two flavonoids detected in parsley were found in omelets containing the herb after cooking. Nonetheless, these findings indicate the potential application of parsley as a natural inhibitor of cholesterol and lipid oxidation in food systems such as omelets.

Keywords: *Petroselinum crispum* Mill., culinary herb, natural antioxidant, eggs, thermo-oxidation, cholesterol oxides, lipidomic analysis.

RESUMO

Este estudo avaliou o efeito protetor da salsa (*Petroselinum crispum* Mill.) frente à oxidação lipídica e do colesterol em omeletes preparadas em *air fryer*, fogão e micro-ondas. Os compostos bioativos e a capacidade antioxidante *in vitro* do extrato da salsa foram caracterizados. Compostos como ácidos fenólicos e seus derivados (ácido *p*-coumárico, ácido *p*-coumárico 4-O-hexosídeo) e flavonoides (apigenina 7-glicosídeo, quercetina-O-pentosil-hexosídeo) foram identificados na salsa por UHPLC-ESI-MS. Além disso, a presença destes constituintes bioativos foi investigada nas omeletes. O cozimento induziu a oxidação lipídica e aumentou os teores de produtos da oxidação do colesterol (POCs) nas omeletes controle, o que foi mais pronunciado após o tratamento em *air fryer* e micro-ondas. O teor total de POCs aumentou de $40,69 \pm 2,26 \mu\text{g/g}$ (cru) para $821,05 \pm 13,77 \mu\text{g/g}$ (*air fryer*), $805,21 \pm 14,50 \mu\text{g/g}$ (micro-ondas) e $311,07 \pm 13,84 \mu\text{g/g}$ (fogão). A adição da salsa provou ser eficaz na redução da formação de POCs, principalmente nas amostras tratadas em *air fryer* com 0,75% de salsa (81,73% de proteção). Análises cromatográficas revelaram a degradação térmica dos compostos da salsa, visto que apenas dois flavonoides detectados na salsa foram encontrados nas omeletes contendo a erva após a cocção. No entanto, estes resultados indicam a potencial aplicação da salsa como um inibidor natural da oxidação lipídica e do colesterol em sistemas alimentares como omeletes.

Palavras-chave: *Petroselinum crispum* Mill., erva culinária, antioxidante natural, ovos, termo-oxidação, óxidos de colesterol, análise lipidômica.

1 INTRODUÇÃO

Os ovos são alimentos básicos amplamente difundidos na dieta humana e de elevado valor nutricional, apresentando diversas atividades biológicas como a atividade antimicrobiana, antioxidante, anti-hipertensiva e anti-inflamatória (RÉHAULT-GODBERT, GUYOT e NYS, 2019; XIAO et al., 2020). Além disso, os ovos são disponíveis para compra a preços baixos, quando comparados com outros alimentos de origem animal, servindo como recursos nutricionais de baixo custo e alta qualidade (RÉHAULT-GODBERT et al., 2019; SASS et al., 2020).

Os ovos são comumente consumidos durante as refeições diárias e como ingredientes de diversas receitas culinárias (RÉHAULT-GODBERT, GUYOT e NYS, 2019; SASS et al., 2020). Ademais, são amplamente utilizados pela indústria na formulação de inúmeros produtos alimentícios devido suas desejáveis propriedades tecnológicas (AFRAZ et al., 2020).

Por outro lado, o consumo de ovos tem sido tema de intensos debates devido aos elevados teores de colesterol deste alimento. No entanto, estudos recentes demonstram que não existem evidências concretas acerca da associação do consumo de ovos e o aumento dos níveis de colesterol no plasma sanguíneo (DROUIN-CHARTIER et al., 2020; MARVENTANO et al., 2020; MA et al., 2022).

A fração lipídica de ovos, a qual contém ácidos graxos insaturados e colesterol, é extremamente susceptível a oxidação quando exposta a luz, temperaturas elevadas e oxigênio. Assim, o preparo térmico de ovos pode comprometer sua qualidade devido à degradação de ácidos graxos e a formação de compostos oxidados deletérios à saúde como os óxidos de colesterol (REN et al., 2013; INNOSA et al., 2019; VERARDO et al., 2020).

Estudos anteriores envolvendo alimentos que contêm ovos e ovos processados reportam a presença de produtos da oxidação do colesterol (POCs) (INNOSA et al., 2019; VERARDO et al., 2020; CHUDY e TEICHERT, 2021), cujo consumo tem apresentado correlação com processos patológicos, incluindo inflamações, carcinogênese, morte celular, neurodegeneração e aterosclerose (KLOUDOVA-SPALENKOVA et al., 2020; LIU et al., 2021; NURY et al., 2021). Assim, devido aos efeitos do consumo de POCs à saúde humana, é importante considerar estratégias que visem minimizar a formação destes compostos durante o preparo de alimentos, especialmente as estratégias com base no emprego de antioxidantes naturais.

A salsa (*Petroselinum crispum* Mill.) é uma das principais ervas usadas para atribuir cor, sabor e aroma aos alimentos na culinária. No entanto, esta erva também tem chamado à atenção de pesquisadores devido ao seu valor nutricional e potencial como agente promovedor de saúde. Tais atributos são associados à presença de compostos bioativos como os polifenóis, que incluem ácidos fenólicos, flavonas, biflavonoides, entre outros (SEÇZYK et al., 2016; FRATTANI et al., 2021; FERREIRA et al., 2022).

O consumo de polifenóis tem sido relacionado à redução dos riscos de desenvolvimento de doenças cardiovasculares e de mortalidade (SHARIFI-RAD et al., 2020; PONTIFEX et al., 2021). As propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes dos compostos polifenólicos mediam o papel destes na saúde cerebral e intestinal (ARAVIND et al., 2021; PONTIFEX et al., 2021). Além disso, considerando seu potencial antioxidante, a adição da salsa em preparações alimentícias pode reforçar o sistema antioxidante endógeno humano por meio da dieta minimizando os danos decorrentes do estresse oxidativo no organismo, assim como proteger os constituintes lipídicos dos alimentos da oxidação (FERREIRA et al., 2017, 2022).

Os ovos são alimentos extremamente versáteis, mas que são frequentemente preparados na forma de ovos mexidos, popularmente conhecidos como omeletes. As omeletes

são consumidas no mundo inteiro mediante diferentes métodos de preparo térmico. Entretanto, não existem estudos na literatura acerca da formação de POCs em omeletes. Desta forma, visto que a salsa tem demonstrado um potencial antioxidante promissor, este estudo avaliou sua eficácia em inibir a oxidação do colesterol em omeletes preparadas em *air fryer*, fogão e micro-ondas.

O extrato da salsa foi caracterizado quanto à composição bioativa e a capacidade antioxidante. Em seguida, a salsa foi adicionada a omeletes em diferentes níveis (0,25, 0,5 e 0,75%). A salsa e as omeletes também foram analisadas por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (UHPLC-ESI-MS) a fim de identificar os compostos bioativos da erva presentes nas omeletes e que poderiam apresentar propriedades antioxidantes, contribuindo assim para o efeito protetor da mesma.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Reagentes, solventes e padrões

Os reagentes utilizados no experimento foram: tricloreto de alumínio, quercetina, ácido gálico, 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico (Trolox), 2,2-difenil-1-picril-hidraliza (DPPH), reagente de Folin–Ciocalteu, ácido linoleico, β -caroteno, Tween-40, butilidroxitolueno (BHT) e metóxido de sódio (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA); fluoresceína e 2,2'-azo-bis(2-amidinopropano) diidrocloreto (AAPH) (Merck, Darmstadt, Alemanha). Todos os outros reagentes usados foram obtidos da Vetec (São Paulo, Brasil). Para as análises cromatográficas foram utilizados os seguintes solventes de grau cromatográfico: ácido fórmico (Synth, São Paulo, Brasil), hexano (Scharlau, Barcelona, Espanha), acetonitrila (Merck, Darmstadt, Alemanha) e 2-propanol (St. Louis, MO, USA). O éster metílico do ácido undecanóico foi adquirido da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) e o FAME mix de ácidos graxos da Supelco (Supelco TM FAME Mix 18919, Bellefonte, PA, USA). Os padrões de colesterol e dos óxidos de colesterol (20 α -hidroxicolesterol, 25-hidroxicolesterol, 7-cetocolesterol, 7 α -hidroxicolesterol, 7 β -hidroxicolesterol, 5,6 α -epoxicolesterol e 5,6 β -epoxicolesterol) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

2.2 Análises da salsa (*Petroselinum crispum* Mill.)

2.2.1 Material vegetal

A salsa orgânica (*Petroselinum crispum* Mill. var. *neapolitanum*) foi doada por um produtor local da cidade de Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil (latitude 22°76'19.31"S; longitude 43°67'16.99"W). As amostras frescas, aproximadamente 1 kg, foram coletadas em setembro de 2020. Foram preparadas exsiccatas do material vegetal para o registro e tombamento no Herbário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, onde o comprovante do espécime (RBR 37741) foi depositado. As folhas da salsa foram selecionadas, lavadas em água corrente, cortadas, embaladas em sacos de polietileno com baixa permeabilidade ao oxigênio e armazenadas a 4 °C.

2.2.2 Preparo do extrato

O extrato utilizado para a determinação dos teores totais de compostos fenólicos e flavonoides e para as análises de capacidade antioxidante *in vitro* (DPPH, ORAC e sistema β -caroteno/ácido linoleico) foi preparado de acordo com os seguintes procedimentos. As folhas maceradas da salsa fresca, aproximadamente 2 g, foram homogeneizadas com 40 mL de solução etanol/água (80:20 % v/v) durante 30 minutos. Em seguida, a mistura foi sonificada por 20 minutos em ultrassom com frequência de 40 kHz (Elmasonic P, Elma Schmidbauer GmbH, Singen, Alemanha) e posteriormente centrifugada (NI 1813, Nova Instruments, São Paulo, Brasil) a 18,000 x g por 10 minutos. O sobrenadante foi coletado, transferido para um frasco âmbar volumétrico (50 mL) e o extrato foi avolumado com a solução etanol/água. O preparo do extrato foi realizado a temperatura ambiente e na ausência de luz.

2.2.3 Determinação do teor total de compostos fenólicos

Os fenólicos totais foram determinados utilizando o reagente de Folin–Ciocalteu, de acordo com Swain e Hillis (1959), com modificações. Em tubos, foram adicionados 10 mL de água destilada e 1 mL do extrato. Em seguida, adicionou-se o reagente de Folin–Ciocalteu (1 mL), deixando reagir por 3 minutos, com posterior adição de 1,5 mL da solução de carbonato de sódio (10 % m/v). Após homogeneização, a mistura permaneceu em repouso por 2 horas a temperatura ambiente e ausência de luz. Em seguida, a absorbância foi mensurada a 725 nm em espectrofotômetro (WUv-m51, Weblabor, São Paulo, Brasil). A curva de calibração foi preparada utilizando-se o ácido gálico como padrão em concentrações de 5 a 40 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0,9989$), e os resultados foram expressos em mg de equivalente ácido gálico equivalente (EAG)/g de amostra.

2.2.4 Determinação do teor total de flavonoides

O conteúdo de flavonoides totais foi determinado através do método colorimétrico descrito por Scapin et al. (2016). Uma alíquota de 250 μL do extrato foi misturada com 1250 μL de água destilada e 75 μL de solução de nitrito de sódio (5%). Após 5 minutos, uma alíquota de 150 μL de solução de tricloreto de alumínio a 10% foi adicionada, deixando-se a mistura descansar por mais 5 minutos e seguindo com a adição de 500 μL de solução de hidróxido de sódio (1 M) e 775 μL de água destilada. A mistura foi homogeneizada e a absorbância medida em espectrofotômetro (WUv-m51, Weblabor, São Paulo, Brasil) a 510 nm. O conteúdo total de flavonoides foi determinado utilizando-se uma curva padrão de quercetina com concentrações variando de 0 a 4×10^{-4} g/mL ($r=0,9901$). Os resultados foram expressos em mg equivalente quercetina (EQ)/g de amostra.

2.2.5 Capacidade antioxidante *in vitro*

2.2.5.1 DPPH

A atividade antioxidante foi determinada utilizando-se o radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) como descrito por Rufino et al. (2010). Uma solução metanólica contendo 0,06 mM DPPH foi preparada. Em seguida, uma alíquota de 100 µL do extrato foi adicionada a 3,9 mL da solução de DPPH. A mistura foi homogeneizada e deixada em repouso à temperatura ambiente e ausência de luz. Após 60 minutos, a absorbância foi medida em espectrofotômetro (WUV-m51, Weblabor, São Paulo, Brasil) a 517 nm. O percentual de inibição (%I) foi calculado da seguinte forma: $\%I = (A_0 - A) / A_0 \times 100$, onde A_0 é a absorbância do controle (sem extrato) e A é a absorbância medida com a amostra.

2.2.5.2 ORAC (Oxygen radical absorbance capacity)

Os procedimentos para a realização do método ORAC foram conduzidos de acordo com o método reportado por Ou, Hampsch-Woodill e Prior (2001) com modificações, utilizando um leitor de microplacas (SpectraMax M5, Molecular Devices, CA, USA). Amostras diluídas em tampão fosfato monossódico 75 mM (50 µL) foram incubadas a 37 °C com 150 µL de fluoresceína (93 mM). Após 15 minutos, 50 µL de AAPH (2,2'-azo-bis(2-amidinopropano)diidrocloreto, 221 mM) foram adicionados ao meio reacional. Durante o período de 1 hora, a queda de fluorescência foi mensurada a 37 °C ($\lambda_{excitação} = 493$ nm, $\lambda_{emissão} = 515$ nm), a cada minuto. Os resultados foram comparados com a área abaixo da curva do padrão Trolox (20 µM). O tampão fosfato 75 mM (pH 7,4) foi utilizado como branco. A área abaixo da curva (AUC) foi determinada pela equação 1.

$$AUC = 1 + f_1/f_0 + f_2/f_0 + \dots + f_{59}/f_0 + f_{60}/f_0 \quad (1)$$

Onde f_0 é a leitura inicial da fluorescência no tempo de 0 e f_i é a leitura da fluorescência no tempo i . O valor ORAC (equivalente Trolox) foi determinado pela equação 2, que considera a concentração de Trolox e a área abaixo da curva de decaimento da fluoresceína. Os resultados foram expressos em µM de equivalente Trolox (ET)/g amostra.

$$ORAC = (AUC_{amostra} - AUC_{branco} / AUC_{Trolox} - AUC_{branco}) * (Molaridade_{Trolox} / Molaridade_{amostra}) \quad (2)$$

2.2.5.3 Sistema β-caroteno/ácido linoleico

O Sistema de co-oxidação do β-caroteno/ácido linoleico foi avaliado como descrito por Miller (1971). Um solução de β-caroteno/ácido linoleico foi preparada dissolvendo-se 20 mg de β-caroteno em 1 mL de clorofórmio. Em seguida, 28 µL desta solução foram adicionados a 28 µL de ácido linoleico e 200 mg de Tween® 40 (agente emulsificante). O clorofórmio foi evaporado da solução reativa sob nitrogênio e adicionou-se 140 mL de água destilada saturada com oxigênio (30 minutos, 100 mL de O₂/minuto). Após vigorosa agitação, 5 mL da mistura reacional foram adicionados a tubos contendo 1 mL do extrato. A mistura foi homogeneizada e em seguida incubada em microplacas a 50 °C com o intuito de acelerar a oxidação e descoloração do β-caroteno, sendo realizada a medida a 470 nm durante 2 horas a cada 15 minutos (SpectraMax M5, Molecular Devices, CA, USA). O padrão (BHT) foi preparado da mesma forma que as amostras, assim como o controle, porém este no lugar da

amostra foi adicionado metanol.

Os resultados foram expressos em porcentagem de inibição da peroxidação calculados pela equação 3, onde A_i é a absorbância inicial e A_f é a absorbância final.

$$\% \text{ inibição} = 100 - (A_i \text{ da amostra} - A_f \text{ da amostra} / A_i \text{ do controle} - A_f \text{ do controle}) \quad (3)$$

2.2.6 Identificação dos compostos bioativos da salsa por UHPLC-ESI-MS

As análises cromatográficas da salsa foram realizadas em um cromatógrafo UHPLC Acquity (Waters, Milford, MA, USA) acoplado a espectrômetro de massas TDD Acquity (Micromass-Waters, Manchester, Inglaterra), com fonte de ionização por eletrospray (ESI - Electrospray Ionization). Utilizou-se uma coluna C18 BEH Waters Acquity (2,1 mm x 50 mm x 1,7 μm) a temperatura de 30 °C. Foram empregados dois solventes para a fase móvel, fase A (0,1% de ácido fórmico em água Milli-Q® purificada) e fase B (acetonitrila). O fluxo foi de 0,2 mL/min com gradiente linear a partir de 30% de B e aumento até 100% (B) em 8 minutos, mantendo-se até 9 minutos e retornando às condições iniciais, seguido de reequilíbrio da coluna até 10 minutos.

A ionização por eletrospray, no modo negativo, foi realizada sob as seguintes condições: voltagem de 3,5 kV no capilar e 30 V no cone extrator, temperatura da fonte a 150 °C, temperatura de dissolvatação de 350 °C e aquisição de dados de m/z entre 100 e 900. MS/MS dos picos selecionados foram adquiridos via CID (Collision-induced Dissociation) com energia de colisão de 20 V. Os compostos foram identificados por meio de comparação com dados presentes na literatura acerca do íon precursor e dos principais fragmentos formados.

2.3 Omeletes

2.3.1 Preparo das omeletes

Os ovos foram adquiridos em comércio local da cidade de Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil. Foram utilizados ovos frescos convencionais classificados como Tipo 1 – extra, o que inclui ovos com peso mínimo de 60 g, e com registro no Ministério da Agricultura (SIF (Serviço de Inspeção Federal)/DIPOA (Divisão de Inspeção de Produtos de Origem Animal)). Os ovos apresentavam as seguintes medidas: $61 \pm 1,0$ g de peso, $5,7 \pm 0,5$ cm de comprimento e $4,2 \pm 0,5$ cm de largura.

Primeiramente, foi preparado o material para as análises da amostra crua. Os ovos (doze ovos) foram quebrados manualmente e o conteúdo total do interior do ovo (gema e clara) foi misturado em uma batedeira doméstica (Ri7000, Walita, São Paulo, Brasil) na velocidade 1 do equipamento durante 15 segundos. Esta mistura foi liofilizada e reservada para as análises, correspondendo à amostra crua.

As omeletes foram preparadas de acordo com os seguintes tratamentos: omeletes sem adição da salsa (controle) e omeletes com a adição da salsa nas concentrações de 0,25, 0,5 e 0,75%. Visto que não existem estudos na literatura acerca do emprego de salsa em omeletes, os percentuais de adição foram definidos por meio de testes sensoriais informais realizados

com o grupo de pesquisa.

Para as amostras destinadas ao tratamento térmico foram preparadas três omeletes para cada tratamento, onde para cada omelete foram utilizados três ovos (cada ovo com o peso total da gema e clara de aproximadamente 50 g, totalizando o peso médio de $150 \pm 0,5$ g por omelete). As amostras foram preparadas conforme descrito para a amostra crua. Após a mistura da gema e da clara em batedeira doméstica, a mistura foi adicionada ao recipiente adequado para cada método de cocção a ser empregado, sendo realizada também a pesagem. Para as amostras com adição da salsa, a erva foi adicionada de forma homogênea à mistura e o percentual de adição foi aplicado com base no peso de cada amostra. Os recipientes utilizados foram: a própria forma do equipamento para as amostras tratadas em *air fryer*, frigideira antiaderente de material teflon para o tratamento em fogão e forma de silicone própria para o tratamento em micro-ondas.

2.3.2 Cocção das omeletes

Diversas receitas culinárias com diferentes binômios tempo-temperatura podem ser encontradas para o preparo de alimentos. Portanto, não existem procedimentos padrões para o preparo térmico de omeletes. Desta forma, o binômio tempo-temperatura utilizado para cada método de cocção neste trabalho foi definido por meio de testes informais que foram realizados com o grupo de pesquisa.

Os testes foram realizados a partir dos parâmetros (tempo/temperatura) indicados pelo fabricante do equipamento (*air fryer*) e em receitas encontradas em bases de busca da internet (fogão e micro-ondas). Assim, diferentes binômios tempo-temperatura foram avaliados, os quais foram estabelecidos de forma a simular o preparo térmico doméstico das omeletes considerando os aspectos característicos e desejáveis de cocção para as omeletes em cada método.

O preparo das amostras de forma segura também foi preconizado. Assim, a temperatura no interior das omeletes foi mensurada com o auxílio de um termômetro digital (Incoterm 6132, Brasil) para garantir que as amostras atingissem a temperatura interna mínima de 70°C, a qual é considerada uma temperatura segura para o preparo deste tipo de alimento pela legislação brasileira (ANVISA, 2004). Todos os preparos térmicos atingiram a temperatura interna mínima estabelecida (70 °C), onde ao final de cada método de cocção as amostras apresentaram temperaturas internas médias de 84 °C (fogão), 95 °C (micro-ondas) e 138 °C (*air fryer*).

Para o tratamento em fogão foi utilizado um fogão doméstico (Esmaltec, Ceará, Brasil) e uma frigideira antiaderente. O aquecimento foi realizado durante 4 minutos, onde a amostra foi virada em intervalos de 1 minuto, totalizando 2 minutos de aquecimento para cada lado da omelete. Foi utilizada sempre a mesma boca do fogão com a chama na mesma intensidade. Para o preparo em *air fryer* (RI9225/50, Philips Walita, São Paulo, Brasil), o equipamento foi ajustado a uma temperatura de 220°C e o aquecimento foi realizado durante 10 minutos. O micro-ondas (CCE, São Paulo, Brasil) foi utilizado a uma potência de 600 W com aquecimento por 3 minutos.

Após o tratamento térmico as amostras foram resfriadas naturalmente a temperatura ambiente. As três omeletes preparadas para cada tratamento foram misturadas a fim de se obter uma única amostra, a qual foi triturada, homogeneizada e liofilizada. Alíquotas convenientes foram retiradas para a realização das análises em triplicatas.

2.4 Análises das omeletes

2.4.1 Determinação dos teores de umidade

Os teores de umidade das amostras foram determinados de acordo com o método 950.46 da AOAC (2016). As amostras foram secas por 12 horas em estufa regulada a 105 °C, sendo periodicamente removidas da estufa, resfriadas em dessecador e pesadas até se obter peso constante.

2.4.2 Determinação dos teores de lipídios totais

Os teores de lipídios totais foram determinados pelo método 991.36 da AOAC (2016). Os lipídios foram extraídos em aparelho de Soxhlet com éter de petróleo por 8 horas, sendo o solvente removido em evaporador rotatório (Fisatom, São Paulo, Brasil) a 40 °C.

2.4.3 Determinação de ácidos graxos

Os lipídios para a determinação dos ácidos graxos foram extraídos a temperatura ambiente utilizando-se o clorofórmio como solvente. Os ácidos graxos presentes no óleo extraído foram convertidos a ésteres metílicos por transesterificação de acordo com Zhu et al. (2011), com modificações. Em tubos, 2 mL de solução metanólica de metóxido de sódio 2,5 M foram adicionados as amostras (0,05 g) e sonificados em ultrassom (Elmasonic P, Elma Schmidbauer GmbH, Singen, Alemanha) por 10 minutos (40 kHz). Em seguida, 0,1 mL de ácido acético glacial, 2,5 mL de solução saturada de hidróxido de sódio e 1 mL de hexano foram adicionados. Os tubos foram agitados em vortex e a fração hexânica separada. A extração com 1 mL de hexano foi repetida 3 vezes, perfazendo o total de 4 extrações. Na sequência, tubos contendo as frações hexânicas separadas foram direcionados a secagem em estufa ventilada (Solab, São Paulo, Brasil) a 40 °C. Antes da análise por cromatografia gasosa, as amostras foram ressuspensas com hexano e o padrão interno (éster metílico do ácido undecanóico),

Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram determinados de acordo com de Oliveira et al. (2020). Utilizou-se um cromatógrafo gasoso (Shimadzu GC 2010, Tokio, Japão) equipado com injetor split (1:50), detector de ionização em chamas e coluna capilar de sílica fundida CP-SIL 88 (100 m x 0,25 mm x 0,20 µm) (Chrompack, Middelburg, Holanda). As condições cromatográficas foram: temperatura inicial da coluna, 140 °C (5 minutos); taxa de aquecimento 4 °C/min, até temperatura de 230 °C (0 minuto); taxa de aquecimento 5 °C/min, até temperatura de 240 °C (18 minutos). As temperaturas do injetor e do detector foram ajustadas em 250 °C e 280 °C, respectivamente. Hidrogênio foi utilizado como gás de arraste a 1 mL/min e o nitrogênio como “make-up gas” a 30 mL/min.

Os tempos de retenção dos padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Supelco TM FAME Mix 37, Bellefonte, PA, USA) foram usados para identificar os picos cromatográficos das amostras. A quantificação foi realizada por padronização interna, utilizando o éster metílico do ácido undecanóico como padrão interno.

2.4.4 Determinação do colesterol e dos óxidos de colesterol

O colesterol e os óxidos de colesterol foram obtidos simultaneamente por saponificação direta das amostras (SALDANHA et al., 2006). Em tubos, 4 mL de solução aquosa de hidróxido de potássio (1 M) a 50% e 6 mL de etanol foram adicionados a 2 g da amostra. A saponificação foi conduzida a temperatura ambiente por 22 horas na ausência de luz. Para a extração da fração insaponificável, 5 mL de água destilada e 10 mL de hexano foram adicionados as amostras, em seguida a mistura foi homogeneizada em vortex e a fração hexânica separada. A extração com 10 mL de hexano foi repetida 3 vezes, perfazendo um total de 4 extrações. Na sequência, a fração hexânica foi seca em evaporador rotatório (Fisatom, São Paulo, Brasil) a 40 °C, e o resíduo ressuspensionado em 3 mL de hexano, sendo então transferidos para tubos que foram direcionados a secagem em estufa ventilada (Solab, São Paulo, Brasil) a 40 °C. Antes da análise cromatográfica, as amostras foram ressuspensionadas na fase móvel.

A identificação e a quantificação foram realizadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em um HPLC-PDA-IR (Waters, Milford, MA, EUA) equipado com detectores de arranjo de fotodiodos (PDA - Photo Diode Array Detector, Waters 2998) e índice de refração (RI - Refractive Index, Waters, 2414), com forno aquecido a 32 °C. As análises cromatográficas foram conduzidas conforme descrito por Ferreira et al. (2017). Foi utilizada uma coluna CN Hyperchrome (250 mm × 4,3mm × 5,0 µm) (Phenomenex, Colorado, USA) e a fase móvel utilizada foi composta por hexano:2-propanol (97:3, v/v) com um fluxo de 1 mL/min. Devido aos produtos de oxidação 5,6 α -epoxicolesterol e 5,6 β -epoxicolesterol não possuírem ligações π e por isso não apresentarem características adequadas de absorção de luz UV, esses compostos foram detectados apenas pelo índice de refração. Os compostos foram determinados por comparação dos tempos de retenção dos picos nas amostras com aqueles dos padrões de referência. A quantificação foi realizada por padronização externa usando curvas de calibração dos padrões.

As estruturas do colesterol e dos óxidos de colesterol foram confirmadas utilizando-se um HPLC-MS-PDA (Shimadzu LCMS-2020, Tóquio, Japão) equipado com detector de massas (Shimadzu LCMS-2020, Tóquio, Japão) com interface de ionização química a pressão atmosférica (APCI - Atmospheric Pressure Chemical Ionization) em modo positivo e módulo de aquisição SIM (Selected Ion Monitoring), conforme descrito por de Oliveira et al. (2020). Assim, o colesterol e os óxidos de colesterol foram confirmados por meio da comparação dos tempos de retenção determinados para os padrões e pela razão m/z .

2.4.5 Identificação dos compostos bioativos da salsa presentes nas omeletes por UHPLC-ESI-MS

Os compostos bioativos da salsa também foram determinados nas amostras de omeletes, conforme descrito no item 2.2.6, a fim de determinar os componentes da salsa que estariam presentes nas omeletes mesmo após a cocção, contribuindo assim para o possível efeito protetor da erva.

2.5 Análises estatísticas

O experimento foi conduzido por meio de fatorial completo 3x4, onde o fator A foi os

diferentes métodos de cocção (a1: fogão; a2: micro-ondas, a3: *air fryer*) e o fator B foi as diferentes concentrações de salsa utilizadas (b1: 0,0%; b2: 0,25%; b3: 0,5%; b4: 0,75%). Também foi considerado um tratamento adicional referente à amostra crua. Os dados foram tratados por meio do teste da ANOVA de duas vias, seguido do teste de Tukey de comparação múltipla de médias, quando diferenças significativas foram encontradas entre as amostras. O teste de Dunnet foi aplicado para avaliar as diferenças entre as amostras cruas e as amostras controles com cada um dos tratamentos utilizados. Todas as análises foram realizadas em triplicatas e os resultados foram expressos por meio de médias seguidas dos desvios padrões.

Técnicas multivariadas foram empregadas para complementar e resumir as interpretações de resultados: a Análise dos Componentes Principais e o Agrupamento Hierárquico com mapa de calor. A Análise dos Componentes Principais foi realizada após a padronização das variáveis de forma a evitar a influência das diferentes magnitudes. O Agrupamento Hierárquico foi aplicado utilizando-se o princípio da distância Euclidiana para medir as distâncias e o método Ward para agrupar as amostras. No mapa de calor, a variação da coloração foi empregada para representar a intensidade de cada variável, onde o menor valor no mapa de calor é indicado pelo azul escuro, o maior valor pelo vermelho brilhante e valores medianos pela coloração cinza clara, com uma transição correspondente (ou gradiente) entre estes extremos. Todas as análises estatísticas foram realizadas a um nível de significância de 5%, utilizando o *software* R versão 3.2.4.

2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análises da salsa

3.1.1 Compostos fenólicos, flavonoides e capacidade antioxidante da salsa

Os teores totais de compostos fenólicos e flavonoides, assim como as capacidades antioxidantes determinadas pelos métodos de DPPH, ORAC e sistema β -caroteno/ácido linoleico estão presentes na Tabela 1. O conteúdo total de compostos fenólicos determinado na salsa foi $5,12 \pm 0,03$ mg EAG/g, enquanto teores variados podem ser encontrados na literatura (2,10 – 12,49 mg EAG/g) (MAZZUCOTELLI et al., 2018; DOBRIČEVIĆ et al., 2019; EPIFANIO et al., 2020; FERREIRA et al., 2022). O teor de flavonoides totais determinado foi $14,73 \pm 1,01$ mg EQ/g. Resultado similar foi reportado por Epifanio et al. (2020) (15,05 mg EQ/g), enquanto valores inferiores foram obtidos para o extrato metanólico avaliado por Mazzucotelli et al. (2018) (1,65 mg EQ/g).

Tabela 1: Teores totais de compostos fenólicos e flavonoides e capacidades antioxidantes *in vitro* determinadas pelos métodos de DPPH, ORAC e sistema β -caroteno/ácido linoleico do extrato da salsa.

Método	Valor
Compostos fenólicos totais mg EAG/g	5,12 \pm 0,03
Flavonoides totais mg EQ/g	14,73 \pm 1,01
DPPH % inibição oxidativa	13,07 \pm 0,64
ORAC μ M ET/g	54,76 \pm 1,12
β-caroteno/ácido linoleico % inibição oxidativa	12,14 \pm 2,89

Resultados de análises realizadas em triplicatas, média \pm desvio padrão.

O extrato da salsa apresentou uma inibição oxidativa de 13,07 \pm 0,64 % pelo método de DPPH, o que foi próximo aos resultados reportados por Jadczyk et al. (2019) (2,16 – 14,26%) e inferior ao encontrado por Ferreira et al. (2022) (59,21%). O valor ORAC determinado foi 54,76 \pm 1,12 μ M ET/g, o qual foi inferior a 109,94 μ M TE/g (FERREIRA et al., 2022) e superior a 32 μ M ET/g (ERTEKIN, NAZLI e GUZEL, 2017). Para o ensaio de β -caroteno/ácido linoleico, o percentual de inibição oxidativa foi 12,14 \pm 2,89 %, enquanto Ferreira et al. (2022) e Tiveron et al. (2012) reportaram percentuais de 40,74 e 60,70%, respectivamente.

As diferenças entre os valores determinados neste trabalho e os valores presentes na literatura podem ser esperadas, visto que os teores de fitoquímicos em vegetais são altamente influenciados por diversos aspectos como a genética e as condições ambientais de cultivo. Além disso, os métodos e procedimentos aplicados na obtenção dos extratos e os solventes utilizados são alguns dos fatores que podem influenciar o resultado final, contribuindo assim para a variação observada (DOBRIČEVIĆ et al., 2019; JANKOVIĆ et al., 2021).

3.1.2 Compostos bioativos da salsa determinados por UHPLC-ESI-MS

Onze compostos bioativos foram identificados no extrato da salsa no modo negativo, incluindo ácidos orgânicos, ácidos fenólicos e seus derivados e flavonoides (Tabela 2).

Tabela 2: Identificação dos compostos bioativos presentes no extrato da salsa por UHPLC-ESI-MS no modo negativo.

TR (min)	Íon precursor (<i>m/z</i>)	Principais fragmentos (<i>m/z</i>)	Identificação proposta	Referência
0,572	191	111; 109; 87; 85; 67	Ácido cítrico	Frattani et al. (2021)
0,603	133	115; 89; 71	Ácido málico	Bergantin et al. (2017) Epifanio et al. (2020) Frattani et al. (2021)
0,861	563	465; 269	Apigenina 7-apiosilglicosídeo	Kaiser, Carle e Kammerer (2013) Slimestad, Fossen e Brede (2020)
0,876	325	163; 119; 89	Ácido <i>p</i> -coumárico 4-O-hexosídeo	Ferreira et al. (2022) Kaiser, Carle e Kammerer (2013) Ferreira et al. (2022)
0,981	593	353; 299; 232	Diosmetina 7-apiosilglicosídeo	Kaiser, Carle e Kammerer (2013) Slimestad, Fossen e Brede (2020)
1,024	595	474; 299; 199	Quercetina-O-pentosil-hexosídeo	Epifanio et al. (2020)
1,031	163	119	Ácido <i>p</i> -coumárico	Ferreira et al. (2022)
1,045	605	564; 545; 455; 269	Apigenina-O-acetil-pentosil-hexosídeo	Sęczyk et al. (2016)
1,120	679	635; 593; 576; 299	Crisoeriol-7-O-malonilapiosilglicosídeo B	Epifanio et al. (2020)
1,648	471	427; 307; 163; 145; 119	Derivado coumárico	Frattani et al. (2021)
4,541	431	311; 153	Apigenina 7-glicosídeo	Ferreira et al. (2022) Slimestad, Fossen e Brede (2020)

*TR- tempo de retenção.

O ácido *p*-coumárico (*m/z* 163) foi encontrado no extrato da salsa conforme observado por Ferreira et al. (2022), assim como compostos derivados deste ácido fenólico: ácido *p*-coumárico 4-O-hexosídeo (*m/z* 325) e outro derivado coumárico (*m/z* 471) (KAISER, CARLE e KAMMERER, 2013; FRATTANI et al., 2021; FERREIRA et al., 2022). Também foram identificados os seguintes flavonoides: apigenina 7-glicosídeo (*m/z* 431), apigenina 7-apiosilglicosídeo (*m/z* 563), diosmetina 7-apiosilglicosídeo (*m/z* 593), quercetina-O-pentosil-hexosídeo (*m/z* 595), apigenina-O-acetil-pentosil-hexosídeo (*m/z* 605) e crisoeriol-7-O-malonilapiosilglicosídeo B (*m/z* 679) (KAISER, CARLE e KAMMERER, 2013; SEÇZYK et al., 2016; EPIFANIO et al., 2020; SLIMESTAD, FOSSEN e BREDE, 2020; FRATTANI et al., 2021; FERREIRA et al., 2022). Os ácidos cítrico e málico foram determinados de acordo com Frattani et al. (2021) e Bergantin et al. (2017), respectivamente.

Compostos naturais como os encontrados no extrato da salsa têm chamado à atenção da comunidade científica devido às propriedades biológicas apresentadas pelos mesmos. GODARZI et al. (2020) demonstraram que aos efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios do ácido *p*-coumárico podem exercer atividades protetoras frente lesões de reperusão, danos que ocorrem nos tecidos mediante a restauração do fluxo sanguíneo após um período de isquemia. Diversas propriedades bioativas, como a atividade antioxidante, imunomodulatória, anti-inflamatória e anticancerígena, vêm sendo documentadas em flavonoides glicosilados (YANG et al., 2018; MINDA et al., 2020), como os determinados neste estudo. De acordo com Minda et al. (2020), a apigenin 7-glicosídeo apresentou potencial antiproliferativo e pró-apoptótico *in vitro* frente células cancerígenas cervicais (MINDA et al., 2020).

Tais bioatividades são atribuídas principalmente às propriedades antioxidantes dos compostos fenólicos, os quais são formados por um ou mais anéis aromáticos hidroxilados ligados a uma ou mais hidroxilas, sendo capazes de doar um átomo de hidrogênio e/ou um elétron para os radicais livres formados no estágio inicial dos processos oxidativos (EMBUSCADO, 2019; ZEB, 2021). A maioria dos compostos fenólicos determinados na salsa é da classe dos flavonoides, os quais minimizam a auto-oxidação lipídica em alimentos por meio da estabilização de radicais. Ademais, estes compostos atuam como sequestradores de oxigênio singlete e como agentes quelantes de metais, participando também da ativação de enzimas antioxidantes e da inibição de enzimas oxidantes (PROCHÁZKOVÁ, BOUŠOVÁ e WILHELMOVÁ, 2011; D'AMELIA et al., 2018).

Além de ser apreciada por seus atributos de cor, sabor e aroma, a salsa também é fonte de compostos antioxidantes. Assim, destaca-se a importância de se investigar a adição da salsa como estratégia para controlar as reações oxidativas em sistemas alimentares como as omeletes, as quais são amplamente consumidas mas pouco estudadas.

3.2 Omeletes

3.2.1 Teores de umidade e lipídios totais das amostras de omeletes

O teor de umidade determinado na amostra crua foi $76,71 \pm 0,14$ g/100 g (Tabela 3), conteúdo similar ao encontrado em amostras de ovos frescos (gema e clara) avaliadas por Tang et al. (2021) ($76,52$ g/100 g). Entretanto, o cozimento acarretou na redução do teor de umidade, que atingiu valores de $73,64 \pm 0,17$ g/100 g (fogão), $71,40 \pm 0,32$ g/100 g (*air fryer*) e $70,61 \pm 0,15$ g/100 g (micro-ondas) nas amostras controle, o que corresponde às reduções de aproximadamente 4, 7 e 8%, respectivamente ($p < 0,05$). Quanto à salsa, a adição da erva não alterou de forma significativa os resultados obtidos quando comparados ao controle para cada método de cocção ($p > 0,05$).

Tabela 3: Teores de umidade (g/100 g) e lipídios totais (g/100 g, base seca) das amostras de omeletes cruas e cozidas (controle e com adição da salsa a 0,25, 0,5 e 0,75%).

<i>Air fryer</i>					
	Cru	Controle	0,25% salsa	0,5% salsa	0,75% salsa
Umidade	76,71 ± 0,14	71,40 ± 0,32 ^{AB;b;*}	71,21 ± 0,60 ^{B;b;*}	71,74 ± 0,14 ^{AB;b;*}	72,26 ± 0,14 ^{A;b;α;*}
Lipídios totais	29,72 ± 0,42	28,67 ± 0,40 ^{A;a}	28,93 ± 0,47 ^{A;a}	29,49 ± 0,37 ^{A;a}	29,67 ± 0,40 ^{A;a}
Fogão					
	Cru	Controle	0,25% salsa	0,5% salsa	0,75% salsa
Umidade	76,71 ± 0,14	73,64 ± 0,17 ^{A;a;*}	73,15 ± 0,68 ^{A;a;*}	73,73 ± 0,18 ^{A;a;*}	74,03 ± 0,25 ^{A;a;*}
Lipídios totais	29,72 ± 0,42	28,47 ± 0,36 ^{A;ab}	28,99 ± 0,40 ^{A;a}	29,01 ± 0,18 ^{A;a}	29,16 ± 0,19 ^{A;a}
Micro-ondas					
	Cru	Controle	0,25% salsa	0,5% salsa	0,75% salsa
Umidade	76,71 ± 0,14	70,61 ± 0,15 ^{B;c;*}	70,67 ± 0,33 ^{B;b;*}	71,01 ± 0,12 ^{AB;c;*}	71,57 ± 0,39 ^{A;c;δ;*}
Lipídios totais	29,72 ± 0,42	27,79 ± 0,17 ^{A;b;*}	27,70 ± 0,10 ^{A;b;*}	27,80 ± 0,22 ^{A;a;*}	27,85 ± 0,05 ^{A;a;*}

Resultados de análises realizadas em triplicatas, média ± desvio padrão. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as porcentagens de salsa adicionadas para cada método de cocção pelo teste de Tukey. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os métodos de cocção considerando o mesmo percentual de adição da salsa pelo teste de Tukey. *Air fryer* - "α" indica diferença significativa em comparação com o "controle" pelo teste de Dunnett. Fogão - "β" indica diferença significativa em comparação com o "controle" pelo teste de Dunnett. Micro-ondas - "δ" indica diferença significativa em comparação com o "controle" pelo teste de Dunnett. "*" indica diferença significativa de qualquer amostra em comparação com o "cru".

Estudos anteriores também demonstraram o efeito do tratamento térmico na umidade em ovos. Tang et al. (2021) reportaram perdas na faixa de 4 e 12% em ovos preparados em micro-ondas (300 W/ 4 min) e em frigideira em fogão convencional (130 °C/ 2,5 min), respectivamente. Su et al. (2021) mostraram que a umidade reduziu rapidamente, de aproximadamente 75 para 10%, em ovos preparados em micro-ondas (potência de 800 W) com o aumento no tempo de operação do equipamento, que variou de 70 a 100 segundos.

O teor total de lipídios da amostra crua foi 29,72 ± 0,42 g/100 g (base seca) (Tabela 3), concordando com os resultados reportados por Attia et al. (2015) (28,10 – 33,10 g/100 g). O tratamento térmico determinou alterações significativas nos teores de lipídios apenas nas amostras preparadas em micro-ondas, onde foram observados valores reduzidos nas amostras controle ($p < 0,05$). Os conteúdos totais de lipídios encontrados nas amostras controle foram: 28,67 ± 0,40 g/100 g (*air fryer*), 28,47 ± 0,36 g/100 g (fogão) e 27,79 ± 0,17 g/100 g (micro-ondas). Assim como descrito para a umidade, a adição da salsa não afetou os resultados ($p > 0,05$).

Um estudo realizado por Murcia et al. (1999) relatou perdas correspondentes a 1,53% no teor de lipídios de ovos após o cozimento em micro-ondas, enquanto Cortinas et al. (2003)

mostrou que o cozimento em fogão não afetou o conteúdo de lipídios de ovos. Outros autores reportaram o aumento nos teores de lipídios após o tratamento de ovos em micro-ondas (Su et al., 2021; Tang et al., 2021) e fogão (Tang et al., 2021), o que foi possivelmente devido a perda de água das amostras analisadas.

3.2.2 Efeitos da adição da salsa frente à degradação de ácidos graxos

Os principais ácidos graxos determinados na amostra crua foram: ácidos oleico (C18:1 *n9c*, $38,69 \pm 0,09$ g/100 g óleo), palmítico (C16:0, $23,44 \pm 0,05$ g/100 g óleo) e linoleico (C18:2 *n6c*, $9,35 \pm 0,05$ g/100 g óleo). Também foram encontrados elevados teores dos ácidos esteárico e palmitoleico. Considerando o somatório dos diferentes grupos de ácidos graxos, os teores aumentaram da seguinte forma: ácidos graxos poli-insaturados (AGPIs) ($11,26 \pm 0,03$ g/100 g óleo) < ácidos graxos saturados (AGSs) ($32,18 \pm 0,12$ g/100 g óleo) < ácidos graxos monoinsaturados (AGMIs) ($42,60 \pm 0,10$ g/100 g óleo) (Tabela 4), perfil similar ao reportado por outros autores (AL JUHAIMI et al., 2019).

Tabela 4: Composição de ácidos graxos (g/100 g óleo) das amostras de omeletes cruas e cozidas (controle e com adição da salsa a 0,25, 0,5 e 0,75%).

Ácido graxo	<i>Air fryer</i>				
	Cru	Controle	0,25% salsa	0,5% salsa	0,75% salsa
C14:0	0,31 ± 0,00	0,31 ± 0,01 ^{A;a}	0,29 ± 0,00 ^{B;a;α}	0,30 ± 0,00 ^{AB;a}	0,31 ± 0,00 ^{AB;a}
C16:0	23,44 ± 0,05	22,80 ± 0,25 ^{A;a;*}	22,81 ± 0,06 ^{A;b;*}	22,79 ± 0,05 ^{A;b;*}	22,80 ± 0,10 ^{A;b;*}
C18:0	8,27 ± 0,18	7,30 ± 0,23 ^{B;a;*}	8,39 ± 0,41 ^{B;a;α}	8,44 ± 0,32 ^{B;a;α}	8,49 ± 0,03 ^{B;a;α}
C22:0	0,16 ± 0,00	0,08 ± 0,00 ^{B;b;*}	0,13 ± 0,00 ^{A;ab;α;*}	0,13 ± 0,00 ^{A;a;α;*}	0,13 ± 0,00 ^{A;b;α;*}
C16:1	3,09 ± 0,01	2,56 ± 0,01 ^{C;a;*}	2,66 ± 0,02 ^{B;a;α;*}	2,67 ± 0,02 ^{B;a;α;*}	2,72 ± 0,00 ^{A;a;α;*}
C18:1 n9c	38,69 ± 0,09	42,67 ± 0,17 ^{A;a;*}	42,22 ± 0,14 ^{A;a;α;*}	42,49 ± 0,17 ^{A;a;*}	42,40 ± 0,24 ^{A;a;*}
C20:1 n9	0,43 ± 0,00	0,38 ± 0,01 ^{AB;a;*}	0,37 ± 0,00 ^{B;a;*}	0,38 ± 0,01 ^{AB;a;*}	0,40 ± 0,01 ^{A;a}
C24:1 n9	0,39 ± 0,00	0,12 ± 0,02 ^{B;b;*}	0,21 ± 0,03 ^{A;a;α;*}	0,22 ± 0,01 ^{A;a;α;*}	0,21 ± 0,02 ^{A;ab;α;*}
C18:2 n6c	9,35 ± 0,05	8,15 ± 0,04 ^{A;b;*}	8,39 ± 0,15 ^{A;a;*}	8,41 ± 0,12 ^{A;b;*}	8,47 ± 0,19 ^{A;a;*}
C20:4 n6	1,55 ± 0,00	0,61 ± 0,07 ^{B;a;*}	1,19 ± 0,09 ^{A;a;α;*}	1,22 ± 0,01 ^{A;a;α;*}	1,23 ± 0,01 ^{A;a;α;*}
C22:6 n3	0,36 ± 0,00	0,08 ± 0,01 ^{C;b;*}	0,16 ± 0,02 ^{B;b;α;*}	0,22 ± 0,01 ^{A;ab;α;*}	0,18 ± 0,03 ^{AB;b;α;*}
ΣAGS	32,18 ± 0,12	30,49 ± 0,48 ^{B;a;*}	31,62 ± 0,38 ^{A;a;α}	31,66 ± 0,30 ^{A;a;α}	31,73 ± 0,13 ^{A;a;α}
ΣAGMI	42,60 ± 0,10	45,73 ± 0,17 ^{A;a;*}	45,46 ± 0,10 ^{A;a;*}	45,76 ± 0,16 ^{A;a;*}	45,73 ± 0,21 ^{A;a;*}
ΣAGPI	11,26 ± 0,03	8,84 ± 0,12 ^{B;b;*}	9,74 ± 0,06 ^{A;a;α;*}	9,85 ± 0,11 ^{A;a;α;*}	9,88 ± 0,18 ^{A;a;α;*}
ΣAGI	53,86 ± 0,12	54,57 ± 0,06 ^{B;a}	55,20 ± 0,09 ^{A;a;α;*}	55,61 ± 0,06 ^{A;a;α;*}	55,61 ± 0,33 ^{A;ab;α;*}
Σn3/n6	0,03 ± 0,00	0,01 ± 0,00 ^{C;b;*}	0,02 ± 0,00 ^{BC;b;α;*}	0,02 ± 0,00 ^{A;ab;α;*}	0,02 ± 0,00 ^{AB;b;α;*}

Ácido graxo	Fogão				
	Cru	Controle	0,25% salsa	0,5% salsa	0,75% salsa
C14:0	0,31 ± 0,00	0,25 ± 0,00 ^{B;c;*}	0,27 ± 0,00 ^{AB;b;β;*}	0,29 ± 0,00 ^{A;b;β;*}	0,25 ± 0,00 ^{A;a;β}
C16:0	23,44 ± 0,05	22,63 ± 9,28 ^{A;a;*}	22,69 ± 0,10 ^{A;b;*}	22,71 ± 0,03 ^{A;b;*}	22,78 ± 0,07 ^{A;b;*}
C18:0	8,27 ± 0,18	7,49 ± 0,21 ^{A;a;*}	7,50 ± 0,33 ^{A;a;*}	7,59 ± 0,01 ^{A;b;*}	7,67 ± 0,05 ^{A;c}
C22:0	0,16 ± 0,00	0,11 ± 0,01 ^{B;a;*}	0,15 ± 0,00 ^{A;a;β}	0,15 ± 0,01 ^{A;a;β}	0,15 ± 0,02 ^{A;a;β}
C16:1	3,09 ± 0,01	2,54 ± 0,05 ^{A;a;*}	2,54 ± 0,14 ^{A;a;*}	2,69 ± 0,02 ^{A;a;*}	2,71 ± 0,17 ^{A;a;*}
C18:1 n9c	38,69 ± 0,09	42,81 ± 0,22 ^{A;a;*}	42,46 ± 0,06 ^{B;a;β;*}	42,48 ± 0,05 ^{AB;a;β;*}	42,60 ± 0,13 ^{A^B;a;*}
C20:1 n9	0,43 ± 0,00	0,32 ± 0,01 ^{A;b;*}	0,32 ± 0,03 ^{A;a;*}	0,32 ± 0,01 ^{A;b;*}	0,37 ± 0,03 ^{A;a;β;*}
C24:1 n9	0,39 ± 0,00	0,12 ± 0,01 ^{B;b;*}	0,13 ± 0,00 ^{B;b;*}	0,13 ± 0,00 ^{B;b;*}	0,17 ± 0,02 ^{A;b;β;*}
C18:2 n6c	9,35 ± 0,05	8,20 ± 0,02 ^{B;b;*}	8,45 ± 0,38 ^{AB;a;*}	8,68 ± 0,02 ^{AB;a;*}	8,77 ± 0,22 ^{A;a;β;*}
C20:4 n6	1,55 ± 0,00	0,77 ± 0,01 ^{B;a;*}	1,01 ± 0,03 ^{A;b;β;*}	1,06 ± 0,06 ^{A;b;β;*}	1,11 ± 0,08 ^{A;a;β;*}
C22:6 n3	0,36 ± 0,00	0,07 ± 0,01 ^{C;b;*}	0,22 ± 0,03 ^{B;a;β;*}	0,25 ± 0,03 ^{AB;a;β;*}	0,27 ± 0,00 ^{A;a;β;*}
ΣAGS	32,18 ± 0,12	30,48 ± 0,43 ^{A;a;*}	30,59 ± 0,42 ^{A;a;*}	30,74 ± 0,00 ^{A;b;*}	30,85 ± 0,13 ^{A;b;*}
ΣAGMI	42,60 ± 0,10	45,79 ± 0,18 ^{A;a;*}	45,45 ± 0,11 ^{A;a;*}	45,62 ± 0,05 ^{A;a;*}	45,85 ± 0,23 ^{A;a;*}
ΣAGPI	11,26 ± 0,03	9,04 ± 0,03 ^{B;b;*}	9,68 ± 0,32 ^{A;a;β;*}	9,99 ± 0,06 ^{A;a;β;*}	10,15 ± 0,20 ^{A;a;β;*}

ΣAGI	53,86 ± 0,12	54,83 ± 0,15 ^{C;a}	55,13 ± 0,21 ^{BC;a;*}	55,61 ± 0,01 ^{AB;a;β;*}	56,00 ± 0,43 ^{A;a;β;*}
Σn3/n6	0,03 ± 0,00	0,01 ± 0,00 ^{B;b;*}	0,02 ± 0,00 ^{A;a;β;*}	0,03 ± 0,00 ^{A;a;β;*}	0,03 ± 0,00 ^{A;a;β;*}

Micro-ondas

Ácido graxo	Cru	Controle	0,25% salsa	0,5% salsa	0,75% salsa
C14:0	0,31 ± 0,00	0,29 ± 0,01 ^{A;b}	0,30 ± 0,01 ^{A;a}	0,30 ± 0,00 ^{A;a}	0,30 ± 0,01 ^{A;a}
C16:0	23,44 ± 0,05	23,11 ± 0,08 ^{A;a}	23,19 ± 0,08 ^{A;a}	23,22 ± 0,01 ^{A;a}	23,40 ± 0,25 ^{A;a}
C18:0	8,27 ± 0,18	7,38 ± 0,11 ^{B;a;*}	8,09 ± 0,67 ^{AB;a}	8,31 ± 0,12 ^{A;a;δ}	8,33 ± 0,05 ^{A;b;δ}
C22:0	0,16 ± 0,00	0,09 ± 0,01 ^{A;ab;*}	0,11 ± 0,01 ^{A;b;*}	0,11 ± 0,01 ^{A;b;*}	0,12 ± 0,01 ^{A;b;*}
C16:1	3,09 ± 0,01	2,61 ± 0,02 ^{A;a;*}	2,68 ± 0,15 ^{A;a;*}	2,70 ± 0,19 ^{A;a;*}	2,77 ± 0,01 ^{A;a;*}
C18:1 n9c	38,69 ± 0,09	40,37 ± 1,45 ^{A;b;*}	41,47 ± 0,92 ^{A;a;*}	41,09 ± 0,17 ^{A;b;*}	41,13 ± 0,33 ^{A;b;*}
C20:1 n9	0,43 ± 0,00	0,36 ± 0,00 ^{B;a;*}	0,37 ± 0,01 ^{AB;a;*}	0,37 ± 0,00 ^{AB;a;*}	0,38 ± 0,01 ^{A;a;δ;*}
C24:1 n9	0,39 ± 0,00	0,19 ± 0,01 ^{B;a;*}	0,21 ± 0,01 ^{B;a;*}	0,21 ± 0,01 ^{B;a;*}	0,26 ± 0,03 ^{A;a;δ;*}
C18:2 n6c	9,35 ± 0,05	8,38 ± 0,11 ^{A;a;*}	8,54 ± 0,17 ^{A;a;*}	8,60 ± 0,04 ^{A;ab;*}	8,65 ± 0,04 ^{A;a;δ;*}
C20:4 n6	1,55 ± 0,00	0,90 ± 0,11 ^{B;a;*}	0,90 ± 0,03 ^{B;b;*}	1,02 ± 0,03 ^{AB;b;*}	1,16 ± 0,10 ^{A;a;δ;*}
C22:6 n3	0,36 ± 0,00	0,16 ± 0,02 ^{B;a;*}	0,21 ± 0,01 ^{AB;ab;*}	0,19 ± 0,02 ^{AB;b;*}	0,21 ± 0,03 ^{A;b;δ;*}
ΣAGS	32,18 ± 0,12	30,87 ± 0,15 ^{B;a;*}	31,69 ± 0,71 ^{AB;a}	31,94 ± 0,11 ^{A;a;δ}	32,15 ± 0,25 ^{A;a;δ}

ΣAGMI	42,60 ± 0,10	43,53 ± 1,43 ^{A;b}	44,73 ± 0,77 ^{A;a;*}	44,37 ± 0,02 ^{A;b;*}	44,54 ± 0,33 ^{A;b;*}
ΣAGPI	11,26 ± 0,03	9,44 ± 0,08 ^{C;a;*}	9,65 ± 0,20 ^{BC;a;*}	9,81 ± 0,05 ^{AB;a;δ;*}	10,02 ± 0,17 ^{A;a;δ;*}
ΣAGI	53,86 ± 0,12	52,97 ± 1,49 ^{B;a;*}	54,38 ± 0,63 ^{AB;ab;*}	54,18 ± 0,03 ^{AB;b;*}	54,56 ± 0,48 ^{A;b;δ;*}
Σn3/n6	0,03 ± 0,00	0,02 ± 0,00 ^{A;a;*}	0,02 ± 0,00 ^{A;ab;*}	0,02 ± 0,00 ^{A;b;*}	0,02 ± 0,00 ^{A;ab;*}

AGS = ácido graxo saturado; AGMI = ácido graxo monoinsaturado; AGPI = ácido graxo poli-insaturado; AGI = ácido graxo insaturado. Resultados de análises realizadas em triplicatas, média ± desvio padrão. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as porcentagens de salsa adicionadas para cada método de cocção pelo teste de Tukey. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os métodos de cocção considerando o mesmo percentual de adição da salsa pelo teste de Tukey. *Air fryer* - "α" indica diferença significativa em comparação com o "controle" pelo teste de Dunnett. Fogão - "β" indica diferença significativa em comparação com o "controle" pelo teste de Dunnett. Micro-ondas - "δ" indica diferença significativa em comparação com o "controle" pelo teste de Dunnett. "*" indica diferença significativa de qualquer amostra em comparação com o "cru".

No entanto, o aquecimento resultou em alterações nas concentrações dos ácidos graxos nas amostras controle (Tabela 4). Após o preparo térmico em *air fryer*, os teores de AGSs, AGMIs e AGPIs foram $30,49 \pm 0,48$, $45,73 \pm 0,17$ e $8,84 \pm 0,12$ g/100 g óleo, respectivamente. O cozimento em micro-ondas reduziu os teores de AGSs ($30,87 \pm 0,15$ g/100 g óleo) e AGPIs ($9,44 \pm 0,08$ g/100 g óleo), enquanto um nível superior de AGMIs ($43,53 \pm 1,43$ g/100 g óleo) foi determinado. Comportamento similar foi observado nas amostras preparadas em fogão: AGSs ($30,48 \pm 0,43$ g/100 g óleo), AGMIs ($45,79 \pm 0,18$ g/100 g óleo) e AGPIs ($9,04 \pm 0,03$ g/100 g óleo). Entretanto, os perfis de ácidos graxos (AGMIs > AGSs > AGPIs) não foram alterados devido aos diferentes métodos de cocção aplicados.

A exposição a elevadas temperaturas durante o tratamento térmico acelera os processos oxidativos em alimentos, pois reduz a energia de ativação necessária para a abstração do hidrogênio e formação dos radicais livres, que são precursores das reações de oxidação (BARRIUSO, ANSORENA e ASTIASARÁN, 2017).

Visto que os AGPIs são mais susceptíveis a oxidação, este grupo de ácidos graxos é comumente considerado ao se avaliar a oxidação lipídica em alimentos. De fato, quanto maior o número de instaurações presentes na cadeia do ácido graxo maior a susceptibilidade do mesmo a oxidação (BARRIUSO, ANSORENA e ASTIASARÁN, 2017).

Ao se avaliar o efeito da cocção nos AGPIs, os seguintes percentuais de degradação foram determinados nas amostras controle: 21,50% (*air fryer*), 19,72% (fogão) e 16,17% (micro-ondas). Dentre os métodos de cocção avaliados, o *air fryer* apresentou o maior impacto frente aos AGPIs, enquanto um menor percentual de degradação foi determinado nas amostras preparadas em micro-ondas. Tal fato pode ser atribuído às condições mais extremas de processamento, maior temperatura aplicada (220 °C) e tempo mais longo de cocção (10 minutos), empregadas neste tratamento, onde as omeletes também apresentaram a maior temperatura interna (138 °C). Uma tendência similar foi observada em um estudo realizado por Douny et al. (2015), que compararam diferentes métodos de cocção (fogão, cozimento em água e em forno) durante o preparo térmico de ovos. De acordo com os autores, o preparo em forno (180 °C / 45 min) foi o método que mais afetou a composição de ácidos graxos, sendo este o tratamento que atingiu a maior temperatura interna nas amostras (102,6 °C).

Murcia et al. (2003) demonstraram que os teores de AGPIs reduziram em aproximadamente 13 e 30% em ovos preparados em micro-ondas e fogão, respectivamente. Al Juhaimi et al. (2017) observaram a maior degradação do ácido oleico nas amostras tratadas em micro-ondas quando comparadas com amostras de ovos preparadas em fogão. No entanto, o impacto do cozimento na composição de alimentos depende de diversos fatores como o método aplicado, o equipamento, a temperatura selecionada, o tempo de cocção, dentre outros. Assim, diferenças entre os estudos presentes na literatura são esperadas, mesmo quando comparando o mesmo método de cocção.

O aquecimento das amostras reduziu os teores de AGPIs. Entretanto, a degradação dos mesmos foi mais evidente nas amostras controle do que nas amostras adicionadas de salsa (Tabela 4). Os teores de AGPIs nas amostras preparadas em *air fryer* adicionadas de salsa ($9,74 \pm 0,06 - 9,88 \pm 0,18$ g/100 g óleo) foram superiores ao conteúdo determinado na amostra controle ($8,84 \pm 0,12$ g/100 g óleo, 21,50% de degradação) ($p < 0,05$). Desta forma, uma degradação inferior foi observada com a adição da salsa, com 12,26% de degradação para o tratamento com 0,75% da erva, por exemplo.

As amostras preparadas em fogão contendo a salsa ($9,68 \pm 0,32 - 10,15 \pm 0,20$ g/100 g óleo) apresentaram uma menor degradação devido à adição da erva na concentração de 0,75% (9,86%) comparadas com o controle (19,72%). Teores variando de $9,65 \pm 0,20$ a $10,02 \pm 0,17$ g/100 g óleo foram encontrados nas amostras preparadas em micro-ondas, com 11,02% de degradação para o tratamento com 0,75% salsa. Diferenças significativas são foram

detectadas devido ao emprego de diferentes concentrações de salsa, para a maioria dos tratamentos avaliados ($p > 0,05$).

O efeito protetor da salsa frente à oxidação lipídica e consequente degradação de AGPIs destaca o potencial antioxidante da mesma. A salsa contém compostos bioativos, principalmente flavonoides, os quais são comumente reportados por suas propriedades antioxidantes devido às reações destes polifenóis com os radicais livres formados durante os estágios iniciais da auto-oxidação, assim como a ação protetora sobre os lipídios mediante a presença de pró-oxidantes como os íons metálicos (EMBUSCADO, 2019; ZEB, 2021).

3.2.3. Efeitos da adição da salsa frente à formação dos óxidos de colesterol

O teor de colesterol da amostra crua foi $1038,41 \pm 4,51$ mg/100 g (base seca) (Tabela 5), o qual está de acordo com valor reportado por Batkowska et al. (2021) (1010 mg/100 g) ao avaliar amostras de ovos frescos (gema e clara). No entanto, devido à relevância do colesterol para a dieta humana, estudos têm sido realizados a fim de determinar a concentração do colesterol em ovos e os diferentes fatores que podem influenciar o nível do mesmo (ABDALLA e OCHI, 2018; BATKOWSKA et al., 2021).

Tabela 5: Teores de colesterol (mg/100 g, base seca) e óxidos de colesterol ($\mu\text{g/g}$, base seca) das amostras de omeletes cruas e cozidas (controle e com adição da salsa a 0,25, 0,5 e 0,75%).

<i>Air fryer</i>					
	Cru	Controle	0,25% salsa	0,5% salsa	0,75% salsa
5,6α-EP	-	$26,67 \pm 0,20^a$	-	-	-
5,6β-EP	$13,09 \pm 0,12$	$71,56 \pm 1,88^{A;a;*}$	$27,63 \pm 3,13^{BC;b;*}$	$37,01 \pm 5,91^{B;a;*}$	$22,97 \pm 3,36^{C;a;*}$
20α-OH	$1,57 \pm 0,02$	$14,88 \pm 0,21^{A;b;*}$	$2,78 \pm 0,03^{B;c;\alpha}$	$2,52 \pm 0,56^{BC;c;\alpha}$	$1,97 \pm 0,09^{C;b;\alpha}$
25-OH	$1,63 \pm 0,30$	$96,86 \pm 0,73^{A;a;*}$	$47,31 \pm 2,64^{B;b;\alpha;*}$	$48,89 \pm 7,13^{B;b;\alpha;*}$	$22,49 \pm 0,98^{C;b;\alpha;*}$
7α-OH	$5,42 \pm 0,22$	$28,14 \pm 0,62^{A;b;*}$	$5,03 \pm 0,04^{B;b;\alpha}$	$5,78 \pm 0,69^{B;b;\alpha}$	$5,61 \pm 0,28^{B;a;\alpha}$
7β-OH	-	-	-	-	-
7-ceto	$19,88 \pm 2,48$	$582,93 \pm 12,73^{A;a;*}$	$211,80 \pm 3,36^{B;b;\alpha;*}$	$165,05 \pm 16,57^{C;b;\alpha;*}$	$96,95 \pm 7,89^{D;c;\alpha;*}$
POCs totais	$40,69 \pm 2,26$	$821,05 \pm 13,77^{A;a;*}$	$294,56 \pm 4,29^{B;b;\alpha;*}$	$259,26 \pm 19,16^{C;b;\alpha;*}$	$150 \pm 10,94^{D;c;\alpha;*}$
Colesterol	$1038,41 \pm 4,51$	$426,21 \pm 5,84^{D;c;*}$	$732,20 \pm 2,01^{C;a;\alpha;*}$	$749,11 \pm 6,28^{B;b;\alpha;*}$	$892,77 \pm 0,46^{A;a;\alpha;*}$
Fogão					
	Cru	Controle	0,25% salsa	0,5% salsa	0,75% salsa
5,6α-EP	-	-	-	-	-
5,6β-EP	$13,09 \pm 0,12$	$66,75 \pm 4,11^{A;a;*}$	$39,78 \pm 3,44^{B;ab;*}$	$38,43 \pm 1,50^{B;a;*}$	$28,27 \pm 0,77^{C;a;*}$
20α-OH	$1,57 \pm 0,02$	$29,54 \pm 1,41^{A;a;*}$	$28,68 \pm 0,41^{A;a;*}$	$26,45 \pm 1,20^{A;a;*}$	$14,13 \pm 2,59^{B;a;\beta;*}$
25-OH	$1,63 \pm 0,30$	$31,70 \pm 0,72^{A;b;*}$	$23,84 \pm 4,08^{AB;c;\beta;*}$	$20,37 \pm 4,31^{B;c;\beta;*}$	$17,43 \pm 1,61^{B;c;\beta;*}$
7α-OH	$5,42 \pm 0,22$	$8,18 \pm 1,08^{A;c;*}$	$6,76 \pm 0,93^{AB;b;*}$	$5,23 \pm 1,05^{B;b;\beta}$	$5,28 \pm 0,19^{B;a;\beta}$
7β-OH	-	-	-	-	-
7-ceto	$19,88 \pm 2,48$	$174,90 \pm 8,99^{A;c;*}$	$159,33 \pm 1,14^{B;c;\beta;*}$	$155,95 \pm 2,67^{BC;b;\beta;*}$	$144,92 \pm 1,15^{C;b;\beta;*}$
POCs totais	$40,69 \pm 2,26$	$311,07 \pm 13,84^{A;b;*}$	$258,39 \pm 8,08^{B;c;\beta;*}$	$246,44 \pm 6,95^{B;b;\beta;*}$	$210,03 \pm 3,97^{C;b;\beta;*}$
Colesterol	$1038,41 \pm 4,51$	$751,55 \pm 1,20^{BC;a;*}$	$747,68 \pm 10,63^{C;a;*}$	$767,00 \pm 3,52^{AB;a;\beta;*}$	$771,32 \pm 4,38^{A;b;\beta;*}$
Micro-ondas					

	Cru	Controle	0,25% salsa	0,5% salsa	0,75% salsa
5,6α-EP	-	23,37 \pm 0,58 ^{A;b}	21,58 \pm 1,35 ^A	-	-
5,6β-EP	13,09 \pm 0,12	65,17 \pm 0,05 ^{A;a;*}	48,17 \pm 7,97 ^{B;a;δ;*}	29,21 \pm 3,75 ^{C;a;δ;*}	26,44 \pm 1,46 ^{C;a;δ;*}
20α-OH	1,57 \pm 0,02	30,60 \pm 0,10 ^{A;a;*}	17,10 \pm 1,80 ^{B;b;δ;*}	15,47 \pm 0,23 ^{BC;b;δ;*}	13,50 \pm 0,44 ^{C;a;δ;*}
25-OH	1,63 \pm 0,30	97,96 \pm 0,42 ^{A;a;*}	91,22 \pm 3,34 ^{B;a;δ;*}	72,55 \pm 0,70 ^{C;a;δ;*}	29,20 \pm 0,21 ^{D;a;δ;*}
7α-OH	5,42 \pm 0,22	34,59 \pm 0,92 ^{A;a;*}	15,10 \pm 1,01 ^{B;a;δ*}	10,62 \pm 0,58 ^{C;a;δ;*}	4,63 \pm 0,10 ^{D;b;δ;*}
7β-OH	-	4,04 \pm 0,94 ^A	1,66 \pm 0,17 ^{B;δ}	-	-
7-ceto	19,88 \pm 2,48	549,48 \pm 13,76 ^{A;b;*}	475,17 \pm 6,02 ^{B;a;δ;*}	349,97 \pm 0,80 ^{C;a;δ;*}	172,62 \pm 2,45 ^{D;a;δ;*}
POCs totais	40,69 \pm 2,26	805,21 \pm 14,50 ^{A;a;*}	670 \pm 8,77 ^{B;a;δ;*}	477,83 \pm 3,68 ^{C;a;δ;*}	232,89 \pm 1,27 ^{D;a;δ;*}
Colesterol	1038,41 \pm 4,51	642,60 \pm 7,85 ^{C;b;*}	651,74 \pm 13,69 ^{C;b;*}	675,07 \pm 4,63 ^{B;c;δ;*}	727,11 \pm 2,23 ^{A;c;δ;*}

5,6 α -EP = 5,6 α -epoxicolesterol; 5,6 β -EP = 5,6 β -epoxicolesterol; 20 α -OH = 20 α -hidroxicolesterol; 25-OH = 25-hidroxicolesterol; 7 α -OH = 7 α -hidroxicolesterol; 7 β -OH = 7 β -hidroxicolesterol; 7-ceto = 7-cetocolesterol. Resultados de análises realizadas em triplicatas, média \pm desvio padrão. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as porcentagens de salsa adicionadas para cada método de cocção pelo teste de Tukey. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os métodos de cocção considerando o mesmo percentual de adição da salsa pelo teste de Tukey. *Air fryer* - " α " indica diferença significativa em comparação com o "controle" pelo teste de Dunnett. Fogão - " β " indica diferença significativa em comparação com o "controle" pelo teste de Dunnett. Micro-ondas - " δ " indica diferença significativa em comparação com o "controle" pelo teste de Dunnett. "*" indica diferença significativa de qualquer amostra em comparação com o "cru".

O efeito do tratamento térmico foi evidenciado nas amostras cozidas (Tabela 5). O aquecimento reduziu significativamente ($p < 0,05$) os níveis de colesterol em 58,96% ($426,21 \pm 5,84$ mg/100 g), 38,12% ($642,60 \pm 7,85$ mg/100 g) e 27,63% ($751,55 \pm 1,20$ mg/100 g) após a cocção em *air fryer*, micro-ondas e fogão, respectivamente, revelando o maior impacto do *air fryer*. Embora inúmeros estudos tenham descrito a degradação do colesterol durante o cozimento em matrizes alimentares, poucos dados se referem à cocção de ovos. Zardetto, Barbanti e Rosato (2014) reportaram reduções variando de 16 a 25% nos teores de colesterol após o tratamento térmico de massas frescas contendo ovo líquido pasteurizado. Os conteúdos de colesterol de ovos preparados termicamente por fervura não sofreram alterações significativas após 5 minutos de cocção ($1557 - 1613$ mg/100 g), no entanto, reduções significantivas foram detectadas nos ovos cozidos por 10 e 20 minutos (1236 e 1210 mg/100 g, respectivamente) (INNOSA et al., 2019).

O colesterol é um composto bioquímico essencial comumente presente em alimentos de origem animal e que, devido sua estrutura química, é altamente susceptível a reações que acarretam na degradação do mesmo durante o tratamento térmico. Temperaturas elevadas induzem as diferentes rotas de degradação do colesterol, como a oxidação e a polimerização, resultando na formação de POCs, cetonas, aldeídos, hidrocarbonetos, álcoois e ácidos orgânicos voláteis (DEREWIAKA e MOLÍNSKA, 2015).

Embora os resultados apontem para a degradação térmica do colesterol nas amostras controle, a salsa apresentou um efeito protetor frente à degradação do mesmo. Os níveis de colesterol variaram da seguinte forma: de $732,20 \pm 2,01$ a $892,77 \pm 0,46$ mg/100 g (*air fryer*), de $747,68 \pm 10,63$ a $771,32 \pm 4,32 \pm 4,32$ 38 mg/100 g (fogão) e de $651,74 \pm 13,69$ a $727,11 \pm 2,23$ mg/100 g (micro-ondas) (Tabela 5), sendo a maior proteção observada nas amostras tratadas com a salsa na concentração de 0,75%. Em geral, quanto maior a concentração da erva, maior a sua eficácia.

Cinco óxidos de colesterol foram encontrados nas amostras cruas: 7-keto, 7α -OH, $5,6\beta$ -EP, 20α -OH e 25 -OH. O principal óxido detectado foi o 7-keto ($19,88 \pm 2,48$ μ g/g, base seca), seguido por $5,6\beta$ -EP ($13,09 \pm 0,12$ μ g/g, base seca) e 7α -OH ($5,42 \pm 0,22$ μ g/g, base seca), respectivamente (Tabela 5). A presença desses óxidos nas amostras cruas pode ser atribuída à formação dos mesmos por processos enzimáticos do metabolismo animal. Além de indicar a possível ocorrência de processos oxidativos antes mesmo das amostras serem utilizadas no experimento (MAZALLI e BRAGAGNOLO, 2009).

No entanto, o cozimento aumentou o nível de POCs totais de $40,69 \pm 2,26$ μ g/g (cru) para $821,05 \pm 13,77$ μ g/g (*air fryer*), $311,07 \pm 13,84$ μ g/g (fogão) e $805,21 \pm 14,50$ μ g/g (micro-ondas) nas amostras controle ($p < 0,05$). Além dos POCs identificados nas amostras cruas, óxidos como o $5,6\alpha$ -EP e o 7β -OH também foram detectados nas omeletes controle. A ausência desses compostos nas amostras cruas pode ser inerente à amostragem, uma vez que a composição lipídica de ovos é influenciada por inúmeros fatores (BATKOWSKA et al., 2021; PANAITTE et al., 2021).

O 7-keto foi o principal óxido identificado nas amostras controles, com conteúdos que variaram de acordo com o método de cozimento utilizado (Tabela 5). Os elevados teores de POCs também foram determinados pela formação de 25 -OH e $5,6\beta$ -EP. Além disso, o $5,6\alpha$ -EP só foi detectado após o tratamento em *air fryer* e micro-ondas. Assim como o 7β -OH foi encontrado exclusivamente em amostras preparadas no fogão.

A formação de POCs foi induzida principalmente pelo *air fryer* e micro-ondas, com incrementos de 95,05 e 94,95% nos teores de POCs totais, respectivamente, enquanto o preparo térmico em fogão aumentou o conteúdo de POCs totais em aproximadamente 87%. Assim, teores significativamente similares de POCs totais foram determinados nas amostras controles após o cozimento em *air fryer* e micro-ondas ($p > 0,05$).

A tecnologia do *air fryer* surgiu como uma alternativa para fritar alimentos sem a

utilização de óleo, já que neste equipamento o ar quente circula uniformemente ao redor do alimento formando características típicas de um alimento frito (FERREIRA et al., 2017; ZAGHI et al., 2019). No entanto, como demonstrado neste estudo, são necessárias condições mais extremas de processamento (220 °C/ 10 min, temperatura interna: 138 °C), resultando na maior degradação do colesterol. Também é importante considerar que o oxigênio presente no ar induz a oxidação, chamando a atenção para a maior exposição das amostras a este fator pró-oxidante devido ao ar circulante durante a cocção em *air fryer* (FERREIRA et al., 2017; DE CARVALHO et al., 2021).

O aquecimento de micro-ondas é um tipo de aquecimento dielétrico que não requer um meio de transferência de calor, o que ocorre então de forma mais homogênea e com maior velocidade (DE PILLI e ALESSANDRINO, 2020; KELLY e VO KIENTZA, 2021). As amostras preparadas em micro-ondas apresentaram menor temperatura interna (95 °C) quando comparadas com as amostras tratadas em *air fryer*. No entanto, faz-se necessário considerar que estes métodos apresentam diferentes mecanismos de transferência de calor que podem influenciar a formação de POCs de diferentes formas devido a complexidade das reações envolvidas na oxidação do colesterol (BARRIUSO, ANSORENA e ASTIASARÁN, 2017).

Quando comparado com o cozimento convencional com frigideira em fogão, que é o método mais tradicional usado para o preparo de omeletes, o micro-ondas e o *air fryer* apresentam vantagens práticas como o controle preciso de processos, a limpeza, a ausência de necessidade da presença humana durante o aquecimento, e outros (ZAGHI et al., 2019; KELLY e VO KIENTZA, 2021). Em contrapartida, o preparo térmico em fogão no presente estudo, com a menor temperatura interna (84 °C), foi o tratamento que induziu a formação de POCs de forma mais amena.

A oxidação do colesterol ocorre através de um mecanismo semelhante à auto-oxidação de ácidos graxos insaturados. Assim, a presença de uma ligação dupla entre os carbonos 5 e 6 facilita a abstração de hidrogênio ligado ao carbono 7, reduzindo a energia de ativação necessária e acarretando na formação de 7-keto, 7 α -OH e 7 β -OH (LENGYEL et al., 2012). De fato, o 7-ceto é considerado um marcador da oxidação do colesterol em alimentos, uma vez que é um dos POC mais representativos (> 30% do total de POCs) (SMITH, 1987; INNOSA et al., 2019).

A epoxidação também pode ocorrer e é associada a processos de oxidação pelo ar. No presente estudo, as amostras foram expostas ao oxigênio atmosférico e ao calor durante o cozimento. Assim, a formação de 5,6 β -EP também pode ser destacada. O β -epímero foi o epoxicolesterol predominante, o que pode ser atribuído ao impedimento estérico devido ao grupo hidróxi na posição 3. Além disso, os carbonos terciários C20 e C25 também são posições susceptíveis a oxidação, onde hidroperóxidos derivados da cadeia lateral podem formar 20-OH e 25-OH, respectivamente (SMITH, 1987; CHIEN, WANG E CHEN, 1998).

Estudos têm mostrado o impacto do aquecimento na formação de POCs em ovos. Níveis mais elevados de POCs, tais como 7-keto, 7 β -OH e 7 α -OH, foram determinados em ovos enriquecidos em ácidos graxos da série ômega 3 após a fervura e fritura (MAZALLI e BRAGAGNOLO, 2009; REN et al., 2013). Zardetto et al. (2014) mostraram que a concentração de POCs de massas preparadas com ovos pasteurizados aumentou de 66,44 μ g/g (cru) para 117,9 μ g/g após cozimento a 100 °C por 120 minutos. Amostras de biscoito formuladas com ovos tratados em spray-dryer apresentaram quantidades inferiores de POCs em comparação com as formuladas com ovos pasteurizados, uma vez que a tecnologia de secagem em spray-dryer reduziu a oxidação do colesterol 2,6 vezes em comparação com os ovos pasteurizados (VERARDO et al., 2020).

Em geral, esses estudos relataram níveis inferiores de POCs em relação ao presente estudo. Entretanto, a oxidação do colesterol é um processo dinâmico influenciado por inúmeros fatores, como a temperatura, o pH, o oxigênio, a luz, a presença de antioxidantes e

pró-oxidantes, e ocorre por caminhos distintos, resultando na formação de diferentes óxidos em diferentes concentrações (SMITH, 1987; BARRIUSO, ANSORENA e ASTIASARÁN, 2017).

A salsa foi eficaz na proteção do colesterol contra a oxidação, de forma que teores inferiores de POCs totais foram determinados nas amostras contendo a erva ($p < 0,05$) (Tabela 5). Os teores totais de POCs nas amostras adicionadas da salsa tratadas em *air-fryer* variaram de $150 \pm 10,94$ (0,75% de salsa) a $294,56 \pm 4,29$ $\mu\text{g/g}$ (0,25% de salsa). Em amostras preparadas no fogão, o tratamento com 0,75% de salsa apresentou o maior efeito protetor, reduzindo o teor total de POCs para $210,03 \pm 3,97$ $\mu\text{g/g}$. As amostras preparadas em micro-ondas adicionadas com salsa a 0,75% apresentaram $232,89 \pm 1,27$ $\mu\text{g/g}$ de POCs, enquanto um teor de $805,21 \pm 14,50$ $\mu\text{g/g}$ foi determinado na amostra controle. Assim, os incrementos nos níveis de POCs observados nas amostras onde houve a adição da salsa foram inferiores em relação aos tratamentos controles, principalmente quando a salsa foi adicionada na concentração de 0,75%: 72,88% (*air fryer*), 80,63% (fogão) e 82,53% (micro-ondas).

A salsa tem apresentado resultados promissores como antioxidante natural em alimentos (FERREIRA et al., 2017, 2022), podendo ser adicionada a diferentes produtos alimentícios para melhorar as propriedades antioxidantes e estender a vida útil dos mesmos (BADEE, SALAMA e KI, 2020; HUYNH, KRICKMEIER E SCHNAECKEL, 2020). Ademais, a salsa também tem mostrado efeitos conservantes de grande interesse para a indústria alimentícia quando incorporada as embalagens de alimentos (DORDEVIC et al., 2021).

Neste estudo, a salsa atuou como agente antioxidante minimizando a formação dos óxidos de colesterol. Uma vez que os ovos contêm elevados níveis de colesterol e são preparados termicamente para consumo, as omeletes são fontes potenciais de POCs exógenos, os quais são associados ao desenvolvimento de inúmeras doenças como consequência de seus efeitos citotóxicos, aterogênicos, neurodegenerativos, inflamatórios e cancerígenos (KLOUDOVA-SPALENKOVA et al, 2020; LIU et al., 2021; NURY et al., 2021). Assim, estratégias para minimizar a formação de POCs durante a preparação térmica são cruciais para manter a qualidade nutricional e a segurança no consumo de ovos e alimentos preparados com ovos.

3.2.4 Determinação dos compostos bioativos da salsa presentes nas amostras cozidas de omelete

Onze compostos bioativos foram identificados na salsa, mas nem todos foram detectados nas amostras de omelete após a cocção (Tabela 6).

Tabela 6: Comparação entre os compostos bioativos presentes no extrato da salsa e nas amostras de omelete.

Composto	Air fryer						Fogão			Micro-ondas			
	Salsa	Controle	0,25% salsa	0,5% salsa	0,75% salsa	Controle	0,25% salsa	0,5% salsa	0,75% salsa	Controle	0,25% salsa	0,5% salsa	0,75% salsa
Ácido cítrico (<i>m/z</i> 191)	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido málico (<i>m/z</i> 133)	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Apigenina 7-apiosilglicosídeo (<i>m/z</i> 563)	x	-	x	x	x	-	x	x	x	-	x	x	x
Ácido <i>p</i> -coumárico 4-O-hexosídeo (<i>m/z</i> 325)	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Diosmetina 7-apiosilglicosídeo (<i>m/z</i> 593)	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Quercetina-O-pentosil-hexosídeo (<i>m/z</i> 595)	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido <i>p</i> -coumárico (<i>m/z</i> 163)	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Apigenina-O-acetil-pentosil-hexosídeo (<i>m/z</i> 605)	x	-	x	x	x	-	x	x	x	-	x	x	x
Crisoeriol-7-O-malonilapiosilglicosídeo B (<i>m/z</i> 679)	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Derivado coumárico (<i>m/z</i> 471)	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Apigenina 7-glicosídeo (<i>m/z</i> 431)	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

“x” indica presença do composto bioativo na amostra correspondente. “-” indica ausência do composto bioativo na amostra correspondente.

Como esperado, as amostras controle não apresentaram os compostos encontrados na salsa, já que estas não foram adicionadas da erva. Entre os constituintes de salsa, apenas a apigenina 7-apiosilglicosídeo (m/z 563) e a apigenina-O-acetil-pentosil-hexosídeo (m/z 605) também foram detectadas nas omeletes contendo a erva, independentemente do método de cozimento aplicado e do nível de adição da salsa (Tabela 6). Tal fato indica a possível degradação térmica de outros compostos bioativos da salsa, que não foram encontrados nas omeletes adicionadas da salsa após o cozimento (Tabela 6).

Estudos anteriores mostraram os efeitos de diferentes métodos de coação em compostos bioativos presentes em materiais vegetais (WU et al., 2019; NAYEEM et al., 2021). Flavonoides e outros compostos encontrados na salsa são sensíveis a elevadas temperaturas, luz e oxigênio, e assim, podem se degradar durante o cozimento (IOANNOU, CHEKIR e GHOUL, 2020; DE CARVALHO et al., 2021). A degradação não ocorre apenas em função do método/condição de cozimento aplicado. A estrutura química de um composto também desempenha um papel fundamental em sua estabilidade térmica.

De acordo com da Costa et al. (2002), a rutina é mais estável que a quercetina devido a presença de um grupamento glicosil. Ioannou et al. (2020) avaliaram a degradação térmica de soluções modelo de flavonoides durante o aquecimento a 130 °C por 2 horas e mostraram que o eriodictilol foi completamente degradado, enquanto o teor de naringina (glicosídeo) foi reduzido apenas em 20%. Estes apontamentos podem explicar a identificação apenas da apigenina 7-apiosilglicosídeo e da apigenina-O-acetil-pentosil-hexosídeo nas amostras após o cozimento.

De fato, a degradação dos compostos bioativos abrange reações complexas que podem afetar o potencial antioxidante de diferentes maneiras. Portanto, estudos adicionais devem ser realizados a fim de melhor elucidar os mecanismos envolvidos na estabilidade térmica e, conseqüentemente, na termo-degradação de cada composto em questão.

Além disso, sistemas alimentares, como omeletes, apresentam diferentes constituintes que podem interagir com os compostos bioativos de maneiras distintas (Olszowy-Tomczyk, 2020). Assim, a interação dos constituintes da salsa e da omelete pode influenciar e dificultar a extração dos compostos da erva. De fato, a facilidade de extração depende da ligação dos componentes da erva à matriz alimentar. Outro ponto relevante em relação à extração de um composto é sua hidrofobicidade/lipofobicidade, que pode afetar sua solubilidade e extração (RAJBHAR, DAWDA e MUKUNDAN, 2015). Portanto, em matrizes alimentares complexas, é importante considerar como as interações formadas podem alterar esses parâmetros. Além disso, como os compostos diferem em tamanho molecular, polaridade e solubilidade, cada constituinte da salsa pode apresentar um comportamento diferente, o que também destaca a necessidade de estudos futuros acerca dos compostos identificados neste trabalho.

3.3 Análise dos Componentes Principais e mapa de calor

Os dois primeiros componentes principais explicam 78,2% da variabilidade dos dados (Dim 1: 59,5 %, Dim 2: 18,7 %) (Figuras 1a e 1b), o que representa de forma adequada a variância dos dados experimentais.

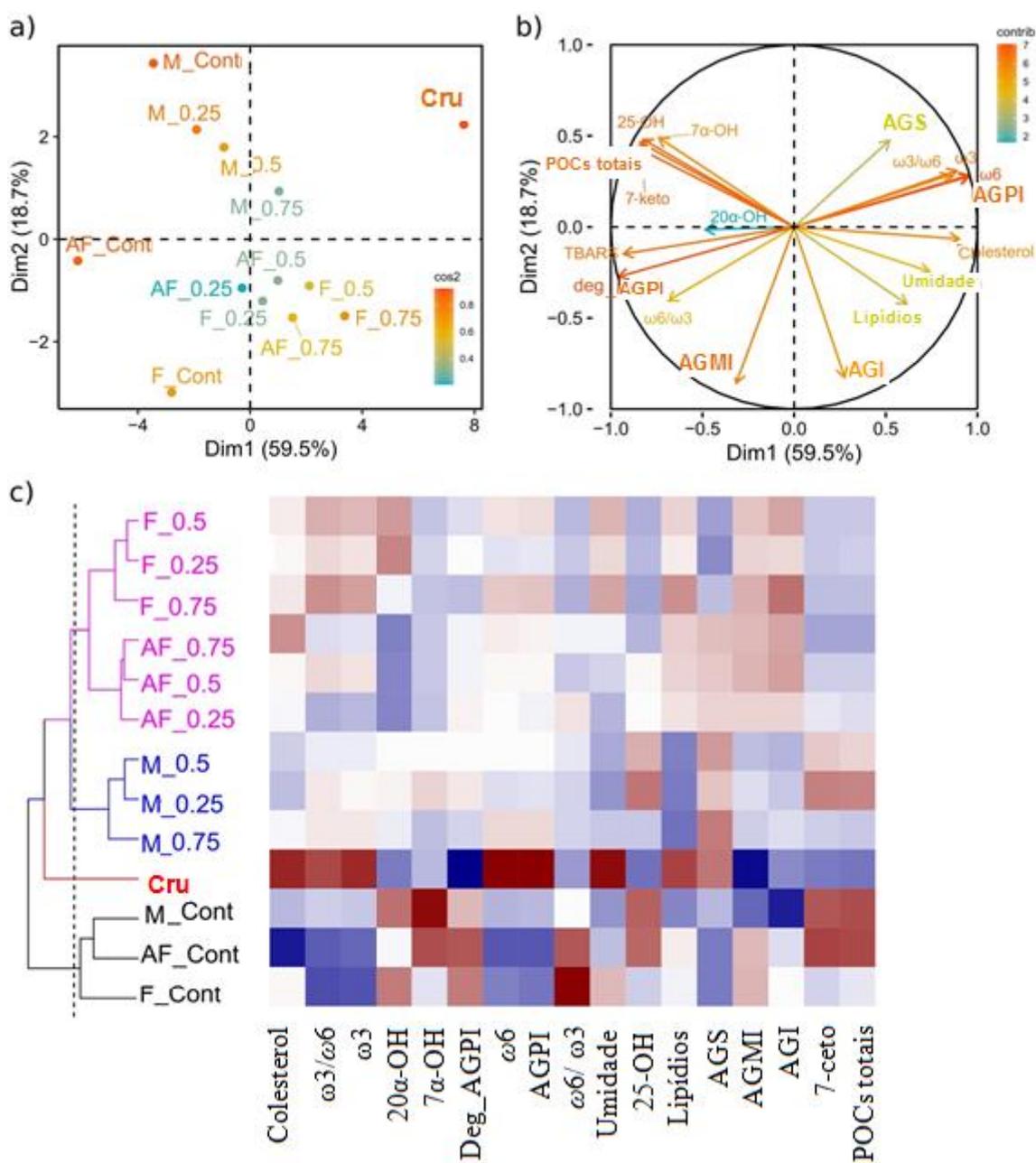


Figura 1: Análise multivariada. Análise dos Componentes Principais para os tratamentos (a) e variáveis (b). Mapa de calor (c). AF = *Air fryer*; M = micro-ondas; F = fogão; Cont = controle; AGS = ácido graxo saturado; AGMI = ácido graxo monoinsaturado; AGPI = ácido graxo poli-insaturado; AGI = ácido graxo insaturado; deg_AGPI = degradação de AGPI; POCs = produtos da oxidação do colesterol. Os valores 0,25, 0,5 e 0,75 representam os diferentes níveis de adição da salsa.

As amostras controle apresentaram os maiores valores para indicadores da oxidação de colesterol, tais como 25-OH, 7 α -OH, POCs totais e 7-ceto, em comparação com as amostras adicionadas da salsa, o que foi menos proeminente nas amostras preparadas em fogão. Por outro lado, amostras contendo 0,25, 0,5 e 0,75% de salsa preparadas no *air fryer* e no fogão apresentaram teores superiores de colesterol, sugerindo o efeito protetor da erva frente à

degradação do colesterol (Figuras 1a, 1b e 1c).

A Figura 1c apresenta quatro grupos formados de acordo com suas semelhanças. Todas as amostras controle foram agrupadas em um grupo único (em preto), que apresentou teores reduzidos de colesterol e ácidos graxos das séries ômega 3 e 6. Estas amostras também apresentaram níveis elevados de POCs totais, 25-OH e 7 α -OH, assim como elevados percentuais de degradação de AGPIs. Outro grupo (em vermelho) apresentou apenas a amostra crua, indicando sua composição distinta (conteúdos elevados de colesterol e AGPIs, bem valores inferiores para a degradação de AGPIs e o teor de POCs totais). Por fim, outros dois grupos foram compostos por amostras tratadas com a salsa: um grupo composto pelas amostras preparadas em micro-ondas (azul) e um grupo contendo as amostras preparadas no fogão (rosa).

Os diferentes grupos formados destacam tanto o impacto dos métodos de cocção na composição lipídica das amostras quanto o efeito protetor da salsa frente à oxidação, o que também é demonstrado pela ampla variação de cor observada no mapa de calor (Figura 1c) em relação aos diferentes tipos de amostras (cru, controles e amostras contendo a salsa). A adição da salsa resultou em valores significativamente diferentes para a maioria dos parâmetros avaliados em relação às amostras controle, indicando o efeito da mesma como antioxidante natural no presente estudo.

4 CONCLUSÃO

As análises de UHPLC-ESI-MS detectaram a presença de compostos bioativos como ácidos fenólicos e seus derivados (ácido *p*-coumárico, ácido *p*-coumárico 4-O-hexosídeo), flavonoides (apigenina 7-glicosídeo, apigenina 7-apiosilglicosídeo, diosmetina 7-apiosilglicosídeo, crisoeriol-7-O-malonilapiosilglicosídeo B) e ácidos orgânicos (ácidos cítrico e málico), o que pode explicar a capacidade antioxidante observada na salsa. Os tratamentos em *air fryer*, fogão e micro-ondas induziram a oxidação lipídica nas amostras, aumentando os teores de POCs nas omeletes. A formação de POCs foi mais proeminente nas amostras preparadas em *air fryer* e micro-ondas, onde condições de processamento mais extremas foram empregadas e temperaturas internas mais elevadas foram determinadas nas amostras. No entanto, a salsa minimizou a oxidação do colesterol, principalmente quando adicionada na concentração de 0,75%. Em geral, quanto maior o nível de adição da salsa, maior o efeito protetor da mesma. Apenas dois compostos bioativos da salsa (apigenina 7-apiosilglicosídeo e apigenina-O-acetil-pentosil-hexosídeo) foram encontrados nas omeletes contendo a erva após a cocção, indicando a degradação de outros constituintes da salsa e maior dificuldade em extrair estes compostos na matriz alimentar. Assim, o emprego da salsa mostrou ser uma estratégia promissora para minimizar a oxidação lipídica e do colesterol durante o preparo térmico de omeletes por diferentes métodos de cocção. No entanto, outros estudos devem ser realizados a fim de avaliar diferentes níveis de adição e os aspectos sensoriais envolvidos.

5 REFERÊNCIAS

- ABDALLA, M. A.; OCHI, Erneo B. Effect of laying hen's age and oviposition time on egg cholesterol contents. **Science Letters**, v. 6, n. 1, p. 42-46, 2018.
- AFRAZ, Muhammad Talha et al. Impact of novel processing techniques on the

functional properties of egg products and derivatives: A review. **Journal of Food Process Engineering**, v. 43, n. 12, p. e13568, 2020.

AL JUHAIMI, Fahad; USLU, Nurhan; ÖZCAN, Mehmet Musa. Oil content and fatty acid composition of eggs cooked in drying oven, microwave and pan. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 1, p. 93-97, 2017.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC N° 216, de 15 de setembro de 2004. Regulamento Técnico de Boas Práticas de Serviço de Alimentação. Disponível em: <https://www.saude.al.gov.br/wp-content/uploads/2020/06/RDC-N%C2%B0-216-ANVISA-Ag%C3%Aancia-Nacional-de-Vigil%C3%A2ncia-Sanit%C3%A1ria.pdf>. Acesso em: 8 fevereiro 2022.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. Washington, 2006.

ARAVIND, S. Mithul et al. Role of dietary polyphenols on gut microbiota, their metabolites and health benefits. **Food Research International**, v. 142, p. 110189, 2021.

ATTIA, Youssef A. et al. Fatty acid and cholesterol profiles and hypocholesterolemic, atherogenic, and thrombogenic indices of table eggs in the retail market. **Lipids in Health and Disease**, v. 14, n. 1, p. 1-8, 2015.

BADEE, A. Z. M.; SALAMA, Nadia AE; KI, Menna Allah. Utilization of dried parsley leaves (*Petroselinum crispum*) and their essential oil for extending shelf life of beef burger. **Carpathian Journal of Food Science & Technology**, v. 12, n. 4, 2020.

BARRIUSO, Blanca; ANSORENA, Diana; ASTIASARÁN, Iciar. Oxysterols formation: A review of a multifactorial process. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 169, p. 39-45, 2017.

BATKOWSKA, Justyna et al. Fatty acids profile, cholesterol level and quality of table eggs from hens fed with the addition of linseed and soybean oil. **Food Chemistry**, v. 334, p. 127612, 2021.

BERGANTIN, Caterina et al. Bioaccessibility and HPLC-MS/MS chemical characterization of phenolic antioxidants in Red Chicory (*Cichorium intybus*). **Journal of Functional Foods**, v. 33, p. 94-102, 2017.

CHIEN, J. T.; WANG, H. C.; CHEN, B. H. Kinetic model of the cholesterol oxidation during heating. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 7, p. 2572-2577, 1998.

CHUDY, Sylwia; TEICHERT, Joanna. Oxysterols in stored powders as potential health hazards. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1-8, 2021.

CORTINAS, Lucía et al. Change in α -tocopherol contents, lipid oxidation and fatty acid profile in eggs enriched with linolenic acid or very long-chain ω 3 polyunsaturated fatty acids after different processing methods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, n. 8, p. 820-829, 2003.

DA COSTA, Everaldo Moreira et al. Thermal characterization of the quercetin and rutin flavonoids. **Thermochimica Acta**, v. 392, p. 79-84, 2002.

D'AMELIA, Vincenzo et al. The antioxidant properties of plant flavonoids: their exploitation by molecular plant breeding. **Phytochemistry Reviews**, v. 17, n. 3, p. 611-625, 2018.

DE CARVALHO, Isabella Oliveira Alves Moreira et al. The use of lemon juice and its role on polyunsaturated fatty acids and cholesterol oxides formation in thermally prepared sardines. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 104, p. 104087, 2021.

DE OLIVEIRA, Vanessa Sales et al. Effect of aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) fruit against polyunsaturated fatty acids and cholesterol thermo-oxidation in model systems containing sardine oil (*Sardinella brasiliensis*). **Food Research International**, v. 132, p. 109091, 2020.

DE PILLI, Teresa; ALESSANDRINO, Ofelia. Effects of different cooking technologies on biopolymers modifications of cereal-based foods: Impact on nutritional and quality characteristics review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 4, p. 556-565, 2020.

DEREWIAKA, D.; MOLÍŃSKA, E. Cholesterol transformations during heat treatment. **Food Chemistry**, v. 171, p. 233-240, 2015.

DOBRIČEVIĆ, Nadica et al. Bioactive compounds content and nutritional potential of different parsley parts (*Petroselinum crispum* Mill.). **Journal of Central European Agriculture**, v. 20, n. 3, p. 900-910, 2019.

DORDEVIC, Simona et al. Incorporation of Natural Blueberry, Red Grapes and Parsley Extract By-Products into the Production of Chitosan Edible Films. **Polymers**, v. 13, n.19, p. 3388, 2021.

DOUNY, Caroline et al. Effect of storage and cooking on the fatty acid profile of omega-3 enriched eggs and pork meat marketed in Belgium. **Food Science & Nutrition**, v. 3, n. 2, p. 140-152, 2015.

DROUIN-CHARTIER, Jean-Philippe et al. Egg consumption and risk of cardiovascular disease: three large prospective US cohort studies, systematic review, and updated meta-analysis. **Bmj**, v. 368, 2020.

EMBUSCADO, Milda E. Bioactives from culinary spices and herbs: a review. **Journal of Food Bioactives**, v. 6, 2019.

EPIFANIO, Neide Mara Menezes et al. Chemical characterization and *in vivo* antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) aqueous extract. **Food & Function**, v. 11, n. 6, p. 5346-5356, 2020.

ERTEKIN, Filiz Bilge et al. Antioxidant activity and phenolic acid content of selected vegetable broths. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 35, n. 6, p. 469-475, 2017.

FERREIRA, Fernanda S. et al. Impact of air frying on cholesterol and fatty acids oxidation in sardines: Protective effects of aromatic herbs. **Journal of Food Science**, v. 82, n. 12, p. 2823-2831, 2017.

FERREIRA, Fernanda Silva et al. Bioactive compounds of parsley (*Petroselinum crispum*), chives (*Allium schoenoprasum* L) and their mixture (Brazilian cheiro-verde) as promising antioxidant and anti-cholesterol oxidation agents in a food system. **Food Research International**, v. 151, p. 110864, 2022.

FRATTANI, Flávia Serra et al. Oral treatment with a chemically characterized parsley (*Petroselinum crispum* var. *neapolitanum* Danert) aqueous extract reduces thrombi formation in rats. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 11, n. 3, p. 287-291, 2021.

GODARZI, Shahin Mozaffari et al. Antioxidant effect of p-coumaric acid on interleukin 1- β and tumor necrosis factor- α in rats with renal ischemic reperfusion. **Nefrologia**, v. 40, n. 3, p. 311-319, 2020.

HUYNH, Do Bao Tam; KRICKMEIER, Janet; SCHNAECKEL, Wolfram. Effects of treatment temperatures on redox potential and sensory evaluation of different spices and herbs applied to cooked pork sausages. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n.7, p. 2898-2904, 2020.

INNOSA, Denise et al. High temperature and heating effect on the oxidative stability of dietary cholesterol in different real food systems arising from eggs. **European Food Research and Technology**, v. 245, n. 7, p. 1533-1538, 2019.

IOANNOU, Irina; CHEKIR, Leila; GHOUL, Mohamed. Effect of heat treatment and light exposure on the antioxidant activity of flavonoids. **Processes**, v. 8, n. 9, p. 1078, 2020.

JADCZAK, Dorota et al. Yield and biological properties of leaf parsley (*Petroselinum crispum* (Mill.) Nym. Ex AW Hillc *Convar. crispum*). **Journal of Elementology**, v. 24, n. 2,

2019.

KAISER, Andrea; CARLE, Reinhold; KAMMERER, Dietmar R. Effects of blanching on polyphenol stability of innovative paste-like parsley (*Petroselinum crispum* (Mill.) Nym exAW Hill) and marjoram (*Origanum majorana* L.) products. **Food Chemistry**, v. 138, n. 2-3, p. 1648-1656, 2013.

KELLY, Alan L.; VO KIENTZA, Hervé This. Microwave Heating and Modern Cuisine. In: **Handbook of Molecular Gastronomy**. CRC Press, 2021. p. 429-432.

KLOUDOVA-SPALENKOVA, Alzbeta et al. Plasma oxysterol levels in luminal subtype breast cancer patients are associated with clinical data. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 197, p. 105566, 2020.

LENGYEL, Jozef et al. Oxidation of sterols: Energetics of C–H and O–H bond cleavage. **Food Chemistry**, v. 133, n. 4, p. 1435-1440, 2012.

LIU, Yan et al. Dietary cholesterol oxidation products: Perspectives linking food processing and storage with health implications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 21, n. 1, p. 738-779, 2022.

MA, Zhili et al. Daily intake of up to two eggs for 11 weeks does not affect the cholesterol balance of Chinese young adults. **Food Science & Nutrition**, v. 10, n. 4, p. 1081-1092, 2022.

MARVENTANO, Stefano et al. Egg consumption and human health: an umbrella review of observational studies. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 71, n. 3, p. 325-331, 2020.

MAZALLI, Mônica Roberta; BRAGAGNOLO, Neura. Increase of cholesterol oxidation and decrease of PUFA as a result of thermal processing and storage in eggs enriched with n-3 fatty acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 11, p. 5028-5034, 2009.

MAZZUCOTELLI, Cintia A. et al. Chemical characterization and functional properties of selected leafy vegetables for innovative mixed salads. **Journal of Food Biochemistry**, v. 42, n. 1, p. e12461, 2018.

MILLER, H. E. A simplified method for the evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 48, n. 2, p. 91-91, 1971.

MINDA, Daliana et al. An in vitro evaluation of apigenin and apigenin-7-o-glucoside against hela human cervical cancer cell line. **Revista de Chimie**, v. 71, n. 2, p. 140-144, 2020.

MURCIA, M. Antonia et al. Proximate composition and vitamin E levels in egg yolk: losses by cooking in a microwave oven. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, n. 12, p. 1550-1556, 1999.

NAYEEM, Safia et al. Effects of cooking on phytochemical and antioxidant properties of pigmented and non-pigmented rare Indian rice landraces. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 32, p. 101928, 2021.

NURY, Thomas et al. Oxiaoptophagy: A type of cell death induced by some oxysterols. **British journal of pharmacology**, v. 178, n. 16, p. 3115-3123, 2021.

OLSZOWY-TOMCZYK, Małgorzata. Synergistic, antagonistic and additive antioxidant effects in the binary mixtures. **Phytochemistry Reviews**, v. 19, n. 1, p. 63-103, 2020.

OU, Boxin; HAMPSCH-WOODILL, Maureen; PRIOR, Ronald L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 10, p. 4619-4626, 2001.

PANAITE, Tatiana D. et al. Effects of linseed meal and carotenoids from different sources on egg characteristics, yolk fatty acid and carotenoid profile and lipid

peroxidation. **Foods**, v. 10, n. 6, p. 1246, 2021.

PONTIFEX, Matthew G. et al. Citrus polyphenols in brain health and disease: current perspectives. **Frontiers in Neuroscience**, v. 15, p. 640648, 2021.

PROCHÁZKOVÁ, Dagmar; BOUŠOVÁ, I.; WILHELMOVÁ, N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. **Fitoterapia**, v. 82, n. 4, p. 513-523, 2011.

RAJBHAR, K.; DAWDA, H.; MUKUNDAN, U. Polyphenols: methods of extraction. **Scientific Reviews & Chemical Communications**, 5 (1), 1-6. 2015.

RÉHAULT-GODBERT, Sophie; GUYOT, Nicolas; NYS, Yves. The golden egg: nutritional value, bioactivities, and emerging benefits for human health. **Nutrients**, v. 11, n. 3, p. 684, 2019.

REN, Yuan et al. Oxidative stability of omega-3 polyunsaturated fatty acids enriched eggs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 47, p. 11595-11602, 2013.

RUFINO, Maria do Socorro M et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010.

SALDANHA, Tatiana et al. HPLC separation and determination of 12 cholesterol

oxidation products in fish: comparative study of RI, UV, and APCI-MS detectors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 12, p. 4107-4113, 2006.

SASS, Carla Araujo Brito et al. Exploring social media data to understand consumers' perception of eggs: A multilingual study using Twitter. **Journal of Sensory Studies**, v. 35, n. 6, p. e12607, 2020.

SCAPIN, G. et al. Phenolics compounds, flavonoids and antioxidant activity of chia seed extracts (*Salvia hispanica*) obtained by different extraction conditions. **International Food Research Journal**, v. 23, n. 6, 2016.

SĘCZYK, Łukasz et al. Effect of fortification with parsley (*Petroselinum crispum* Mill.) leaves on the nutraceutical and nutritional quality of wheat pasta. **Food Chemistry**, v. 190, p. 419-428, 2016.

SHARIFI-RAD, Javad et al. Diet, lifestyle and cardiovascular diseases: linking pathophysiology to cardioprotective effects of natural bioactive compounds. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 7, p. 2326, 2020.

SLIMESTAD, Rune; FOSSEN, Torgils; BREDE, Cato. Flavonoids and other phenolics in herbs commonly used in Norwegian commercial kitchens. **Food Chemistry**, v. 309, p. 125678, 2020.

SMITH, L. L. Cholesterol autoxidation. **Chemical Physical Lipids**, v. 44, p. 44-125, 1987.

SU, Yujie et al. Characterization of salted egg yolk flavoring prepared by enzyme hydrolysis and microwave irradiation. **Food Chemistry**, v. 338, p. 127913, 2021.

SWAM, T.; HILLIES, W. E. The Phenolic constituents of *Pruniss domestica*. The quantitative analysis of phenolic compounds. **Journals of Sciences of Food and Agriculture**, v. 10, n. 1, p. 63-68, 1959.

TANG, Dengyu et al. Comparison of the edible quality of liquid egg with different cooking methods and their antioxidant activity after in vitro digestion. **Food Research International**, v. 140, p. 110013, 2021.

TIVERON, Ana P. et al. Antioxidant activity of Brazilian vegetables and its relation with phenolic composition. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 7, p. 8943-8957, 2012.

VERARDO, Vito et al. Effect of different egg products on lipid oxidation of

biscuits. **Foods**, v. 9, n. 11, p. 1714, 2020.

WU, Xianli et al. Effects of domestic cooking on flavonoids in broccoli and calculation of retention factors. **Heliyon**, v. 5, n. 3, p. e01310, 2019.

XIAO, Nanhai et al. Biological activities of egg yolk lipids: A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 7, p. 1948-1957, 2020.

YANG, Bao et al. New insights on bioactivities and biosynthesis of flavonoid glycosides. **Trends in Food Science & Technology**, v. 79, p. 116-124, 2018.

ZAGHI, Aline Nalon et al. Frying process: From conventional to air frying technology. **Food Reviews International**, v. 35, n. 8, p. 763-777, 2019.

ZARDETTO, Stefano; BARBANTI, Davide; DALLA ROSA, Marco. Formation of cholesterol oxidation products (COPs) and loss of cholesterol in fresh egg pasta as a function of thermal treatment processing. **Food Research International**, v. 62, p. 177-182, 2014.

ZEB, Alam. Phenolic Antioxidants in Herbs and Spices. In: **Phenolic Antioxidants in Foods: Chemistry, Biochemistry and Analysis**. Springer, Cham, 2021. p. 225-238.

ZHU, Xiangqian et al. A comparison of selected methods for determining eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in cereal-based foods. **Food Chemistry**, v. 125, n. 4, p. 1320-1327, 2011.

CAPÍTULO II

POTENCIAL DE ERVAS CULINÁRIAS (MANJERICÃO E ORÉGANO) FRENTE À DEGRADAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS POLI- INSATURADOS E A FORMAÇÃO DE ÓXIDOS DE COLESTEROL EM OMELETES PREPARADAS POR DIFERENTES MÉTODOS DE COCCÃO

Capítulo referente ao artigo em preparação para envio a revista Food Chemistry

ABSTRACT

This study characterized the bioactive composition and antioxidant potential of basil (*Ocimum basilicum* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.), revealing constituents such as phenolic acids (*p*-hydroxybenzoic acid, vanillic acid, caffeic acid) and flavonoids (cirsilineol) by UHPLC-ESI-MS. The effects of these herbs against lipid and cholesterol oxidation during the thermal preparation of omelets (air frying, pan frying, and microwaving) were also investigated. Cooking induced oxidative processes resulting in the degradation of polyunsaturated fatty acids and the formation of cholesterol oxidation products (COPs). The total contents of COPs increased after cooking, mainly in air-fried and microwaved samples. However, the addition of herbs effectively reduced cholesterol oxides formation, principally when the herbs were added at the concentration of 0.75%. For the treatments with 0.75%, oregano was the most effective herb against cholesterol oxidation during air frying, while basil showed a high potential to reduce COPs formation in microwaved samples ($p < 0.05$). Similar protective effects were determined for both herbs in pan-fried samples ($p > 0.05$). UHPLC-ESI-MS analyses revealed the possible thermal degradation of oregano and basil's constituents since not all the compounds identified in the herbs were found in the omelet samples that contained the herbs after cooking. However, as oregano and basil reduced the formation of COPs, this research highlights them as potential natural anti-cholesterol oxidation agents in eggs, which contributes to the health public field in terms of COPs-consumption reductions.

Keywords: Lamiaceae, culinary herbs, bioactive compounds, natural antioxidants, cooking, cholesterol oxides.

RESUMO

Este estudo caracterizou a composição bioativa e o potencial antioxidante do manjericão (*Ocimum basilicum* L.) e do orégano (*Origanum vulgare* L.), revelando constituintes como ácidos fenólicos (ácido *p*-hidroxibenzoico, ácido vanílico, ácido cafeico) e flavonoides (cirsilineol) por UHPLC-ESI-MS. Os efeitos destas ervas frente à oxidação lipídica e do colesterol durante o preparo térmico de omeletes (*air fryer*, fogão e micro-ondas) também foram investigados. A cocção induziu os processos oxidativos resultando na degradação de ácidos graxos poli-insaturados e na formação de produtos da oxidação do colesterol (POCs). Os teores totais de POCs aumentaram após o cozimento, principalmente nas amostras tratadas em *air fryer* e micro-ondas. Entretanto, a adição das ervas reduziu efetivamente a formação dos óxidos de colesterol, sobretudo quando as ervas foram adicionadas na concentração de 0,75%. Para os tratamentos com 0,75%, o orégano foi a erva mais eficaz frente à oxidação do colesterol durante a cocção em *air fryer*, enquanto o manjericão apresentou maior potencial para reduzir a formação de POCs nas amostras tratadas em micro-ondas ($p < 0,05$). Efeitos protetores similares foram determinados para ambas as ervas em amostras preparadas no fogão ($p > 0,05$). As análises de UHPLC-ESI-MS revelaram a possível degradação dos constituintes do manjericão e do orégano, visto que nem todos os compostos identificados nas ervas foram encontrados nas amostras de omelete que continham as ervas após a cocção. Entretanto, como o orégano e o manjericão reduziram a formação de POCs, esta pesquisa destaca estas ervas como potenciais agentes naturais frente à oxidação do colesterol em ovos, o que contribui para a área de saúde pública em termos de redução do consumo de POCs.

Palavras-chave: Lamiaceae, ervas culinárias, compostos bioativos, antioxidantes naturais, cocção, óxidos de colesterol.

1 INTRODUÇÃO

O colesterol é o principal constituinte lipídico das células mamíferas e apresenta múltiplas funções biológicas. Além de precursor de hormônios esteroides, vitamina D e ácidos biliares, o colesterol também atua na modulação de funções da membrana celular (MALDONADO-PEREIRA et al., 2018; AGUILAR-BALLESTER et al., 2020). Em relação às fontes de colesterol, este é sintetizado endogenamente no organismo e pode ser absorvido por meio da dieta a partir de alimentos de origem animal (AGUILAR-BALLESTER et al., 2020; LIU et al., 2022). Devido à sua estrutura química, o colesterol é altamente susceptível aos processos oxidativos. A oxidação do colesterol em alimentos ocorre via auto-oxidação, mecanismo que envolve reações em cadeia de radicais livres e resulta na formação de produtos da oxidação de colesterol (POCs), os quais também são conhecidos como óxidos de colesterol (SMITH, 1987; HUR, PARK e JOO, 2007).

Embora os POCs endógenos apresentem funcionalidades biológicas no corpo humano, os óxidos de colesterol adquiridos pela dieta são comumente associados a patologias como doenças cardiovasculares e neurodegenerativas, degeneração macular relacionada à idade, morte celular e inflamações (MALDONADO-PEREIRA et al., 2018; KLOUDOVA-SPALENKOVA et al., 2020; STAURENGHI et al., 2021; LIU et al., 2022). Portanto, como os óxidos de colesterol podem ser absorvidos dos alimentos para a corrente sanguínea e acumular em órgãos e tecidos humanos, a formação de POCs durante o processamento e armazenamento de alimentos, mesmo nos preparos domésticos, representa uma preocupação concreta para a saúde pública (GARCIA-LLATAS et al., 2021).

Os ovos são fontes de nutrientes que se destacam como componentes básicos de uma dieta saudável, uma vez que seus constituintes apresentam atividades biológicas notáveis (RONDONI, ASIOLI e MILLAN, 2020; SASS et al., 2020). São economicamente acessíveis e apresentam características de elevado interesse ao consumidor, como a praticidade e a versatilidade. Os ovos estão amplamente presentes nas refeições diárias. Ademais, fazem parte da formulação de diversos alimentos processados, como biscoitos, bolos, massas e molhos, e são considerados ingredientes indispensáveis para inúmeras preparações culinárias (HATTA, 2018; SASS et al., 2020).

No entanto, os ovos são uma das principais fontes de colesterol dietético e também podem ser fontes potenciais de POCs (INNOSA et al., 2019; VERARDO et al., 2020). O colesterol é susceptível a oxidação quando exposto à luz, oxigênio e elevadas temperaturas (BARRIUSO, ANSORENA e ASTIASARÁN, 2017). Assim, a formação de POCs é induzida durante o preparo térmico doméstico de ovos, o processamento de alimentos contendo ovos e a aplicação de processos industriais em ovos, como a secagem (REN et al., 2013; MATUMOTO-PINTRO et al., 2017; VERARDO et al., 2020). Desta forma, devido ao impacto dos POCs exógenos na saúde é fundamental controlar as reações oxidativas na molécula do colesterol, o que pode ser alcançado por meio de estratégias como a adição de antioxidantes (DE OLIVEIRA et al., 2018). Os ovos contêm antioxidantes como tocoferóis e carotenoides que podem ser degradados durante o aquecimento (NIMALARATNE, SCHIEBER e WU, 2016). Portanto, deve-se considerar a adição de fontes extras de compostos antioxidantes (EMBUSCADO, 2019; IVANIŠOVÁ et al., 2021).

A família Lamiaceae é composta por mais de 7.000 espécies distribuídas em todo o mundo, as quais, em sua maioria, são utilizadas como ervas culinárias para melhorar o aroma, a cor e o sabor dos alimentos, bem como plantas medicinais na tradição popular (NAPOLI, SIRACUSA e RUBERTO, 2020; ABDELHALIM e HANRAHAN, 2021). Além disso, as plantas da família Lamiaceae, como o manjericão (*Ocimum basilicum* L.) e o orégano

(*Origanum vulgare* L.), são extensivamente estudadas devido à rica composição em fitoquímicos antioxidantes (ácidos fenólicos, flavonoides, carotenoides, terpenos, dentre outros), sugerindo a valorização destas ervas como alimentos promovedores de saúde e com potencial para atuar como conservantes naturais em produtos alimentícios (CHINPRAHAST et al., 2018; SLIMESTAD, FOSSEN e BREDE, 2020; ZENGIN et al., 2020; ABIDOYE et al., 2022; GÖK et al., 2022).

Estudos anteriores demonstraram a eficácia do manjericão e do orégano como antioxidantes em sistemas alimentares (CHINPRAHAST et al., 2018; FERNANDES et al., 2018; ALEXANDRE et al., 2021; ABIDOYE et al., 2022). Entretanto, não há relatos de pesquisas acerca do emprego dos mesmos como inibidores da oxidação do colesterol. Portanto, visto a importância dos ovos para a dieta humana e as preocupações relacionadas à ingestão de POCs, este estudo teve como objetivo avaliar o potencial do manjericão e do orégano (0,25, 0,5 e 0,75%) frente à oxidação do colesterol em omeletes preparadas em *air fryer*, micro-ondas e fogão. Uma vez que a oxidação do colesterol ocorre através de um mecanismo semelhante à auto-oxidação de ácidos graxos insaturados, a degradação dos ácidos graxos poli-insaturados (AGPIs) também foi considerada. Ademais, as ervas foram caracterizadas quanto à capacidade antioxidante, e análises de UHPLC-ESI-MS foram realizadas nas ervas e nas amostras de omelete a fim de determinar os compostos presentes em cada erva que poderiam contribuir para seu efeito protetor.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Reagentes, solventes e padrões

Os reagentes utilizados no experimento foram: tricloreto de alumínio, quercetina, ácido gálico, 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico (Trolox), 2,2-difenil-1-picril-hidraliza (DPPH), reagente de Folin–Ciocalteu, ácido linoleico, β -caroteno, Tween-40, butilidroxitolueno (BHT) e metóxido de sódio (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), assim como a fluoresceína e o 2,2'-azo-bis(2-amidinopropano) diidrocloro (AAPH) (Merck, Darmstadt, Alemanha). Todos os outros reagentes usados foram obtidos da Vetec (São Paulo, Brasil). Para as análises cromatográficas foram utilizados os seguintes solventes de grau cromatográfico: ácido fórmico (Synth, São Paulo, Brasil), hexano (Scharlau, Barcelona, Espanha), acetonitrila (Merck, Darmstadt, Alemanha) e 2-propanol (St. Louis, MO, USA). O éster metílico do ácido undecanóico foi adquirido da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) e o FAME mix de ácidos graxos da Supelco (Supelco TM FAME Mix 18919, Bellefonte, PA, USA). Os padrões de colesterol e dos óxidos de colesterol (20 α -hidroxicolesterol, 25-hidroxicolesterol, 7-cetocolesterol, 7 α -hidroxicolesterol, 7 β -hidroxicolesterol, 5,6 α -epoxicolesterol e 5,6 β -epoxicolesterol) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

2.2 Ervas

As amostras orgânicas de manjericão (*Ocimum basilicum* L.) e orégano (*Origanum vulgare* L.) foram doadas por um produtor local da cidade de Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil (latitude 22°76'19.31"S; longitude 43°67'16.99"W). As amostras frescas,

aproximadamente 1 kg de cada erva, foram coletadas em setembro de 2020. Foram preparadas exsiccatas dos materiais vegetais para o registro e tombamento no Herbário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, onde os comprovantes dos espécimes foram depositados: RBR 45091 e RBR 56083 para o manjeriço e o orégano, respectivamente. As folhas das ervas foram selecionadas, lavadas em água corrente, cortadas, embaladas em sacos de polietileno com baixa permeabilidade ao oxigênio e armazenadas a 4 °C.

2.2.1 Preparo dos extratos

Os extratos utilizados para a determinação dos teores totais de compostos fenólicos e flavonoides e para as análises de capacidade antioxidante *in vitro* foram preparados de acordo com os seguintes procedimentos. As folhas maceradas da erva (2 g de manjeriço ou 2 g de orégano) foram homogeneizadas com 40 mL de solução etanol/água (80:20 % v/v) durante 30 minutos. Em seguida, a mistura foi sonificada por 20 minutos em ultrassom com frequência de 40 kHz (Elmasonic P, Elma Schmidbauer GmbH, Singen, Alemanha) e posteriormente centrifugada (NI 1813, Nova Instruments, São Paulo, Brasil) a 18,000 x g por 10 minutos. O sobrenadante foi coletado, transferido para um frasco âmbar volumétrico (50 mL) e o extrato foi avolumado com a solução etanol/água. O preparo do extrato foi realizado a temperatura ambiente e na ausência de luz.

2.2.2 Determinação dos teores totais de compostos fenólicos e flavonoides

Os fenólicos totais foram determinados utilizando o reagente de Folin–Ciocalteu, de acordo com Swain e Hillis (1959), com modificações. O reagente de Folin–Ciocalteu (1 mL) foi adicionado a 10 mL de água destilada e 1 mL do extrato. Após 3 minutos, foram adicionados 1,5 mL da solução de carbonato de sódio (10 % m/v), seguido da homogeneização e repouso por 2 horas a temperatura ambiente e ausência de luz. Em seguida, a absorbância foi mensurada a 725 nm em espectrofotômetro (WUv-m51, Weblabor, São Paulo, Brasil) e os resultados, os quais foram expressos em EAG/g de amostra, foram obtidos por meio de curva de calibração preparada com o ácido gálico.

Os teores de flavonoides totais foram determinados conforme descrito por Scapin et al. (2016). O extrato (250 µL) foi adicionado a 1250 µL de água destilada e 75 µL de solução de nitrito de sódio (5%). Após 5 minutos, uma alíquota de 150 µL de tricloreto de alumínio a 10% foi adicionada, deixando-se a mistura descansar por mais 5 minutos e seguindo com a adição de 500 µL de solução de hidróxido de sódio (1 M) e 775 µL de água destilada. A mistura foi homogeneizada e a absorbância medida em espectrofotômetro (WUv-m51, Weblabor, São Paulo, Brasil) a 510 nm. O conteúdo total de flavonoides foi determinado utilizando-se uma curva padrão de quercetina e os resultados foram expressos em mg EQ/g de amostra.

2.2.3 Capacidade antioxidante *in vitro*

2.2.3.1 DPPH

O método de DPPH foi conduzido de acordo com os procedimentos reportados por Rufino et al. (2010). O extrato (100 µL) foi adicionado a 3,9 mL de uma solução metanólica de DPPH (0,06 mM). A mistura foi homogeneizada e deixada em repouso à temperatura ambiente e ausência de luz. Após 60 minutos, a absorbância foi medida em espectrofotômetro (WUv-m51, Weblabor, São Paulo, Brasil) a 517 nm. O percentual de inibição (%I) foi calculado da seguinte forma: $\%I = (A_0 - A) / A_0 \times 100$, onde A_0 é a absorbância do controle (sem extrato) e A é a absorbância medida com a amostra.

2.2.3.2 ORAC (Oxygen radical absorbance capacity)

A metodologia descrita por Ou, Hampsch-Woodill e Prior (2001), com modificações, foi empregada para o método ORAC utilizando um leitor de microplacas (SpectraMax M5, Molecular Devices, CA, USA). Amostras diluídas em tampão fosfato monossódico 75 mM (50 µL) foram incubadas a 37 °C com 150 µL de fluoresceína (93 mM). Após 15 minutos, 50 µL de AAPH (2,2'-azo-bis(2-amidinopropano)diidrocloro, 221 mM) foram adicionados ao meio reacional. A queda de fluorescência foi mensurada a 37 °C ($\lambda_{excitação} = 493$ nm, $\lambda_{emissão} = 515$ nm) durante uma hora, com medições a cada minuto. Os resultados foram determinados de acordo com a queda da fluorescência da fluoresceína e a curva obtida para o padrão Trolox, sendo expressos em µM ET/g de amostra.

2.2.3.3 Sistema β-caroteno/ácido linoleico

Uma alíquota de 28 µL da solução de β-caroteno preparada em clorofórmio foi adicionada a 28 µL de ácido linoleico e 200 mg de Tween® 40. O clorofórmio foi evaporado sob nitrogênio e adicionou-se 140 mL de água destilada saturada com oxigênio (30 minutos, 100 mL de O₂/minuto). Após vigorosa agitação, 5 mL da mistura reacional foram adicionados a 1 mL do extrato. A mistura foi homogeneizada e incubada a 50 °C, sendo realizada a medida a 470 nm durante 2 horas a cada 15 minutos (SpectraMax M5, Molecular Devices, CA, USA). O BHT foi empregado como padrão e a amostra controle foi preparada com metanol. Os resultados, expressos em percentual de inibição (%I), foram obtidos de acordo com a seguinte equação: $\%I = 100 - (A_i \text{ da amostra} - A_f \text{ da amostra} / A_i \text{ do controle} - A_f \text{ do controle})$, onde A_i é a absorbância inicial e A_f é a absorbância final.

2.2.4 Identificação dos compostos bioativos das ervas por UHPLC-ESI-MS

As análises cromatográficas das ervas foram realizadas em um cromatógrafo UHPLC Acquity (Waters, Milford, MA, USA) acoplado a espectrômetro de massas TDD Acquity (Micromass-Waters, Manchester, Inglaterra), com fonte de ionização por eletrospray (ESI - Electrospray Ionization). Utilizou-se uma coluna C18 BEH Waters Acquity (2,1 mm x 50 mm x 1,7 µm) a temperatura de 30 °C. Foram empregados dois solventes para a fase móvel, fase A (0,1% de ácido fórmico em água Milli-Q® purificada) e fase B (acetonitrila). O fluxo foi de 0,2 mL/min com gradiente linear a partir de 30% de B e aumento até 100% (B) em 8 minutos, mantendo-se até 9 minutos e retornando às condições iniciais, seguido de reequilíbrio da

coluna até 10 minutos.

A ionização por electrospray, no modo negativo, foi realizada sob as seguintes condições: voltagem de 3,5 kV no capilar e 30 V no cone extrator, temperatura da fonte a 150 °C, temperatura de dissolvatação de 350 °C e aquisição de dados de m/z entre 100 e 900. MS/MS dos picos selecionados foram adquiridos via CID (Collision-induced Dissociation) com energia de colisão de 20 V. Os compostos foram identificados por meio de comparação com dados presentes na literatura acerca do íon precursor e dos principais fragmentos formados.

2.3 Omeletes

2.3.1 Ovos e preparo das omeletes

Os ovos foram adquiridos em comércio local da cidade de Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil. Foram utilizados ovos frescos convencionais classificados como Tipo 1 – extra, o que inclui ovos com peso mínimo de 60 g, e com registro no Ministério da Agricultura (SIF (Serviço de Inspeção Federal)/DIPOA (Divisão de Inspeção de Produtos de Origem Animal)). Os ovos apresentavam as seguintes medidas: $61 \pm 1,0$ g de peso, $5,7 \pm 0,5$ cm de comprimento e $4,2 \pm 0,5$ cm de largura.

Primeiramente, foi preparado o material para as análises da amostra crua. Os ovos (doze ovos) foram quebrados manualmente e o conteúdo total do interior do ovo (gema e clara) foi misturado em uma batedeira doméstica (Ri7000, Walita, São Paulo, Brasil) na velocidade 1 do equipamento durante 15 segundos. Esta mistura foi liofilizada e reservada para as análises, correspondendo à amostra crua.

As omeletes foram preparadas de acordo com os seguintes tratamentos: omeletes sem adição do manjericão ou do orégano (controle) e omeletes com adição do manjericão ou do orégano nas concentrações de 0,25, 0,5 e 0,75%. Visto que não existem estudos na literatura acerca do emprego destas ervas em omeletes, os percentuais de adição foram definidos por meio de testes sensoriais informais realizados com o grupo de pesquisa.

Para as amostras destinadas ao tratamento térmico foram preparadas três omeletes para cada tratamento, onde para cada omelete foram utilizados três ovos (cada ovo com o peso total da gema e clara de aproximadamente 50 g, totalizando o peso médio de $150 \pm 0,5$ g por omelete). As amostras foram preparadas conforme descrito para a amostra crua. Após a mistura da gema e da clara em batedeira doméstica, a mistura foi adicionada ao recipiente adequado para cada método de cocção a ser empregado, sendo realizada também a pesagem. Para as amostras com adição das ervas, o manjericão ou o orégano foram adicionados de forma homogênea à mistura e o percentual de adição foi aplicado com base no peso de cada amostra. Os recipientes utilizados foram: a própria forma do equipamento para as amostras tratadas em *air fryer*, frigideira antiaderente de material teflon para o tratamento em fogão e forma de silicone própria para o tratamento em micro-ondas.

2.3.2 Tratamento térmico

Diversas receitas culinárias com diferentes binômios tempo-temperatura podem ser encontradas para o preparo de alimentos. Assim, não existem procedimentos padrões para o

preparo térmico de omeletes. Desta forma, o binômio tempo-temperatura utilizado para cada método de cocção neste trabalho foi definido por meio de testes informais que foram realizados com o grupo de pesquisa.

Os testes foram realizados a partir dos parâmetros (tempo/temperatura) indicados pelo fabricante do equipamento (*air fryer*) e em receitas encontradas em bases de busca da internet (fogão e micro-ondas). Assim, diferentes binômios tempo-temperatura foram avaliados, os quais foram estabelecidos de forma a simular o preparo térmico doméstico das omeletes considerando os aspectos característicos e desejáveis de cocção para as omeletes em cada método.

O preparo das amostras de forma segura também foi preconizado. Desta forma, a temperatura no interior das omeletes foi mensurada com o auxílio de um termômetro digital (Incoterm 6132, Brasil) para garantir que as amostras atingissem a temperatura interna mínima de 70°C, a qual é considerada uma temperatura segura para o preparo deste tipo de alimento pela legislação brasileira (ANVISA, 2004). Todos os preparos térmicos atingiram a temperatura interna mínima estabelecida (70 °C), onde ao final de cada método de cocção as amostras apresentaram temperaturas internas médias de 84 °C (fogão), 95 °C (micro-ondas) e 138 °C (*air fryer*).

Para o tratamento em fogão foi utilizado um fogão doméstico (Esmaltec, Ceará, Brasil) e uma frigideira antiaderente. O aquecimento foi realizado durante 4 minutos, onde a amostra foi virada em intervalos de 1 minuto, totalizando 2 minutos de aquecimento para cada lado da omelete. Foi utilizada sempre a mesma boca do fogão com a chama na mesma intensidade. Para o preparo em *air fryer* (RI9225/50, Philips Walita, São Paulo, Brasil), o equipamento foi ajustado a uma temperatura de 220°C e o aquecimento foi realizado durante 10 minutos. O micro-ondas (CCE, São Paulo, Brasil) foi utilizado a uma potencia de 600 W com aquecimento por 3 minutos.

Após o tratamento térmico as amostras foram resfriadas naturalmente a temperatura ambiente. As três omeletes preparadas para cada tratamento foram misturadas para se obter uma única amostra, a qual foi triturada, homogeneizada e liofilizada. Alíquotas convenientes foram retiradas para a realização das análises em triplicatas.

2.4 Análises das omeletes

2.4.1 Determinação dos teores de umidade

Os teores de umidade das amostras foram determinados de acordo com o método 950.46 da AOAC (2016), no qual as amostras são secas em estufa regulada a 105 °C com retirada periódica para a pesagem até se obter peso constante.

2.4.2 Determinação dos teores de lipídios totais

Os teores de lipídios totais foram determinados em aparelho de Soxhlet pelo método 991.36 da AOAC (2016). A extração com éter de petróleo foi conduzida por 8 horas, seguida da remoção do solvente em evaporador rotatório (Fisatom, São Paulo, Brasil) a 40 °C.

2.4.3 Determinação de ácidos graxos

Os lipídios para a determinação dos ácidos graxos foram extraídos a temperatura ambiente utilizando-se o clorofórmio como solvente. Os ácidos graxos presentes no óleo extraído foram convertidos a ésteres metílicos por transesterificação de acordo com Zhu et al. (2011), com modificações. Em tubos, 2 mL de solução metanólica de metóxido de sódio 2,5 M foram adicionados as amostras (0,05 g) e sonificados em ultrassom (Elmasonic P, Elma Schmidbauer GmbH, Singen, Alemanha) por 10 minutos (40 kHz). Em seguida, 0,1 mL de ácido acético glacial, 2,5 mL de solução saturada de hidróxido de sódio e 1 mL de hexano foram adicionados. Os tubos foram agitados em vortex e a fração hexânica separada. A extração com 1 mL de hexano foi repetida 3 vezes, perfazendo o total de 4 extrações.

Para a determinação dos ésteres metílicos de ácidos graxos foi utilizado um cromatógrafo gasoso (Shimadzu GC 2010, Tokio, Japão) equipado com injetor split (1:50), detector de ionização em chamas e coluna capilar de sílica fundida CP-SIL 88 (100 m x 0,25 mm x 0,20 µm) (Chrompack, Middelburg, Holanda). As condições cromatográficas foram: temperatura inicial da coluna, 140 °C (5 minutos); taxa de aquecimento 4 °C/min, até temperatura de 230 °C (0 minuto); taxa de aquecimento 5 °C/min, até temperatura de 240 °C (18 minutos). As temperaturas do injetor e do detector foram ajustadas em 250 °C e 280 °C, respectivamente. Hidrogênio foi utilizado como gás de arraste a 1 mL/min e o nitrogênio como “make-up gas” a 30 mL/min (DE OLIVEIRA et al., 2020).

Os tempos de retenção dos padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Supelco TM FAME Mix 37, Bellefonte, PA, USA) foram usados para identificar os picos cromatográficos das amostras. A quantificação foi realizada por padronização interna, utilizando o éster metílico do ácido undecanóico como padrão interno.

2.4.4 Determinação do colesterol e dos óxidos de colesterol

O colesterol e os óxidos de colesterol foram obtidos simultaneamente por saponificação direta (SALDANHA et al., 2006). A saponificação (4 mL de solução aquosa de hidróxido de potássio (1 M) a 50%, 6 mL de etanol e 2 g da amostra) foi conduzida a temperatura ambiente por 22 horas na ausência de luz. Para a extração da fração insaponificável, 5 mL de água destilada e 10 mL de hexano foram adicionados as amostras, em seguida a mistura foi homogeneizada em vortex e a fração hexânica separada. A extração com 10 mL de hexano foi repetida 3 vezes, perfazendo um total de 4 extrações.

A identificação e a quantificação foram realizadas em um HPLC-PDA-IR (Waters, Milford, MA, EUA) equipado com detectores de arranjo de fotodiodos (PDA - Photo Diode Array Detector, Waters 2998) e índice de refração (RI – Refractive Index, Waters, 2414), com forno aquecido a 32 °C. As análises cromatográficas foram conduzidas conforme descrito por Ferreira et al. (2017). Foi utilizada uma coluna CN Hyperchrome (250 mm × 4,3mm × 5,0 µm) (Phenomenex, Colorado, USA) e a fase móvel utilizada foi composta por hexano:2-propanol (97:3, v/v, 1 mL/min). Devido aos produtos de oxidação 5,6 α -epoxicolesterol e 5,6 β -epoxicolesterol não possuírem ligações π e por isso não apresentarem características adequadas de absorção de luz UV, esses compostos foram detectados apenas pelo índice de refração. Os compostos foram determinados por comparação dos tempos de retenção dos picos nas amostras com aqueles dos padrões de referência. A quantificação foi realizada por padronização externa usando curvas de calibração dos padrões.

As estruturas do colesterol e dos óxidos de colesterol foram confirmadas utilizando-se

um HPLC-MS-PDA (Shimadzu LCMS-2020, Tóquio, Japão) equipado com detector de massas (Shimadzu LCMS-2020, Tóquio, Japão) com interface de ionização química a pressão atmosférica (APCI - Atmospheric Pressure Chemical Ionization) em modo positivo e módulo de aquisição SIM (Selected Ion Monitoring), conforme descrito por de Oliveira et al. (2020). Assim, o colesterol e os óxidos de colesterol foram confirmados por meio da comparação dos tempos de retenção determinados para os padrões e pela razão m/z .

2.4.5 Identificação dos compostos bioativos das ervas presentes nas omeletes por UHPLC-ESI-MS

Os compostos bioativos das ervas também foram determinados nas amostras de omeletes, conforme descrito no item 2.2.4.

2.5 Análises estatísticas

O experimento foi realizado por meio de um fatorial 3x2x4. O primeiro fator (A) foi o método de cozimento (a1: *air fryer*; a2: fogão; a3: micro-ondas), o segundo fator (B) foi o tipo de erva (b1: manjeriço; b2: orégano) e o terceiro fator (C) foi o percentual de adição da erva (c1: 0,0%; c2: 0,25%; c3: 0,5%; c4: 0,75%). Os dados foram tratados por meio do teste da ANOVA de três vias, seguido do teste de Tukey de comparação múltipla de médias, quando diferenças significativas foram encontradas entre as amostras. O teste de Dunnett foi aplicado para avaliar as diferenças entre as amostras cruas e as amostras controles com cada um dos tratamentos utilizados. Todas as análises foram realizadas em triplicatas e os resultados foram expressos por meio de médias seguidas dos desvios padrões.

Quanto à análise multivariada, técnicas como a Análise dos Componentes Principais e o Agrupamento Hierárquico com mapa de calor foram utilizadas. A Análise dos Componentes Principais foi realizada após a padronização das variáveis de forma a evitar a influência das diferentes magnitudes. O agrupamento dos tratamentos foi realizado por Agrupamento Hierárquico dos principais componentes. O mapa de calor foi utilizado para evidenciar em quais tratamentos as variáveis apresentaram os valores mais elevados ou inferiores. O menor valor no mapa de calor é indicado pelo azul escuro, o maior valor pelo vermelho brilhante e valores medianos pela coloração cinza clara, com uma transição correspondente (ou gradiente) entre estes extremos. Todas as análises estatísticas foram realizadas a um nível de significância de 5%, utilizando o *software* R versão 3.2.4.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Ervas

3.1.1 Compostos fenólicos, flavonoides e capacidade antioxidante

Os teores totais de compostos fenólicos determinados para os extratos de manjeriço e

orégano foram $8,00 \pm 0,75$ e $11,21 \pm 0,20$ mg EAG/g, respectivamente ($p < 0,05$) (Tabela 1). O resultado obtido para o orégano está em acordo com Majeed et al. (2016), que reportaram conteúdos variando de 5,76 a 18,75 mg EAG/g. Teores inferiores aos encontrados neste estudo para o manjeriço foram determinados por Siti Mahirah, Rabeta e Antora (2018) ($2,61 - 3,84$ mg EAG/g), enquanto o emprego de diferentes soluções e procedimentos de extração resultou em níveis de 20 a 100 mg EAG/g (ZOŁOTEK et al., 2016).

Tabela 1: Teores totais de compostos fenólicos e flavonoides e capacidades antioxidantes *in vitro* determinadas pelos métodos de DPPH, ORAC e sistema β -caroteno/ácido linoleico dos extratos de manjeriço e orégano.

Método	Manjeriço	Orégano
Compostos fenólicos totais mg EAG/g	$8,00 \pm 0,75^b$	$11,21 \pm 0,20^a$
Flavonoides totais mg EQ/g	$12,35 \pm 0,74^b$	$34,25 \pm 0,21^a$
DPPH % inibição oxidativa	$37,82 \pm 0,09^b$	$89,36 \pm 0,48^a$
ORAC μ M ET/g	$76,93 \pm 8,93^a$	$79,91 \pm 1,47^a$
β-caroteno/ácido linoleico % inibição oxidativa	$10,74 \pm 2,05^a$	$22,33 \pm 6,24^b$

Resultados de análises realizadas em triplicatas, média \pm desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

O extrato do orégano também apresentou maior quantidade de flavonoides totais ($34,25 \pm 0,21$ mg EQ/g) em comparação com o manjeriço ($12,35 \pm 0,74$ mg EQ/g) ($p < 0,05$) (Tabela 1). Tendência semelhante foi observada por Ali et al. (2021) ao avaliar os teores totais de fenólicos e flavonoides de dez ervas australianas. Segundo os autores, o orégano apresentou o teor mais elevado de fenólicos totais ($140,59$ mg EAG/g) entre todas as ervas avaliadas, enquanto para os flavonoides a quantidade encontrada foi de $5,15$ mg EQ/g, teor superior ao determinado para o manjeriço ($3,62$ mg EQ/g). Outros estudos descreveram teores de flavonoides variando de $5,28$ a $22,26$ mg EQ/g para extratos de manjeriço (GHASEMZADEH et al., 2016; AL JAOUNI et al., 2018; REZAIIE, MANDOULAKANI e FATTAHI, 2020).

Quanto às análises antioxidantes, o ensaio de DPPH revelou inibições de $89,36 \pm 0,48$ e $37,82 \pm 0,09\%$ para o orégano e o manjeriço, respectivamente (Tabela 1) ($p < 0,05$). Resultados variados são encontrados na literatura. Um percentual de aproximadamente 80% de inibição foi determinado para o extrato metanólico de orégano estudado por Fazal, Ahmad e Khan (2011). Para o manjeriço, extratos obtidos com etanol, metanol e água apresentaram inibições de 6,86, 9,10 e 6,09%, respectivamente (SITI MAHIRAH, RABETA e ANTORA, 2018). Além disso, ambas as ervas foram avaliadas por Nikolic et al. (2019) que descreveram a maior atividade do orégano pelo método DPPH, conforme determinado no presente estudo.

O extrato do orégano também apresentou maior inibição oxidativa ($22,33 \pm 6,24\%$) pelo ensaio β -caroteno/ácido linoleico, em comparação com o manjeriço ($10,74 \pm 2,05\%$) ($p < 0,05$) (Tabela 1). A maioria dos estudos utilizando este método foi realizado com óleos essenciais, dificultando a comparação dos resultados. No entanto, um extrato aquoso de orégano avaliado por Senator et al. (2012) mostrou uma inibição de 83%, a qual foi superior a observada neste estudo. Khatib et al. (2021) reportaram inibições variando de 16 a 82% para extratos de manjeriço em diferentes concentrações (0,5 - 400 μ g/mL).

Os valores ORAC dos extratos das ervas não foram estatisticamente diferentes, com $76,93 \pm 8,93$ e $79,91 \pm 1,47$ $\mu\text{M ET/g}$ para o manjericão e o orégano, respectivamente ($p > 0,05$) (Tabela 1). Resultados inferiores foram encontrados em estudos anteriores realizados com diferentes variedades dessas espécies por Mishra et al. (2020) (8,11 - 9,12 $\mu\text{M ET/g}$ em manjericão) e Yan et al. (2016) (1,59 - 3,39 $\mu\text{M ET/g}$ em orégano).

As propriedades antioxidantes das ervas são atribuídas principalmente à presença de compostos bioativos, cujo conteúdo é altamente variável devido a fatores como origem do vegetal, época de colheita, condições ambientais, genética, entre outros (SCAGEL, LEE e MITCHELL, 2019; JAFARI KHORSAND et al., 2022). Portanto, é comum observar variações nos resultados presentes na literatura, o que também pode ser relacionado às diferentes condições de análise utilizadas em cada estudo.

3.1.2 Compostos bioativos do manjericão e do orégano identificados por UHPLC-ESI-MS

Os compostos bioativos presentes nos extratos de manjericão e orégano foram identificados por UHPLC-ESI-MS, no modo negativo, com base no perfil de fragmentação de acordo com a literatura (Tabela 2). Essa abordagem permitiu caracterizar ácidos fenólicos, que correspondem à maioria dos compostos identificados, flavonoides, ácidos graxos e seus derivados e ácidos orgânicos (Figuras 1 e 2).

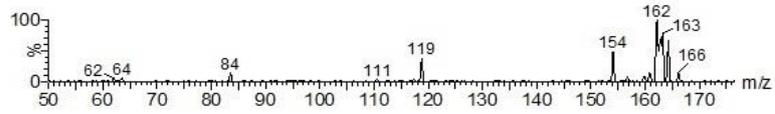
Tabela 2: Identificação dos compostos bioativos presentes nos extratos de manjeriço e orégano por UHPLC-ESI-MS no modo negativo.

Manjeriço				
TR (min)	Íon precursor (<i>m/z</i>)	Principais fragmentos (<i>m/z</i>)	Identificação proposta	Referência
0,566	163	163; 119; 84	Ácido <i>p</i> -coumárico	Ferreira et al. (2022)
0,680	191	190,5; 111, 101; 84,9; 58,7	Isômeros ácido cítrico/ácido isocítrico	Taamalli et al. (2015)
0,684	179	179; 161; 135; 89	Ácido cafeico	Prinsi et al. (2019) Zengin et al. (2020)
0,868	191	191; 110,6; 84,9	Isômeros ácido cítrico/ácido isocítrico	Taamalli et al. (2015)
0,910	387	387; 286; 207; 163; 119	Ácido tuberônico hexosídeo	Gök et al. (2022)
1,391	359	359; 197; 161	Ácido rosmarínico	Prinsi et al. (2019)
1,450	311	310,8; 149	Ácido caftárico	Prinsi et al. (2019)
1,980	313	313; 161	Isômero ácido salvianólico F	Prinsi et al. (2019)
2,645	313	313; 161	Isômero ácido salvianólico F	Prinsi et al. (2019)
3,146	343	343,3; 328,4; 310,8	Cirsilineol	Gök et al. (2022)
Orégano				
TR (min)	Íon precursor (<i>m/z</i>)	Principais fragmentos (<i>m/z</i>)	Identificação proposta	Referência
0,773	167	167,2; 123; 108,2	Ácido vanílico	Zengin et al. (2020)
0,864	191	190,7; 145,3; 101,2; 98,7; 86,6	Isômeros ácido cítrico/ácido isocítrico	Taamalli et al. (2015)
0,883	137	137; 93	Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico	Prinsi et al. (2019) Zengin et al. (2020)
0,938	387	387,3; 328,2; 320,2; 206,3; 163,1; 119,2	Ácido tuberônico hexosídeo	Gök et al. (2022)
0,958	179	179; 135,1	Ácido cafeico	Prinsi et al. (2019) Zengin et al. (2020)
1,093	191	189,5; 110,7; 84,9; 62,7	Isômeros ácido cítrico/ácido isocítrico	Taamalli et al. (2015)
1,810	313	312,8; 161,1	Isômero ácido salvianólico F	Prinsi et al. (2019)

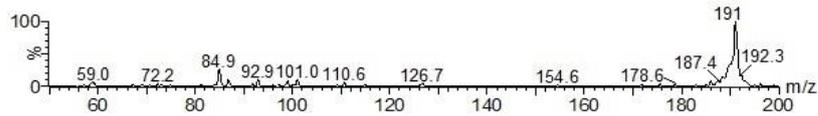
2,019	327	327,4; 321,6; 292,6; 229,3; 211,5; 171,4	Ácido trihidroxiocadecadienóico I	Gök et al. (2022)
2,085	313	313,3; 161,1	Isômero ácido salvianólico F	Prinsi et al. (2019)
4,704	293	293,0; 275,2; 221,5; 183,0; 171,0; 120,9	Ácido hidroxioctadecatrienóico	Gök et al. (2022)

Tr = tempo de retenção.

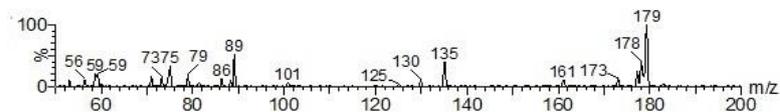
Ácido *p*-coumárico



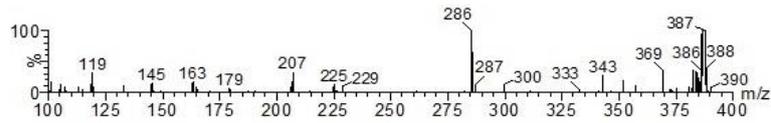
Isômeros ácido cítrico/isocítrico



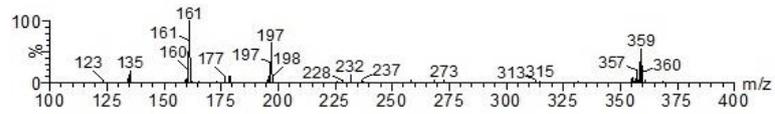
Ácido cafeico



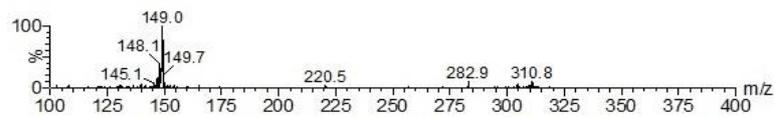
Ácido tuberônico hexosídeo



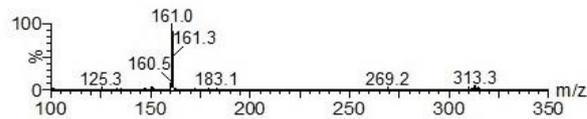
Ácido rosmarínico



Ácido caftárico



Isômeros ácido salvianólico F



Cirsilineol

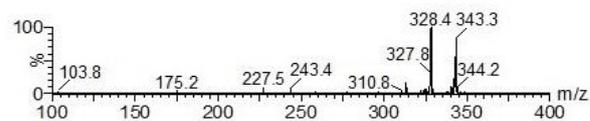
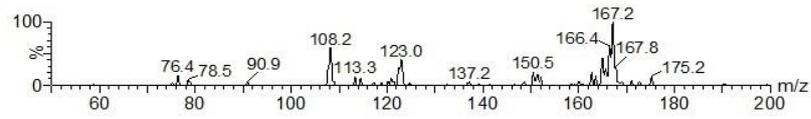
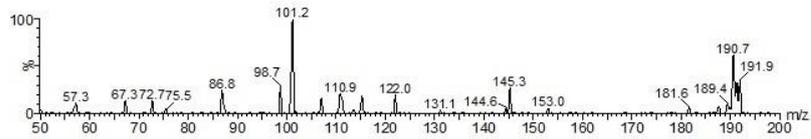


Figura 1: Espectro MS/MS dos compostos identificados no extrato de manjeriço.

Ácido vanílico



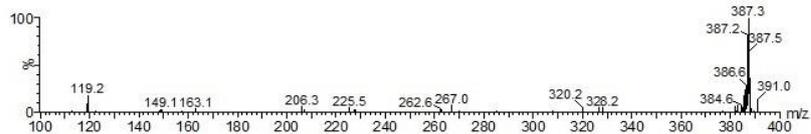
Isômeros ácido cítrico/isocítrico



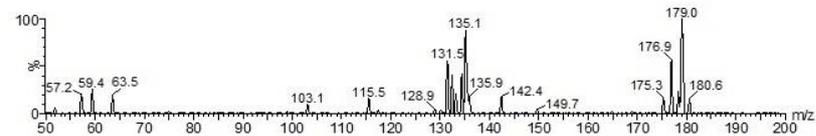
Ácido *p*-hidroxibenzoico



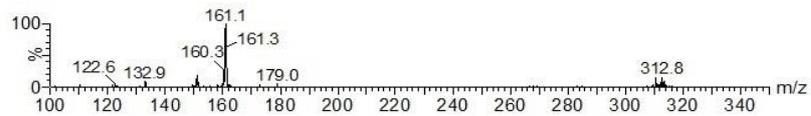
Ácido tuberônico hexosídeo



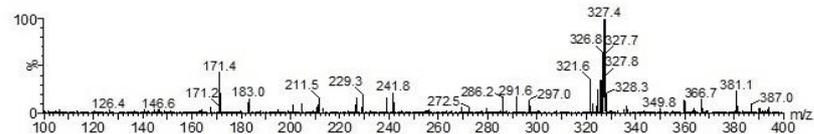
Ácido cafeico



Isômeros ácido salvianólico F



Ácido trihidroioctadecadienóico I



Ácido hidroxioctadecatrienóico

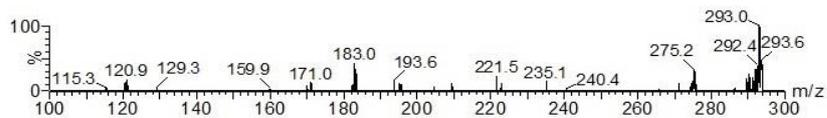


Figura 2: Espectro MS/MS dos compostos identificados no extrato de orégano.

Foram determinados sete ácidos fenólicos, incluindo o ácido *p*-hidroxibenzoico (*m/z* 137), o ácido *p*-coumárico (*m/z* 163), o ácido vanílico (*m/z* 167), o ácido cafeico (*m/z* 179), o ácido caftárico (*m/z* 311), isômeros do ácido salvianólico F (*m/z* 313) e o ácido rosmarínico (*m/z* 359) (PRINSI et al., 2019; ZENGIN et al., 2020; FERREIRA et al., 2022). Dentre estes, o ácido cafeico e os isômeros do ácido salvianólico F foram encontrados em ambos os extratos. A identificação dos ácidos *p*-coumárico e cafeico foram confirmadas por comparação com padrões comerciais.

O ácido cafeico também foi identificado comparando os resultados com o perfil de fragmentação proposto por Prinsi et al. (2019) ao avaliar folhas de manjerição (*m/z* 179, 135) e o proposto por Zengin et al. (2020), que estudaram folhas de orégano (*m/z* 179, 161, 136, 135). Diferenças no perfil de fragmentação podem ser decorrentes do emprego de diferentes parâmetros, como a energia de colisão durante os experimentos de MS/MS. Os isômeros do ácido salvianólico F (*m/z* 313) apresentaram íons fragmentados em *m/z* 161 (perda de uma unidade dihidroxibenzeno). Esses isômeros foram identificados de acordo com Prinsi et al. (2019) em manjerição. Além disso, derivados do ácido cafeico, como os ácidos salvianólicos, são geralmente reportados como compostos específicos da família Lamiaceae (TAAMALLI et al., 2015; PRINSI et al., 2019; ZENGIN et al., 2020).

Outros ácidos fenólicos como os ácidos *p*-coumárico, caftárico e rosmarínico foram encontrados apenas no extrato de manjerição. Os ácidos caftárico e rosmarínico também foram detectados em amostras de manjerição por Prinsi et al. (2019), enquanto a presença de ácido *p*-coumárico foi descrita por Castronuovo et al. (2019) e Duran, Kilic e Coskun (2019). O ácido rosmarínico (*m/z* 359) apresentou fragmentação em *m/z* 197 e 161, dados que concordam com a literatura (TAAMALLI et al., 2015; PRINSI et al., 2019). Outros autores descreveram o ácido rosmarínico como o principal ácido fenólico presente em manjerição (MAJDI et al., 2020; ZELJKOVIĆ et al., 2020). O ácido caftárico (*m/z* 311) apresentou fragmentação em *m/z* 179 e 149, enquanto o ácido *p*-coumárico apresentou fragmentação em *m/z* 119, correspondendo à perda de CO₂ (PRINSI et al., 2019; FERREIRA et al., 2022).

Em relação ao orégano, foram encontrados ácidos fenólicos como os ácidos vanílico e *p*-hidroxibenzoico. O ácido vanílico foi determinado no orégano como relatado por Zengin et al. (2020), com íons fragmentados em *m/z* 123 (perda de CO₂) e 108 (perda de CO₂ e CH₃). Estudos conduzidos por Prinsi et al. (2019) e Zengin et al. (2020) permitiram a identificação do ácido *p*-hidroxibenzoico (*m/z* 137), cujo padrão de fragmentação apresentou íons em *m/z* 93, indicando perda de CO₂.

foram encontrados no orégano. Os seguintes fragmentos foram observados para esses compostos permitindo a identificação de acordo com Gök et al. (2022), que estudaram amostras O ácido hidroxiocetadecatrienóico (*m/z* 293) e o ácido trihidroxiocetadecadienóico I (*m/z* 327) também de orégano: ácido hidroxiocetadecatrienóico (*m/z* 275, 183, 171 e 121) e ácido trihidroxiocetadecadienóico I (*m/z* 229 e 171). O ácido tuberônico hexosídeo (*m/z* 387) foi determinado em ambos os extratos (GÖK et al., 2022), bem como os isômeros ácido cítrico e isocítrico (*m/z* 191), os quais representam a classe de ácidos orgânicos. Os isômeros foram identificados de acordo com a literatura (TAAMALLI et al., 2015) e por comparação com padrões comerciais. O espectro MS/MS dos isômeros apresentou íons fragmentados em *m/z* 111, correspondendo à perda de água (2H₂O) e moléculas de CO₂. Quanto aos flavonoides, o cirsilineol (*m/z* 343) foi determinado no extrato de manjerição com base em dados reportados por Gök et al. (2022) obtidos com extratos de orégano. No entanto, cirsilineol também foi descrito como um constituinte de plantas da espécie *Ocimum* (GONG et al., 2021).

A literatura reporta múltiplas bioatividades de ácidos fenólicos como os identificados neste estudo, incluindo os ácidos vanílico, *p*-coumárico, cafeico e rosmarínico que apresentam atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, anticancerígenas, neuroprotetoras e anti-

diabéticas) (ROYCHOUDHURY et al., 2021; ALAM et al., 2022; KAUR et al., 2022; NOOR et al., 2022). Um estudo de revisão conduzido por Ma, Tang e Yi (2019) destacou o potencial dos ácidos salvianólicos para tratar doenças como fibrose e câncer, bem como para prevenir doenças isquêmicas do coração (DAWUTI, FANG e DU, 2021). O flavonoide cirsilineol demonstrou atividades antiproliferativas contra células cancerígenas, ao inibir o crescimento celular e induzir apoptoses em células de glioma (JING et al., 2022).

Além disso, estes compostos se destacam como alternativas para o emprego de aditivos naturais em sistemas alimentares devido às propriedades antioxidantes apresentadas pelos mesmos. A adição do ácido cafeico foi capaz de aumentar a estabilidade oxidativa de óleo de sardinha durante o armazenamento (VAISALI, BELUR e REGUPATHI, 2016) e reduziu a oxidação de amostras comerciais de colesterol durante o aquecimento (XU et al., 2016). Antioxidantes naturais do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) foram utilizados durante o processo de fritura em óleo (150 – 190 °C), onde os autores evidenciaram a eficácia do ácido rosmarínico frente à oxidação do óleo de soja em comparação com o antioxidante sintético TBHQ (*tert*-butilidroquinona) (LI et al., 2021). Filmes incorporados com ácidos cafeico, *p*-coumárico, *p*-hidroxibenzoico e cítrico podem ter aplicações promissoras em embalagens visando à preservação de alimentos (BENBETTAIEB et al., 2018; ALPASLAN et al., 2021; JIANG et al., 2022).

Apesar das ervas culinárias serem valorizadas, principalmente, devido suas características sensoriais, nos últimos anos é notável o crescente interesse no emprego das mesmas e de seus fitoquímicos como agentes promovedores de saúde. Além disso, a preocupação genuína com a ingestão de óxidos de colesterol enfatiza a importância do controle da oxidação do colesterol nos alimentos, apoiando as investigações realizadas no presente estudo.

3.2 Omeletes

3.2.1 Teores de umidade e lipídios totais das amostras de omelete

O ovo fresco apresentou um teor de umidade de $76,71 \pm 0,14$ g/100 g (Tabela 3). Teores similares foram observados por outros autores, com valores variando de 74,90 a 76,52 g/100 g (MELO et al., 2019; TANG et al., 2021). No entanto, teores inferiores foram determinados após o cozimento, onde a umidade das omeletes variou da seguinte forma: de $71,27 \pm 0,25$ a $72,57 \pm 0,37$ g/100 g (*air fryer*), de $73,19 \pm 0,15$ a $74,27 \pm 0,06$ g/100 g (fogão) e de $70,58 \pm 0,39$ a $71,60 \pm 0,35$ g/100 g (micro-ondas). Assim, o aquecimento acarretou na perda significativa de água, principalmente nas amostras preparadas em micro-ondas, com perda de 7,96% de umidade. Quanto ao tratamento com as ervas, a adição do manjeriço e do orégano não influenciou os níveis de umidade para a maioria das amostras em relação ao controle ($p > 0,05$), exceto quando as ervas foram adicionadas a 0,75% ($p < 0,05$).

Tabela 3: Teores de umidade (g/100 g) e lipídios totais (g/100 g, base seca) das amostras de omeletes cruas e cozidas (controle e com adição de manjeriço (0,25, 0,5 e 0,75%) e orégano (0,25, 0,5 e 0,75%)).

<i>Air fryer</i>								
	Cru	Controle	0,25% manjeriço	0,5% manjeriço	0,75% manjeriço	0,25% orégano	0,5% orégano	0,75% orégano
Umidade	76,71 ± 0,14	71,40 ± 0,32*	71,63 ± 0,22 ^{a;A;*}	71,75 ± 0,27 ^{a;A;*}	72,57 ± 0,37 ^{a;B;β;*}	71,27 ± 0,25 ^{a;C;*}	71,86 ± 0,29 ^{a;CD;*}	72,44 ± 0,45 ^{a;D;*}
Lipídios totais	29,72 ± 0,42	28,67 ± 0,40	28,93 ± 0,46 ^{a;A}	29,49 ± 0,38 ^{b;AB;β}	29,67 ± 0,40 ^{c;B;β}	28,78 ± 0,06 ^{a;C}	28,91 ± 0,30 ^{d;C}	28,98 ± 0,24 ^{e;C}
Fogão								
	Cru	Controle	0,25% manjeriço	0,5% manjeriço	0,75% manjeriço	0,25% orégano	0,5% orégano	0,75% orégano
Umidade	76,71 ± 0,14	73,64 ± 0,15*	73,19 ± 0,15 ^{a;A;*}	73,52 ± 0,37 ^{a;A;*}	74,27 ± 0,06 ^{a;B;α;*}	73,46 ± 0,29 ^{a;C;*}	73,63 ± 0,26 ^{a;C;*}	73,92 ± 0,14 ^{a;C;α;*}
Lipídios totais	29,72 ± 0,42	28,47 ± 0,32	28,99 ± 0,40 ^{a;A}	29,01 ± 0,18 ^{b;A}	29,16 ± 0,19 ^{c;A}	28,48 ± 0,72 ^{a;B}	28,52 ± 0,40 ^{b;B}	28,89 ± 0,40 ^{c;B}
Micro-ondas								
	Cru	Controle	0,25% manjeriço	0,5% manjeriço	0,75% manjeriço	0,25% orégano	0,5% orégano	0,75% orégano
Umidade	76,71 ± 0,14	70,61 ± 0,15*	70,89 ± 0,35 ^{a;A;*}	71,21 ± 0,43 ^{a;AB;*}	71,60 ± 0,35 ^{a;B;δ;*}	70,58 ± 0,39 ^{a;C;*}	71,20 ± 0,17 ^{a;CD;*}	71,41 ± 0,37 ^{a;D;*}
Lipídios totais	29,72 ± 0,42	27,79 ± 0,17*	27,70 ± 0,10 ^{a;A;*}	27,80 ± 0,22 ^{b;A;*}	27,84 ± 0,05 ^{c;A;*}	27,75 ± 0,07 ^{a;B;*}	27,77 ± 0,13 ^{b;B;*}	27,78 ± 0,26 ^{c;B;*}

Resultados de análises realizadas em triplicatas, média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre o tipo de erva considerando a mesma porcentagem de adição e método de cocção pelo teste de Tukey pos-hoc. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre as porcentagens de adição de cada erva para o mesmo método de cocção pelo teste de Tukey pos-hoc. *Air fryer* - "β" indica diferença significativa em comparação com o "controle" pelo teste de Dunnett. Fogão - "α" indica diferença significativa em comparação com o "controle" pelo teste de Dunnett. Micro-ondas - "δ" indica diferença significativa em comparação com o "controle" pelo teste de Dunnett. "*" indica diferença significativa de qualquer amostra em comparação com o "cru".

O teor de lipídios determinado para o ovo fresco, em base seca, foi $29,72 \pm 0,42$ g/100 g (Tabela 3), enquanto as amostras de omelete controle apresentaram lipídios variando de $27,79 \pm 0,17$ (micro-ondas) a $28,67 \pm 0,40$ g/100 g (*air fryer*). As análises estatísticas demonstraram que apenas o tratamento térmico com micro-ondas impactou significativamente o conteúdo lipídico, com redução de 6,5% ($p < 0,05$). Além disso, a adição do manjeriço e o orégano não alterou significativamente os teores de lipídios para a maioria dos tratamentos ($p > 0,05$).

A umidade em ovos cozidos é comumente menor quando comparada com ovos frescos (MURCIA et al., 1999; CORTINAS et al., 2003; SU et al., 2021; TANG et al., 2021). Tang et al. (2021) reportaram alterações na composição de ovos (gema e clara) durante o preparo em fogão (130 °C/ 2,5 min) e micro-ondas (300 W/ 4 min), revelando reduções do teor de umidade de 76,52 (ovo fresco) para 67,15 (fogão) e 73,47 g/100 g (micro-ondas). Por outro lado, a literatura tem demonstrado que o teor lipídico pode aumentar (TANG et al., 2021), diminuir (MURCIA et al., 1999) e, inclusive, não ser afetado pelo cozimento (CORTINAS et al., 2003). Diferenças entre os resultados de estudos anteriores e o presente estudo podem ser atribuídas aos diferentes parâmetros de processamento aplicados, como a frequência, o tempo de cozimento, a temperatura interna alcançada, os equipamentos, entre outros.

3.2.2 Efeitos da adição das ervas frente à degradação de ácidos graxos

Os principais ácidos graxos identificados na amostra de ovo fresco foram os ácidos oleico (C18:1 n9c, $38,69 \pm 0,09$ g/100 g óleo), palmítico (C16:0, $23,44 \pm 0,05$ g/100 g óleo) e linoleico (C18:2 n6c, $9,35 \pm 0,05$ g/100 g óleo). Quanto ao somatório dos diferentes grupos de ácidos graxos, foram determinados teores de $32,18 \pm 0,12$, $42,60 \pm 0,10$ e $11,26 \pm 0,03$ g/100 g óleo para os ácidos graxos saturados (AGSs), ácidos graxos monoinsaturados (AGMIs) e ácidos graxos poli-insaturados (AGPIs), respectivamente (Tabela 4). Assim, essa amostra apresentou um nível mais elevado de AGMIs, seguido pelos AGSs, o que concorda com dados presentes na literatura (AL JUHAIMI, USLU e ÖZCAN, 2017; INNOSA et al., 2019).

Tabela 4: Composição de ácidos graxos (g/100 g óleo) das amostras de omeletes cruas e cozidas (controle e com adição de manjeriçã (0,25, 0,5 e 0,75%) e orégano (0,25, 0,5 e 0,75%)).

<i>Air fryer</i>								
Ácido graxo	Cru	Controle	0,25% manjeriçã	0,5% manjeriçã	0,75% manjeriçã	0,25% orégano	0,5% orégano	0,75% orégano
C14:0	0,31 ± 0,00	0,31 ± 0,01	0,30 ± 0,01 ^{a:A}	0,31 ± 0,00 ^{b:A}	0,30 ± 0,01 ^{c:A}	0,30 ± 0,00 ^{a:B}	0,30 ± 0,00 ^{b:B}	0,31 ± 0,00 ^{c:B}
C16:0	23,44 ± 0,05	22,80 ± 0,25*	22,85 ± 0,62 ^{a:A*}	23,06 ± 0,05 ^{A:b}	23,11 ± 0,15 ^{a:A:c}	22,87 ± 0,15 ^{a:B*}	22,83 ± 0,03 ^{b:B*}	22,98 ± 0,19 ^{B:c}
C18:0	8,27 ± 0,18	7,30 ± 0,23*	7,57 ± 0,07 ^{a:A*}	7,61 ± 0,27 ^{b:AB*}	7,98 ± 0,41 ^{c:B;β}	7,51 ± 0,04 ^{a:C*}	7,54 ± 0,26 ^{b:C*}	7,57 ± 0,06 ^{d:C*}
C22:0	0,16 ± 0,00	0,08 ± 0,00*	0,12 ± 0,00 ^{a:A;β*}	0,12 ± 0,00 ^{b:A;β*}	0,13 ± 0,01 ^{c:A;β*}	0,12 ± 0,00 ^{a:B;β*}	0,12 ± 0,00 ^{b:B;β*}	0,13 ± 0,00 ^{c:B;β*}
C16:1	3,09 ± 0,01	2,56 ± 0,01*	2,57 ± 0,11 ^{a:A*}	2,59 ± 0,03 ^{b:A*}	2,60 ± 0,09 ^{c:A*}	2,57 ± 0,02 ^{a:B*}	2,56 ± 0,04 ^{b:B*}	2,61 ± 0,06 ^{c:B*}
C18:1 n9c	38,69 ± 0,09	42,67 ± 0,17*	42,41 ± 0,60 ^{a:A*}	42,13 ± 0,25 ^{b:A*}	42,53 ± 0,19 ^{c:A*}	42,49 ± 0,13 ^{a:B*}	42,49 ± 0,16 ^{b:B*}	42,58 ± 0,49 ^{c:B*}
C20:1 n9	0,43 ± 0,00	0,38 ± 0,01*	0,39 ± 0,03 ^{a:A*}	0,40 ± 0,03 ^{b:A}	0,40 ± 0,02 ^{c:A}	0,38 ± 0,01 ^{a:B*}	0,39 ± 0,00 ^{b:B*}	0,41 ± 0,01 ^{c:B}
C24:1 n9	0,39 ± 0,00	0,12 ± 0,02*	0,21 ± 0,00 ^{a:A;β*}	0,21 ± 0,00 ^{b:A;β*}	0,24 ± 0,02 ^{c:A;β*}	0,21 ± 0,00 ^{a:B;β*}	0,22 ± 0,03 ^{b:BC*}	0,24 ± 0,00 ^{c:C*}
C18:2 n6c	9,35 ± 0,05	8,15 ± 0,04*	8,36 ± 0,14 ^{a:A*}	8,44 ± 0,16 ^{b:A*}	8,51 ± 0,18 ^{d:A*}	8,54 ± 0,04 ^{a:B;β*}	8,71 ± 0,27 ^{c:B*}	8,76 ± 0,12 ^{e:B*}
C20:4 n6	1,55 ± 0,00	0,61 ± 0,07*	1,02 ± 0,02 ^{a:A;β*}	1,07 ± 0,02 ^{b:A;β*}	1,12 ± 0,11 ^{c:A;β*}	0,98 ± 0,0 ^{a:B;β*}	1,09 ± 0,08 ^{b:BC;β*}	1,14 ± 0,07 ^{c:C;β*}
C22:6 n3	0,36 ± 0,00	0,08 ± 0,01*	0,18 ± 0,00 ^{a:A;β*}	0,18 ± 0,01 ^{b:A;β*}	0,23 ± 0,00 ^{c:B;β*}	0,16 ± 0,01 ^{a:C;β*}	0,17 ± 0,03 ^{b:C;β*}	0,20 ± 0,04 ^{c:C;β*}
ΣAGS	32,18 ± 0,12	30,49 ± 0,48*	30,84 ± 0,57 ^{a:A*}	31,10 ± 0,33 ^{b:A;β*}	31,52 ± 0,43 ^{c:A;β}	30,80 ± 0,19 ^{a:B*}	30,79 ± 0,26 ^{b:B*}	30,98 ± 0,16 ^{c:B*}
ΣAGMI	42,60 ± 0,10	45,73 ± 0,17*	45,58 ± 0,62 ^{a:A*}	45,33 ± 0,24 ^{b:A*}	45,77 ± 0,12 ^{c:A*}	45,65 ± 0,12 ^{a:B*}	45,66 ± 0,13 ^{b:B*}	45,84 ± 0,52 ^{c:B*}
ΣAGPI	11,26 ± 0,03	8,84 ± 0,12*	9,56 ± 0,16 ^{a:A;β*}	9,69 ± 0,14 ^{b:A;β*}	9,86 ± 0,26 ^{d:A;β*}	9,68 ± 0,12 ^{a:B;β*}	9,97 ± 0,33 ^{c:BC;β*}	10,09 ± 0,22 ^{d:C;β*}
ΣAGI	53,86 ± 0,12	54,57 ± 0,06	55,14 ± 0,49 ^{a:A*}	55,02 ± 0,39 ^{b:A}	55,63 ± 0,30 ^{c:A;β*}	55,33 ± 0,20 ^{a:B*}	55,63 ± 0,21 ^{b:B;β*}	55,93 ± 0,73 ^{c:B;β*}

$\Sigma n3/n6$	0,03 ± 0,00	0,01 ± 0,00*	0,02 ± 0,00 ^{a:A;β:*}	0,02 ± 0,00 ^{b:A;β:*}	0,02 ± 0,00 ^{c:A;β:*}	0,02 ± 0,00 ^{a:B;β:*}	0,02 ± 0,00 ^{b:B;β:*}	0,02 ± 0,00 ^{c:B;β:*}
Fogão								
	Cru	Controle	0,25% manjeriçã	0,5% manjeriçã	0,75% manjeriçã	0,25% orégano	0,5% orégano	0,75% orégano
C14:0	0,31 ± 0,00	0,25 ± 0,00*	0,27 ± 0,01 ^{a:A;*}	0,29 ± 0,01 ^{b:A}	0,29 ± 0,00 ^{c:A}	0,27 ± 0,00 ^{a:B;*}	0,27 ± 0,00 ^{b:B;*}	0,29 ± 0,00 ^{c:B}
C16:0	23,44 ± 0,05	22,63 ± 9,28*	22,65 ± 0,15 ^{a:A;*}	22,75 ± 0,56 ^{b:A;*}	22,76 ± 0,12 ^{c:A;*}	22,64 ± 0,14 ^{a:B;*}	22,67 ± 0,02 ^{b:B;*}	22,71 ± 0,14 ^{c:B;*}
C18:0	8,27 ± 0,18	7,49 ± 0,21*	7,64 ± 0,03 ^{a:A;α;*}	7,70 ± 0,19 ^{b:A;α;*}	7,98 ± 0,00 ^{d:A;α}	7,81 ± 0,08 ^{a:B;α;*}	8,14 ± 0,00 ^{c:B;α}	8,17 ± 0,03 ^{d:B;α}
C22:0	0,16 ± 0,00	0,11 ± 0,01*	0,12 ± 0,00 ^{a:A;*}	0,14 ± 0,00 ^{b:A;α;*}	0,14 ± 0,01 ^{c:A;α;*}	0,13 ± 0,00 ^{a:B;α;*}	0,13 ± 0,00 ^{b:B;α;*}	0,15 ± 0,01 ^{c:C;α;*}
C16:1	3,09 ± 0,01	2,54 ± 0,05*	2,55 ± 0,04 ^{a:A;*}	2,58 ± 0,07 ^{b:A;*}	2,60 ± 0,01 ^{c:A;α;*}	2,57 ± 0,03 ^{a:B;α;*}	2,58 ± 0,03 ^{b:B;α;*}	2,62 ± 0,06 ^{c:B;α;*}
C18:1 n9c	38,69 ± 0,09	42,81 ± 0,22*	42,62 ± 0,15 ^{a:A;*}	42,81 ± 0,10 ^{b:A;*}	42,63 ± 0,35 ^{c:A;*}	42,71 ± 0,14 ^{a:B;*}	42,69 ± 0,01 ^{b:B;*}	42,73 ± 0,05 ^{c:B;*}
C20:1 n9	0,43 ± 0,00	0,32 ± 0,01*	0,33 ± 0,00 ^{a:A;α;*}	0,35 ± 0,02 ^{b:A;α;*}	0,36 ± 0,01 ^{d:A;α;*}	0,31 ± 0,02 ^{a:B;*}	0,30 ± 0,00 ^{c:B;*}	0,31 ± 0,02 ^{e:B;*}
C24:1 n9	0,39 ± 0,00	0,12 ± 0,01*	0,20 ± 0,01 ^{a:A; α;*}	0,21 ± 0,00 ^{c:A;α;*}	0,29 ± 0,01 ^{e:B;α;*}	0,23 ± 0,00 ^{b:C;α;*}	0,25 ± 0,01 ^{d;CD;α;*}	0,26 ± 0,03 ^{e:D;α;*}
C18:2 n6c	9,35 ± 0,05	8,20 ± 0,02*	8,07 ± 0,42 ^{a:A;*}	8,15 ± 0,07 ^{b:A;*}	8,17 ± 0,01 ^{c:A;*}	8,20 ± 0,02 ^{a:B;*}	8,28 ± 0,02 ^{b:B;α;*}	8,34 ± 0,02 ^{c:B;α;*}
C20:4 n6	1,55 ± 0,00	0,77 ± 0,01*	1,08 ± 0,0 ^{a:A;α;*}	1,15 ± 0,03 ^{b;AB;α;*}	1,25 ± 0,03 ^{c;B;α;*}	1,13 ± 0,01 ^{a:C;α;*}	1,14 ± 0,00 ^{b:C; α;*}	1,19 ± 0,05 ^{c:C;α;*}
C22:6 n3	0,36 ± 0,00	0,07 ± 0,01*	0,16 ± 0,01 ^{a:A;α;*}	0,17 ± 0,00 ^{b;AB;α;*}	0,21 ± 0,00 ^{c;B;α;*}	0,18 ± 0,0 ^{a:C;α;*}	0,19 ± 0,00 ^{b:C; α;*}	0,19 ± 0,00 ^{c:C;α;*}
ΣAGS	32,18 ± 0,12	30,48 ± 0,43*	30,68 ± 0,14 ^{a:A;*}	30,88 ± 0,66 ^{b:A;α;*}	31,17 ± 0,22 ^{c:A;α;*}	30,84 ± 0,06 ^{a:B;α;*}	31,21 ± 0,02 ^{b:B;α;*}	31,32 ± 0,16 ^{c:B;α;*}

ΣAGMI	42,60 ± 0,10	45,79 ± 0,18*	45,70 ± 0,16 ^{a:A;α*}	45,95 ± 0,10 ^{b:A;α*}	45,88 ± 0,35 ^{c:A;α*}	45,82 ± 0,13 ^{a:B;α*}	45,83 ± 0,02 ^{b:B;α*}	45,92 ± 0,15 ^{c:B;α*}
ΣAGPI	11,26 ± 0,03	9,04 ± 0,03*	9,31 ± 0,46 ^{a:A;α*}	9,47 ± 0,07 ^{b:A;α*}	9,63 ± 0,02 ^{c:A;α*}	9,51 ± 0,02 ^{a:B;α*}	9,61 ± 0,01 ^{b:B;α*}	9,72 ± 0,08 ^{c:B;α*}
ΣAGI	53,86 ± 0,12	54,83 ± 0,15	55,01 ± 0,40 ^{a:A}	55,42 ± 0,16 ^{b:A;α*}	55,51 ± 0,32 ^{c:A;α*}	55,33 ± 0,12 ^{a:B;α*}	55,43 ± 0,01 ^{b:B;α*}	55,64 ± 0,24 ^{c:B;α*}
Σn3/n6	0,03 ± 0,00	0,01 ± 0,00*	0,02 ± 0,00 ^{a:A;α*}	0,02 ± 0,00 ^{b:A;α*}	0,02 ± 0,00 ^{c:A;α*}	0,02 ± 0,00 ^{a:B;α*}	0,02 ± 0,00 ^{b:B;α*}	0,02 ± 0,01 ^{c:B;α*}

Micro-ondas

	Cru	Controle	0,25% manjeriçãõ	0,5% manjeriçãõ	0,75% manjeriçãõ	0,25% orégano	0,5% orégano	0,75% orégano
C14:0	0,31 ± 0,00	0,29 ± 0,01	0,30 ± 0,00 ^{a:A}	0,30 ± 0,00 ^{b:A}	0,30 ± 0,01 ^{c:A}	0,30 ± 0,01 ^{a:B}	0,30 ± 0,05 ^{b:B}	0,30 ± 0,01 ^{c:B}
C16:0	23,44 ± 0,05	23,11 ± 0,08	23,18 ± 0,05 ^{a:A}	23,22 ± 0,49 ^{b:A}	23,28 ± 0,16 ^{c:A}	23,32 ± 0,02 ^{a:B}	23,38 ± 0,07 ^{b:B}	23,46 ± 0,01 ^{c:B}
C18:0	8,27 ± 0,18	7,38 ± 0,11*	7,90 ± 0,20 ^{a:A}	8,10 ± 0,30 ^{b:A}	8,17 ± 0,14 ^{d:A;δ}	8,15 ± 0,01 ^{a:B;δ}	8,47 ± 0,38 ^{c:B;δ}	8,51 ± 0,02 ^{e:B;δ}
C22:0	0,16 ± 0,00	0,09 ± 0,01*	0,11 ± 0,01 ^{a:A;α*}	0,12 ± 0,01 ^{c:A;δ;*}	0,12 ± 0,01 ^{e:A;δ;*}	0,13 ± 0,00 ^{b:B;δ;*}	0,15 ± 0,01 ^{d:BC;δ}	0,16 ± 0,01 ^{f:C;δ}
C16:1	3,09 ± 0,01	2,61 ± 0,02*	2,65 ± 0,02 ^{a:A;α*}	2,67 ± 0,02 ^{c:A;α*}	2,68 ± 0,02 ^{e:A;α*}	2,74 ± 0,01 ^{b:B;α*}	2,80 ± 0,00 ^{d:B;α*}	2,84 ± 0,06 ^{f:B;α*}
C18:1 n9c	38,69 ± 0,09	40,37 ± 1,45*	40,56 ± 0,27 ^{a:A;α*}	40,47 ± 0,28 ^{b:A;α*}	40,42 ± 0,09 ^{c:A;α*}	40,44 ± 0,22 ^{a:B;α*}	40,36 ± 0,08 ^{b:B;α*}	40,55 ± 0,19 ^{c:B;α*}
C20:1 n9	0,43 ± 0,00	0,36 ± 0,00*	0,39 ± 0,03 ^{a:A;α*}	0,40 ± 0,01 ^{b:A}	0,41 ± 0,00 ^{c:A}	0,38 ± 0,01 ^{a:B;α*}	0,38 ± 0,01 ^{b:B;α*}	0,38 ± 0,01 ^{c:B;α*}
C24:1 n9	0,39 ± 0,00	0,19 ± 0,01*	0,21 ± 0,01 ^{a:A;δ;*}	0,23 ± 0,03 ^{b:AB;δ;*}	0,25 ± 0,01 ^{d:B;δ;*}	0,22 ± 0,00 ^{a:C;δ;*}	0,27 ± 0,04 ^{c:D;δ;*}	0,30 ± 0,02 ^{e:D;δ;*}
C18:2 n6c	9,35 ± 0,05	8,38 ± 0,11*	8,57 ± 0,09 ^{a:A;α*}	8,62 ± 0,08 ^{b:A;α*}	8,63 ± 0,00 ^{c:A;α*}	8,54 ± 0,07 ^{a:B;α*}	8,68 ± 0,25 ^{b:B;α*}	8,71 ± 0,07 ^{c:B;α*}

C20:4 n6	1,55 ± 0,00	0,90 ± 0,11*	1,19 ± 0,03 ^{a:A;δ;*}	1,23 ± 0,01 ^{c:A;δ;*}	1,29 ± 0,01 ^{d:A;δ;*}	1,01 ± 0,00 ^{b:B;δ;*}	1,14 ± 0,09 ^{c:C;δ;*}	1,19 ± 0,00 ^{c:C;δ;*}
C22:6 n3	0,36 ± 0,00	0,16 ± 0,02*	0,24 ± 0,03 ^{a:A;δ;*}	0,26 ± 0,03 ^{c:A;δ;*}	0,28 ± 0,01 ^{e:A;δ;*}	0,18 ± 0,00 ^{b:B;δ;*}	0,23 ± 0,02 ^{d:C;δ;*}	0,27 ± 0,03 ^{c:C;δ;*}
ΣAGS	32,18 ± 0,12	30,87 ± 0,15*	31,49 ± 0,26 ^{a:A;*}	31,74 ± 0,80 ^{b:A;δ;*}	31,87 ± 0,11 ^{d:A;δ;*}	31,90 ± 0,01 ^{a:B;δ;*}	32,30 ± 0,35 ^{c:B;δ;*}	32,43 ± 0,02 ^{e;B;δ;*}
ΣAGMI	42,60 ± 0,10	43,53 ± 1,43	43,81 ± 0,21 ^{a:A;*}	43,77 ± 0,26 ^{b:A;*}	43,76 ± 0,08 ^{c:A;*}	43,78 ± 0,20 ^{a:B;*}	43,81 ± 0,06 ^{b:B;*}	44,07 ± 0,11 ^{c:B;*}
ΣAGPI	11,26 ± 0,03	9,44 ± 0,08*	10,00 ± 0,03 ^{a:A;δ;*}	10,11 ± 0,06 ^{c:A;δ;*}	10,20 ± 0,01 ^{d:A;δ;*}	9,73 ± 0,07 ^{b:B;δ;*}	10,05 ± 0,34 ^{c:BC;δ;*}	10,17 ± 0,04 ^{d:C;δ;*}
ΣAGI	53,86 ± 0,12	52,97 ± 1,49*	53,81 ± 0,24 ^{a:A}	53,88 ± 0,32 ^{b:A;δ}	53,96 ± 0,07 ^{c:A;δ}	53,51 ± 0,13 ^{a:B}	53,86 ± 0,33 ^{b:B;δ}	54,24 ± 0,15 ^{c:B;δ}
Σn3/n6	0,03 ± 0,00	0,02 ± 0,00*	0,02 ± 0,02 ^{a:A}	0,03 ± 0,00 ^{c:A}	0,03 ± 0,00 ^{d:A}	0,02 ± 0,00 ^{b:B}	0,02 ± 0,00 ^{c:B}	0,03 ± 0,00 ^{d:B}

AGS = ácido graxo saturado; AGMI = ácido graxo monoinsaturado; AGPI = ácido graxo poli-insaturado; AGI = ácido graxo insaturado. Resultados de análises realizadas em triplicatas, média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre o tipo de erva considerando a mesma porcentagem de adição e método de cocção pelo teste de Tukey pos-hoc. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre as porcentagens de adição de cada erva para o mesmo método de cocção pelo teste de Tukey pos-hoc. *Air fryer* - "β" indica diferença significativa em comparação com o "controle" pelo teste de Dunnett. Fogão - "α" indica diferença significativa em comparação com o "controle" pelo teste de Dunnett. Micro-ondas - "δ" indica diferença significativa em comparação com o "controle" pelo teste de Dunnett. "*" indica diferença significativa de qualquer amostra em comparação com o "cru".

Após o aquecimento foram observadas alterações quantitativas na composição de ácidos graxos das amostras, o que foi demonstrado pelo aumento dos níveis de AGMIs e redução dos teores de AGPIs e AGSs ($p < 0,05$), independentemente do método de cocção utilizado. A redução do teor de AGPIs é um parâmetro comumente avaliado para investigar a oxidação lipídica em alimentos. A abstração de hidrogênios alílicos e bisalílicos requer menos energia que a abstração de um hidrogênio alquil durante a fase inicial da oxidação lipídica, onde ácidos graxos insaturados perdem um átomo de hidrogênio ($H\bullet$) gerando um radical alquil ($R\bullet$) (MIN e BOFF, 2002). Assim, quanto maior o número de insaturações presentes na cadeia de um ácido graxo, maior a taxa de oxidação. Quanto a termo-oxidação, o aquecimento é um forte indutor da oxidação, pois o emprego de elevadas temperaturas reduz a energia necessária para a abstração de hidrogênio (BARRIUSO, ANSORENA e ASTIASARÁN, 2017).

No presente estudo, o teor de AGPIs reduziu de $11,26 \pm 0,03$ (cru) para $8,84 \pm 0,12$ g/100 g óleo (*air fryer*), $9,04 \pm 0,03$ g/100 g óleo (fogão) e $9,44 \pm 0,08$ g/100 g óleo (micro-ondas) (Tabela 4), sendo o maior impacto causado pelo tratamento em *air fryer*. Estudos anteriores também descreveram a degradação dos ácidos graxos em ovos durante o cozimento (MURCIA et al., 2003; DOUNY et al., 2015; AL JUHAIMI, USLU e ÖZCAN, 2017).

No entanto, a adição das ervas minimizou a degradação dos AGPIs. Para o manjericão, as amostras tratadas em *air fryer* apresentaram níveis variando de $9,56 \pm 0,16$ (0,25%) a $9,86 \pm 0,26$ g/100 g óleo (0,75%). Os teores de AGPIs determinados nas amostras adicionadas com 0,75% de manjericão após a cocção em fogão e micro-ondas foram $9,63 \pm 0,02$ e $10,20 \pm 0,01$ g/100 g óleo, respectivamente. Assim, níveis inferiores foram encontrados nas amostras adicionadas da erva em comparação com as amostras controle, indicando o efeito protetor do manjericão frente à degradação dos AGPIs. Não foram detectadas diferenças estatísticas devido às diferentes concentrações de manjericão utilizadas ($p > 0,05$).

As amostras preparadas em *air fryer* contendo 0,75% orégano apresentaram $10,09 \pm 0,22$ g/100 g óleo para AGPIs, enquanto $9,72 \pm 0,08$ g/100 g óleo foram determinados nas amostras preparadas em fogão. Após o tratamento em micro-ondas, os níveis de AGPIs variaram de $9,73 \pm 0,07$ (0,25%) a $10,17 \pm 0,04$ g/100 g óleo (0,75%). Assim como observado para o manjericão, as variadas concentrações de orégano não influenciaram os resultados das amostras tratadas no fogão ($p > 0,05$). Entretanto, níveis inferiores de AGPIs foram encontrados em amostras contendo 0,25% de orégano em comparação com o tratamento a 0,75% para o cozimento em micro-ondas e *air fryer* ($p < 0,05$). Além disso, as análises estatísticas revelaram um efeito protetor similar para ambas às ervas, quando adicionadas na concentração de 0,75%, frente à degradação de AGPIs para todos os métodos avaliados ($p > 0,05$).

A termo-oxidação lipídica resulta na perda da qualidade sensorial e nutricional de alimentos, devido às reações oxidativas que envolvem os AGPIs. Neste estudo, o efeito protetor decorrente da adição das ervas pode ser atribuído a presença de compostos antioxidantes como os compostos fenólicos. Diversos estudos têm demonstrado o potencial de ervas culinárias frente aos processos oxidativos, seja como ervas frescas, a aplicação de extratos naturais das ervas, e até mesmo por meio da incorporação em embalagens. Assim, compostos antioxidantes presentes no orégano e no manjericão podem melhorar as propriedades antioxidantes dos alimentos e auxiliar no controle da oxidação lipídica. Ademais, os óleos essenciais extraídos das ervas também representam alternativas promissoras, sendo amplamente utilizados (CHINPRAHAST et al., 2018; FERNANDES et al., 2018; ZEID et al., 2019; ALEXANDRE et al., 2021).

3.2.3 Efeitos da adição das ervas frente à degradação do colesterol

O teor de colesterol do ovo fresco foi de $1038,41 \pm 4,51$ mg/100 g (base seca) (Tabela 5). Um conteúdo semelhante foi determinado por Batkowska et al. (2021) que encontraram 1010 mg/100 g, enquanto níveis mais elevados foram reportados para ovos obtidos de galinhas de diferentes sistemas de criação (de 1310 a 1440 mg/100 g) (CZERWONKA et al., 2021).

Tabela 5: Teores de colesterol (mg/100 g, base seca) e óxidos de colesterol ($\mu\text{g/g}$, base seca) das amostras de omeletes cruas e cozidas (controle e com adição de manjericão (0,25, 0,5 e 0,75%) e orégano (0,25, 0,5 e 0,75%)).

<i>Air fryer</i>								
	Cru	Controle	0,25% manjericão	0,5% manjericão	0,75% manjericão	0,25% orégano	0,5% orégano	0,75% orégano
5,6α-EP	-	26,67 \pm 0,20	21,55 \pm 2,41 ^A	21,38 \pm 2,71 ^{AB}	19,75 \pm 1,03 ^B	-	-	-
5,6β-EP	13,09 \pm 0,12	71,56 \pm 1,88*	57,39 \pm 0,57 ^{a:A;β*}	46,24 \pm 5,37 ^{c:B;β*}	37,30 \pm 5,24 ^{e:C;β*}	40,43 \pm 3,49 ^{b:D;β*}	28,59 \pm 0,57 ^{d:E;β*}	26,48 \pm 0,45 ^{f:F;β*}
20α-OH	1,57 \pm 0,02	14,88 \pm 0,21*	13,81 \pm 1,25 ^{a:A*}	8,01 \pm 0,28 ^{c:B;β*}	6,77 \pm 0,98 ^{e:B;β*}	16,30 \pm 0,48 ^{b:C*}	11,13 \pm 0,39 ^{d:D*}	5,35 \pm 0,19 ^{f:E;β*}
25-OH	1,63 \pm 0,30	96,86 \pm 0,73*	69,39 \pm 5,81 ^{a:A;β*}	67,13 \pm 13,71 ^{c:B;β*}	66,04 \pm 11,34 ^{e:C;β*}	39,71 \pm 3,81 ^{b:D;β*}	25,90 \pm 3,43 ^{d:E;β*}	11,25 \pm 0,77 ^{f:F;β*}
7α-OH	5,42 \pm 0,22	28,14 \pm 0,62*	11,28 \pm 0,11 ^{a:AB;β*}	12,25 \pm 1,49 ^{e:A;β*}	9,14 \pm 0,21 ^{d:B;β*}	15,95 \pm 1,25 ^{b:C;β*}	11,21 \pm 1,94 ^{c:D;β*}	9,91 \pm 0,23 ^{d:D;β*}
7β-OH	-	-	-	-	-	-	-	-
7-ceto	19,88 \pm 2,48	582,93 \pm 12,73*	448,83 \pm 0,65 ^{a:A;β*}	202,21 \pm 0,34 ^{c:B;β*}	155,99 \pm 12,21 ^{e:C;β*}	265,43 \pm 3,02 ^{b:D;β*}	138,76 \pm 3,63 ^{d:E;β*}	99,05 \pm 6,22 ^{f:F;β*}
POCs totais	40,69 \pm 2,26	821,05 \pm 13,77*	622,25 \pm 5,89 ^{a:A;β*}	357,23 \pm 23,33 ^{c:B;β*}	294,00 \pm 20,4 ^{e:C;β*}	377,82 \pm 6,41 ^{b:D;β*}	215,59 \pm 8,00 ^{d:E;β*}	152,04 \pm 5,85 ^{f:F;β*}
Colesterol	1038,41 \pm 4,51	426,21 \pm 5,84*	713,59 \pm 4,67 ^{a:A;β*}	753,14 \pm 1,76 ^{c:B;β*}	768,77 \pm 5,39 ^{d:B;β*}	738,05 \pm 16,67 ^{b:C;β*}	762,66 \pm 12,26 ^{c:D;β*}	812,93 \pm 7,10 ^{e:F;β*}
<i>Fogão</i>								
	Cru	Controle	0,25% manjericão	0,5% manjericão	0,75% manjericão	0,25% orégano	0,5% orégano	0,75% orégano
5,6α-EP	-	-	-	-	-	-	-	-
5,6β-EP	13,09 \pm 0,12	66,75 \pm 4,11*	17,76 \pm 1,92 ^{a:A;α}	18,82 \pm 3,79 ^{c:A;α}	15,92 \pm 1,44 ^{d:A;α}	60,95 \pm 4,07 ^{b:B;α*}	21,08 \pm 2,96 ^{c:C;α*}	13,30 \pm 0,04 ^{d:D;α}
20α-OH	1,57 \pm 0,02	29,54 \pm 1,41*	11,77 \pm 0,35 ^{a:A;α*}	11,92 \pm 0,34 ^{c:A;α*}	11,02 \pm 0,06 ^{e:A;α*}	7,27 \pm 1,08 ^{b:B;α*}	2,52 \pm 0,13 ^{d:C;α}	2,31 \pm 0,18 ^{f:C;α}
25-OH	1,63 \pm 0,30	31,70 \pm 0,72*	11,52 \pm 1,99 ^{a:A;α*}	4,67 \pm 0,35 ^{c:B;α}	3,82 \pm 0,08 ^{e:B;α}	43,07 \pm 0,69 ^{b:C;α*}	28,41 \pm 0,88 ^{d:D;α*}	6,63 \pm 0,05 ^{e:E;α}
7α-OH	5,42 \pm 0,22	8,18 \pm 1,08*	7,04 \pm 0,03 ^{a:α*}	5,84 \pm 0,33 ^{b:A;α}	5,41 \pm 0,80 ^{c:A;α}	8,47 \pm 0,15 ^{a:B;α*}	4,29 \pm 1,16 ^{b:C;α}	2,55 \pm 0,21 ^{d:C;α*}
7β-OH	-	-	-	-	-	-	-	-
7-ceto	19,88 \pm 2,48	174,90 \pm 8,99*	83,06 \pm 1,70 ^{a:A;α*}	43,92 \pm 0,65 ^{c:B;α*}	36,58 \pm 6,40 ^{e:B;α*}	152,30 \pm 0,51 ^{b:C;α*}	119,89 \pm 1,25 ^{d:D;α*}	51,43 \pm 0,37 ^{f:E;α*}
POCs totais	40,69 \pm 2,26	311,07 \pm 13,84*	131,15 \pm 4,89 ^{a:A;α*}	85,17 \pm 4,90 ^{e:B;α*}	72,76 \pm 7,73 ^{e:B;α*}	272,07 \pm 3,76 ^{b:C;α*}	176,19 \pm 1,04 ^{d:D;α*}	76,26 \pm 0,64 ^{e:E;α*}
Colesterol	1038,41 \pm 4,51	751,55 \pm 1,20*	733,57 \pm 3,26 ^{a:A;α*}	832,53 \pm 8,50 ^{c:B;α*}	929,94 \pm 4,68 ^{e:C;α*}	838,96 \pm 2,47 ^{b:D;α*}	877,84 \pm 6,52 ^{d:E;α*}	903,67 \pm 3,19 ^{f:F;α*}

	Micro-ondas							
	Cru	Controle	0,25% manjeriçã	0,5% manjeriçã	0,75% manjeriçã	0,25% orégano	0,5% orégano	0,75% orégano
5,6α-EP	-	23,37 \pm 0,58	-	-	-	-	-	-
5,6β-EP	13,09 \pm 0,12	65,17 \pm 0,05*	22,22 \pm 1,58 ^{a;A;δ;} *	20,84 \pm 1,95 ^{e;A;δ;} *	14,89 \pm 1,80 ^{e;B;δ;}	31,14 \pm 1,64 ^{b;C;δ;} *	32,80 \pm 1,81 ^{d;C;δ;} *	22,77 \pm 1,0 ^{f;D;δ;} *
20α-OH	1,57 \pm 0,02	30,60 \pm 0,10*	7,99 \pm 0,07 ^{a;A;δ;} *	7,78 \pm 1,08 ^{c;A;δ;} *	6,14 \pm 0,50 ^{e;B;δ;} *	23,39 \pm 0,06 ^{b;C;δ;} *	15,33 \pm 1,48 ^{d;D;δ;} *	7,03 \pm 0,64 ^{e;F;δ;} *
25-OH	1,63 \pm 0,30	97,96 \pm 0,42*	83,79 \pm 1,06 ^{a;A;δ;} *	65,50 \pm 5,46 ^{e;B;δ;} *	52,54 \pm 3,3 ^{e;C;δ;} *	88,54 \pm 1,59 ^{a;D;δ;} *	82,97 \pm 3,75 ^{d;D;δ;} *	70,15 \pm 1,93 ^{f;E;δ;} *
7α-OH	5,42 \pm 0,22	34,59 \pm 0,92*	13,43 \pm 2,90 ^{a;A;δ;} *	12,91 \pm 1,34 ^{c;A;δ;} *	4,20 \pm 0,16 ^{e;B;δ;}	22,59 \pm 0,86 ^{b;C;δ;} *	20,61 \pm 0,01 ^{d;C;δ;} *	16,22 \pm 0,24 ^{f;D;δ;} *
7β-OH	-	4,04 \pm 0,94	-	-	-	-	-	-
7-ceto	19,88 \pm 2,48	549,48 \pm 13,76*	79,40 \pm 5,82 ^{a;A;δ;} *	71,88 \pm 1,11 ^{c;AB;δ;} *	58,39 \pm 0,72 ^{e;B;δ;} *	181,05 \pm 3,67 ^{b;C;δ;} *	151,06 \pm 3,66 ^{d;D;δ;} *	50,07 \pm 2,01 ^{e;E;δ;} *
POCs totais	40,69 \pm 2,26	805,21 \pm 14,50*	206,83 \pm 4,15 ^{a;A;δ;} *	178,92 \pm 4,00 ^{c;B;δ;} *	130,03 \pm 0,62 ^{e;C;δ;} *	346,72 \pm 4,50 ^{b;D;δ;} *	302,78 \pm 7,37 ^{d;E;δ;} *	159,22 \pm 5,26 ^{f;F;δ;} *
Colesterol	1038,41 \pm 4,51	642,60 \pm 7,85*	818,11 \pm 6,27 ^{a;A;δ;} *	856,96 \pm 14,30 ^{e;B;δ;} *	869,81 \pm 9,73 ^{e;B;δ;} *	698,44 \pm 9,42 ^{b;C;δ;} *	815,45 \pm 4,63 ^{d;D;δ;} *	846,21 \pm 3,78 ^{f;E;δ;} *

5,6 α -EP = 5,6 α -epoxicolesterol; 5,6 β -EP = 5,6 β -epoxicolesterol; 20 α -OH = 20 α -hidroxicolesterol; 25-OH = 25-hidroxicolesterol; 7 α -OH = 7 α -hidroxicolesterol; 7 β -OH = 7 β -hidroxicolesterol; 7-ceto = 7-cetocolesterol. Resultados de análises realizadas em triplicatas, média \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre o tipo de erva considerando a mesma porcentagem de adição e método de cocção pelo teste de Tukey pos-hoc. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre as porcentagens de adição de cada erva para o mesmo método de cocção pelo teste de Tukey pos-hoc. *Air fryer* - " β " indica diferença significativa em comparação com o "controle" pelo teste de Dunnett. Fogão - " α " indica diferença significativa em comparação com o "controle" pelo teste de Dunnett. Micro-ondas - " δ " indica diferença significativa em comparação com o "controle" pelo teste de Dunnett. "*" indica diferença significativa de qualquer amostra em comparação com o "cru".

O cozimento afetou o teor de colesterol resultando em uma perda significativa deste composto ($p < 0,05$). Após o tratamento em *air fryer*, o colesterol reduziu de $1038,41 \pm 4,51$ (amostra crua) para $426,21 \pm 5,84$ mg/100 g (amostra controle). As amostras controle preparadas em micro-ondas e fogão apresentaram níveis de $642,60 \pm 7,85$ e $751,55 \pm 1,20$ mg/100 g, respectivamente. Portanto, em termos de perda ou degradação do colesterol (%), o impacto do cozimento pode ser apresentado da seguinte forma: *air fryer* (58,96%) > micro-ondas (38,12%) > fogão (27,63%). A perda de colesterol não reflete apenas na formação de produtos da oxidação do colesterol, uma vez que este composto pode ser degradado por outras vias (DEREWIAKA e MOLÍNSKA, 2015). No entanto, a adição de manjeriço e orégano às amostras contribuiu para a manutenção dos níveis de colesterol, principalmente quando as ervas foram adicionadas na concentração de 0,75%, que foi o maior nível aplicado. Em geral, para ambas as ervas, quanto maior a concentração utilizada maior o efeito protetor frente à degradação do colesterol.

Os teores de colesterol variaram de $713,59 \pm 4,67$ (0,25%) a $768,77 \pm 5,39$ mg/100 g (0,75%) nas amostras preparadas em *air fryer* adicionadas de manjeriço, enquanto o tratamento com orégano resultou em valores entre $738,05 \pm 16,67$ (0,25%) e $812,93 \pm 7,10$ mg/100 g (0,75%). Para as amostras preparadas em micro-ondas, o colesterol variou de $818,11 \pm 6,27$ (0,25%) a $869,81 \pm 9,73$ mg/100 g (0,75%) nas amostras contendo manjeriço e de $698,44 \pm 9,42$ (0,25%) a $846,21 \pm 3,78$ mg/100 g (0,75%) nas amostras contendo orégano. Além disso, as amostras preparadas em fogão apresentaram os seguintes conteúdos: de $733,57 \pm 3,26$ (0,25%) a $929,94 \pm 4,68$ mg/100 g (0,75%) (manjeriço) e de $838,96 \pm 2,47$ (0,25%) a $903,67 \pm 3,20$ mg/100 g (0,75%) (orégano).

Quanto ao tratamento com 0,75%, que foi o maior nível aplicado, observou-se a maior proteção do orégano frente à degradação do colesterol nas amostras tratadas em *air fryer*. Em contrapartida, para os tratamentos em micro-ondas e fogão, amostras adicionadas de manjeriço a 0,75% apresentaram maiores teores de colesterol. Outros autores também reportaram o efeito do emprego de elevadas temperaturas em ovos cozidos (INNOSA et al., 2019) e fritos (MAZALLI e BRAGAGNOLO, 2009), bem como durante o tratamento térmico de massas preparadas com ovo líquido pasteurizado (ZARDETTO, BARBANTI e DALLA ROSA, 2014). As alterações no colesterol durante o processamento térmico devem-se principalmente à sua degradação, oxidação e polimerização, mecanismos que podem resultar na formação de óxidos de colesterol, compostos voláteis (como aldeídos, cetonas e álcoois), oligômeros, colestadienos e fragmentos do colesterol (DEREWIAKA e MÓLISKA, 2015).

O colesterol apresenta uma insaturação entre os carbonos 5 e 6 que torna este composto altamente suscetível à oxidação (SMITH, 1987). Assim, a redução do teor de colesterol observada nas amostras após o aquecimento pode ser atribuída aos processos oxidativos. No entanto, como demonstrado neste estudo, o emprego do manjeriço e do orégano durante o preparo térmico dos ovos reduziu a degradação do colesterol e a possível formação de POCs, o que é de grande importância para a saúde pública, uma vez que os óxidos de colesterol têm mostrado efeitos adversos ao organismo humano.

3.2.4 Efeitos da adição das ervas frente à formação dos óxidos de colesterol

Cinco óxidos de colesterol foram identificados no ovo cru, incluindo 7- cetocolesterol (7-ceto), 7 α -hidroxicolesterol (7 α -OH), 5,6 β -epoxicolesterol (5,6 β -EP), 20 α -hidroxicolesterol (20 α -OH) e 25-hidroxicolesterol (25-OH). O teor total de POCs encontrado no ovo cru foi $40,69 \pm 2,26$ μ g/g, em base seca (Tabela 5), onde o 7-ceto apresentou o nível mais elevado ($19,88 \pm 2,48$ μ g/g). Embora os POCs sejam comumente reportados em alimentos

processados, a presença dos mesmos em alimentos crus de origem animal é esperada, uma vez que estes também são sintetizados de forma endógena por processos enzimáticos em animais (VICENTE e TORRES, 2007). Além disso, processos oxidativos também podem ter ocorrido nas amostras durante o armazenamento comercial.

Após o cozimento, além dos POCs encontrados na amostra crua, outros óxidos de colesterol como o 5,6 α -epoxicolesterol (5,6 α -EP) e o 7 β -hidroxicolesterol (7 β -OH) também foram determinados. No entanto, em relação às amostras controle, o 7 β -OH só foi formado após o tratamento em *air fryer*, enquanto o 5,6 α -EP não foi detectado nas omeletes preparadas em fogão. O aquecimento induziu a formação dos óxidos de colesterol para todos os métodos de cocção utilizados. Assim, os teores totais de POCs das amostras controle aumentaram da seguinte forma: fogão ($311,07 \pm 13,84 \mu\text{g/g}$) < micro-ondas ($805,21 \pm 14,50 \mu\text{g/g}$) < *air fryer* ($821,05 \pm 13,77 \mu\text{g/g}$) (Tabela 5), valores significativamente superiores aos encontrados em no ovo cru ($40,69 \pm 2,26 \mu\text{g/g}$) ($p < 0,05$). Os maiores teores de POCs presentes nas amostras controle foram determinados principalmente pela formação do 7-ceto, que apresentou conteúdos variando de $174,90 \pm 8,99$ (fogão) a $582,93 \pm 12,73 \mu\text{g/g}$ (*air fryer*).

A presença de POCs em ovos e produtos alimentícios que contêm ovos após tratamento térmico também foi descrita em estudos anteriores. 7-ceto, 7 β -OH e 7 α -OH foram determinados em ovos enriquecidos com ácidos graxos da série ômega 3 após fervura e fritura (MAZALLI e BRAGAGNOLO, 2009; REN et al., 2013). O aumento dos níveis de POCs foi reportado em massas preparadas com ovos pasteurizados após o cozimento (ZARDETTO, BARBANTI e DALLA ROSA, 2014), bem como em biscoitos formulados com ovos em pó e pasteurizados (VERARDO et al., 2020).

O 7-ceto é o principal POC reportado em alimentos (SMITH, 1987; INNOSA et al., 2019). A ligação dupla entre os carbonos 5 e 6 favorece a abstração do hidrogênio no carbono 7, resultando na formação simultânea de 7 α - e 7 β -hidroperóxidos (LENGYEL et al., 2012). Em seguida, esses compostos são reduzidos e formam seus álcoois correspondentes (7 α -OH e 7 β -OH) e o 7-ceto. Em relação aos 7 α - e 7 β -hidroperóxidos, este último é predominante, pois é termodinamicamente mais estável (SMITH, 1987). Neste estudo, teores inferiores foram observados para o 7 β -OH em comparação com o 7 α -OH. No entanto, o 7-ceto também pode ser formado a partir do 7 α -OH e do 7 β -OH (TAI, CHEN, e CHEN, 1999), o que sugere a possível formação de 7 β -OH e posterior degradação, acarretando em teores elevados de 7-ceto nas amostras de omelete.

O aquecimento também induziu a formação de óxidos derivados de processos oxidativos na cadeia lateral do colesterol, como o 25-OH e o 20 α -OH, oriundos dos carbonos terciários C25 e C20, respectivamente. Elevados teores de 25-OH foram encontrados nas amostras controle, variando de $31,70 \pm 0,72$ (fogão) a $97,96 \pm 0,42 \mu\text{g/g}$ (micro-ondas). Em contrapartida, a contribuição de 20 α -OH ($14,88 \pm 0,21$ - $30,60 \pm 0,10 \mu\text{g/g}$) para o aumento dos teores de POCs foi menos evidente. Assim, o 7-ceto e o 25-OH foram os principais POCs determinados nas amostras controle após o preparo em *air fryer* e micro-ondas. Para o fogão, o 7-ceto e o 5,6 β -EP foram detectados como predominantes.

O 5,6 β -EP e o 5,6 α -EP são formados através da epoxidação, sendo comumente identificados como produtos da oxidação de colesterol pelo ar (SMITH, 1987). No presente estudo, os conteúdos de 5,6 β -EP nas amostras controle variaram de $65,17 \pm 0,05$ (micro-ondas) a $71,56 \pm 1,88 \mu\text{g/g}$ (*air fryer*), enquanto o 5,6 α -EP foi encontrado em níveis inferiores.

Em relação a cada método de cocção aplicado, o conteúdo mais elevado de POCs totais foi determinado na amostra controle preparada em *air fryer* ($821,05 \pm 13,77 \mu\text{g/g}$). Entretanto, este resultado não foi estatisticamente diferente em relação ao obtido para o micro-ondas ($805,21 \pm 14,50 \mu\text{g/g}$) ($p > 0,05$). Estudos anteriores também descreveram o impacto da cocção em *air fryer* na formação de POCs em alimentos (DE CARVALHO et al.,

2021; FERREIRA et al., 2022), enquanto Min et al. (2016) utilizaram métodos convencionais de cozimento (panela, vapor, *grill* e micro-ondas) para preparar lombo suíno e revelaram a formação mais proeminente de POCs nas amostras preparados em micro-ondas.

De Carvalho et al. (2021) avaliaram a preparação térmica das sardinhas e mostraram que a oxidação do colesterol foi induzida principalmente pelo preparo em *air fryer* em comparação com a fritura em óleo e o *grill*, o que foi atribuído à temperatura mais alta e maior tempo aplicado para esta técnica de cozimento. De Oliveira et al. (2020) investigaram os efeitos de diferentes temperaturas durante o aquecimento em um sistema modelo, mostrando que quanto maior a temperatura utilizada, maior o teor de POCs formado. Devido à falta de estudos acerca da termo-oxidação do colesterol em ovos, diferentes matrizes foram consideradas para discussão.

No presente estudo, condições mais extremas de processamento foram aplicadas durante o tratamento em *air fryer* (220 °C/ 10 min, temperatura interna: 138 °C). Considerando o preparo em micro-ondas e em fogão, o tempo de cozimento foi próximo para ambos os métodos (3 e 4 min, respectivamente). Logo, a temperatura interna alcançada nas amostras foi o parâmetro mais relevante: 84 °C (fogão) e 95 °C (micro-ondas). Desta forma, o fogão, com a menor temperatura interna, resultou no menor nível total de POCs.

Diversos parâmetros relacionados à matriz alimentar (estrutura, presença de pró-oxidantes, pH) e as condições operacionais (equipamentos, temperatura, mecanismos de transferência de calor, temperatura interna alcançada no produto, tempo de cozimento) podem influenciar diretamente a formação de POCs de forma quantitativa e qualitativa, destacando a oxidação do colesterol como um processo dinâmico e complexo (BARRIUSO, ANSOARENA e ASTIASARÁN, 2017).

O preparo térmico em fogão é o método de cozimento mais tradicional para preparar ovos. No entanto, tecnologias como o micro-ondas e o *air fryer* têm apresentado uma crescente popularidade. O *air fryer* emergiu como uma alternativa para reduzir o uso de óleo, que é absorvido pelos alimentos durante a fritura e contribui para dietas com alto teor de gordura e seus inúmeros riscos à saúde (ZAGHI et al., 2019; WALI et al., 2020). No *air fryer*, o ar quente circula uniformemente ao redor do alimento enquanto as características típicas de alimentos fritos se desenvolvem sem a necessidade de óleo (ZAGHI et al., 2019). No micro-ondas, a oscilação de moléculas dielétricas cria um atrito intermolecular que resulta na geração de calor. Enquanto no cozimento convencional em panela o calor é conduzido para o interior do alimento, o micro-ondas envolve um calor gerado dentro do alimento (CROSS, FUNG e DECAREAU, 1982; CHANDRASEKARAN, RAMANATHAN e BASAK, 2013).

As mudanças no estilo de vida têm obrigado as pessoas a adotar hábitos diferentes, onde geralmente busca-se por conveniência e praticidade. Equipamentos como o *air fryer* e o micro-ondas apresentam vantagens como o controle preciso do processo e a facilidade de operação. Além disso, são dispositivos automáticos que não requerem muita atenção humana, permitindo que as pessoas economizem tempo. Portanto, inúmeros aspectos evidenciam uma crescente tendência pelo uso desses aparelhos, demonstrando a importância de se investigar o impacto dos mesmos na oxidação do colesterol.

Apesar do efeito indutor do tratamento térmico frente à oxidação do colesterol observado neste estudo, a adição do manjeriço e do orégano mostrou-se como uma alternativa eficaz, minimizando a formação dos POCs. Os níveis de POCs totais determinados nas amostras adicionadas de manjeriço e orégano variaram de $130,03 \pm 0,62$ a $206,83 \pm 4,15$ µg/g e de $159,22 \pm 5,26$ a $346,72 \pm 4,50$ µg/g, respectivamente, teores inferiores aos observados nas amostras controle ($p < 0,05$) (Tabela 5). O 7-ceto, o 25-OH e o 5,6β-EP foram os principais óxidos identificados nas amostras controle. Em geral, os POCs encontrados nas amostras (contendo ou não as ervas) após o aquecimento foram os mesmos. No entanto, o 5,6α-EP, que foi determinado nas amostras controle preparadas em *air fryer* e

micro-ondas, não foi detectado em amostras adicionadas de orégano (*air fryer* e micro-ondas) e de manjeriço (micro-ondas). Além disso, o 7 β -OH foi encontrado apenas na amostra controle após o preparo em micro-ondas.

Para o tratamento com manjeriço, os teores totais de POCs nas amostras preparadas em *air fryer* variaram de 294,00 \pm 20,48 (0,75%) a 622,25 \pm 5,89 $\mu\text{g/g}$ (0,25%). Na amostra preparada em fogão, o tratamento com 0,75% de manjeriço reduziu o total de POCs para 72,76 \pm 7,73 $\mu\text{g/g}$. Amostras preparadas em micro-ondas com manjeriço a 0,75% apresentaram 130,03 \pm 0,62 $\mu\text{g/g}$ de POCs totais, enquanto um teor de 805,21 \pm 14,5 $\mu\text{g/g}$ foi encontrado para o controle. As amostras contendo manjeriço a 0,75% apresentaram o menor nível total de POCs, exceto para o preparo em fogão, onde os valores determinados para as adições a 0,5 e 0,75% não foram estatisticamente diferentes ($p > 0,05$).

O orégano também apresentou efeito protetor frente à formação dos óxidos de colesterol, principalmente quando aplicado a 0,75% ($p < 0,05$). Após a cocção em *air fryer*, as amostras contendo 0,75% de orégano apresentaram um teor de 152,04 \pm 5,85 $\mu\text{g/g}$ de POCs totais, resultado inferior ao encontrado na amostra controle (821,05 \pm 13,77 $\mu\text{g/g}$) ($p < 0,05$). Os totais de POCs após a cocção em micro-ondas variaram de 159,22 \pm 5,26 (0,75%) a 346,72 \pm 4,50 $\mu\text{g/g}$ (0,25%). Além disso, as amostras preparadas em fogão contendo 0,75% de orégano apresentaram 76,26 \pm 0,64 $\mu\text{g/g}$ de POCs totais.

Os resultados obtidos para o orégano e o manjeriço, quando adicionados no mesmo nível considerando o mesmo método de cozimento, foram significativamente diferentes para a maioria das amostras ($p < 0,05$). Portanto, ao comparar as duas ervas no nível de adição de 0,75% para cada método de cozimento foi possível observar a maior proteção do orégano nas amostras preparadas em *air fryer*. Em contrapartida, o manjeriço mostrou-se mais eficaz para o tratamento em micro-ondas. A amostra preparada em fogão contendo 0,75% de manjeriço apresentou um nível inferior de POCs em comparação com o resultado obtido para a adição de 0,75% de orégano; entretanto, esses valores não apresentaram diferenças estatísticas ($p > 0,05$). Embora tanto a adição de manjeriço quanto de orégano tenham se mostrado eficaz minimizando a formação de POCs em todos os tratamentos, as diferenças inerentes aos diferentes mecanismos envolvidos e às condições de processamento de cada método de cozimento influenciaram os resultados, pois uma mesma erva apresentou efeito distinto para os diferentes métodos empregados.

As propriedades antioxidantes das ervas são principalmente decorrentes da presença de compostos fenólicos, os quais são capazes de inativar radicais livres que iniciam o processo de oxidação tanto pela transferência de átomos de hidrogênio quanto pelo mecanismo de transferência de elétrons, sendo estabilizados através de mecanismos de ressonância (SHAHIDI e AMBIGAIPALAN, 2015; OLSZOWY-TOMCZYK, 2020). Como demonstrado nos itens 3.1.1 e 3.1.2, os principais compostos encontrados no orégano e no manjeriço pertencem à classe dos ácidos fenólicos, que engloba compostos com diferentes substituintes do anel aromático que podem afetar a estabilização das estruturas, influenciando a capacidade de estabilização dos radicais (KUMAR e GOEL, 2019). Além disso, flavonoides e outros compostos com potencial antioxidante também podem ser encontrados nessas ervas, que são matrizes complexas onde os componentes podem apresentar mecanismos distintos de ação, exibindo efeitos aditivos, sinérgicos ou antagônicos em relação às propriedades antioxidantes (OLSZOWY-TOMCZYK, 2020).

3.2.5 Determinação dos compostos bioativos das ervas presentes nas amostras cozidas de omelete

De um total de oito compostos identificados no manjeriço, cinco destes também foram detectados nas amostras de omelete contendo esta erva após o aquecimento, independentemente do nível de adição (0,25, 0,5 e 0,75%) e do método de cocção aplicado: ácido *p*-coumárico (m/z 163), ácido cafeico (m/z 179), isômeros ácido cítrico/isocítrico (m/z 191), ácido tuberônico hexosídeo (m/z 387) e ácido rosmarínico (m/z 359) (Tabela 6).

Tabela 6: Comparação entre os compostos bioativos presentes nos extratos das ervas (manjeriçã e orégano) e nas amostras de omelete.

Manjeriçã													
Composto	Manjeriçã	Controle	Air fryer			Controle	Fogão			Controle	Micro-ondas		
			0,25%	0,5%	0,75%		0,25%	0,5%	0,75%		0,25%	0,5%	0,75%
Ácido <i>p</i> -coumárico (<i>m/z</i> 163)	x	-	x	x	x	-	x	x	x	-	x	x	x
Ácido caféico (<i>m/z</i> 179)	x	-	x	x	x	-	x	x	x	-	x	x	x
Isômeros ácido cítrico/isocítrico (<i>m/z</i> 191)	x	-	x	x	x	-	x	x	x	-	x	x	x
Ácido caftárico (<i>m/z</i> 311)	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Isômero Ácido salvianólico F (<i>m/z</i> 313)	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cirsilineol (<i>m/z</i> 343)	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido rosmarínico (<i>m/z</i> 359)	x	-	x	x	x	-	x	x	x	-	x	x	x
Ácido tuberônico hexosídeo (<i>m/z</i> 387)	x	-	x	x	x	-	x	x	x	-	x	x	x
Orégano													
Composto	Orégano	Controle	Air fryer			Controle	Fogão			Controle	Micro-ondas		
			0,25%	0,5%	0,75%		0,25%	0,5%	0,75%		0,25%	0,5%	0,75%

Composto	Orégano	Controle	0,25%	0,5%	0,75%	Controle	0,25%	0,5%	0,75%	Controle	0,25%	0,5%	0,75%
Ácido p-hidroxibenzoico (m/z 137)	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	x	x	x
Ácido vanílico (m/z 167)	x	-	x	x	x	-	x	x	x	-	x	x	x
Ácido cafeico (m/z 179)	x	-	x	x	x	-	x	x	x	-	x	x	x
Isômeros ácido cítrico/isocítrico (m/z 191)	x	-	x	x	x	-	x	x	x	-	x	x	x
Ácido hidroxiocadecatrienóico (m/z 293)	x	-	-	-	-	-	x	x	x	-	x	x	x
Isômero Ácido salvianólico F (m/z 313)	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido trihidroxiocadecadienóico I (m/z 327)	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido tuberônico hexosídeo (m/z 387)	x	-	x	x	x	-	x	x	x	-	x	x	x

“x” indica presença do composto bioativo na amostra correspondente. “-” indica ausência do composto bioativo na amostra correspondente.

Oito compostos foram identificados no orégano. Dentre estes, seis também estavam presentes nas omeletes adicionadas desta erva: ácido *p*-hidroxibenzoico (*m/z* 137), ácido vanílico (*m/z* 167), ácido cafeico (*m/z* 179), isômeros ácido cítrico/isocítrico (*m/z* 191), ácido hidroxiocetadecatrienóico (*m/z* 293) e ácido tuberônico hexosídeo (*m/z* 387) (Tabela 6).

A ausência de determinados constituintes das ervas nas amostras de omeletes tratadas com as ervas após o cozimento sugere a possível degradação dos mesmos, uma vez que estes compostos bioativos são sensíveis a fatores como altas temperaturas, luz e oxigênio. Além disso, o menor número de compostos bioativos das ervas detectados nas omeletes também sugere a influência da matriz alimentar durante a extração destes compostos, de forma que interações formadas entre os constituintes das ervas e a matriz alimentar, bem como as características particulares de cada composto, como o peso molecular, a polaridade e a solubilidade, devem ser consideradas.

Além disso, ao se avaliar as amostras tratadas com orégano é possível observar que os diferentes métodos de cocção podem afetar os compostos de maneiras distintas. O ácido hidroxiocetadecatrienóico, por exemplo, foi determinado nas amostras preparadas em micro-ondas e fogão, mas não foi detectado após o aquecimento em *air fryer*. Já o ácido *p*-hidroxibenzoico foi encontrado apenas em omeletes preparadas em micro-ondas. A cocção em *air fryer* foi realizada sob condições mais extremas de processamento, causando um maior impacto nos constituintes alimentares, o que também foi observado para o colesterol. Entretanto, além do método/condição de cozimento, a estrutura química de um composto reflete em sua termoestabilidade e, conseqüentemente, em sua degradação (IOANNOU, CHEKIR e GHOUL, 2020).

Sergio et al. (2020) avaliaram o efeito de diferentes métodos de cocção nos teores de compostos fenólicos de vegetais e mostraram que o teor de ácido chicórico, por exemplo, foi significativamente reduzido após o tratamento térmico de *Urtica dioica*. No entanto, o conteúdo do mesmo composto não foi alterado significativamente ou aumentou quando outras espécies vegetais foram estudadas sob as mesmas condições. Esses pontos apontam a complexidade envolvida na determinação dos efeitos do tratamento térmico frente aos constituintes bioativos e propriedades antioxidantes de alimentos, pois inúmeros fatores podem influenciar a evolução desses parâmetros.

Além disso, a literatura também reporta que, mesmo após a degradação durante o aquecimento, alguns compostos como flavonoides ainda possuem atividade antioxidante (CHAABAN et al., 2017; IOANNOU, CHEKIR e GHOUL, 2020). Por exemplo, a degradação da luteolina 7-O-glicosídeo pode acarretar na formação de luteolina, composto que apresenta uma atividade antioxidante maior que a luteolina 7-O-glicosídeo (IOANNOU, CHEKIR e GHOUL, 2020). Portanto, esses achados sugerem que os constituintes das ervas que não foram determinados nas amostras de omelete após o cozimento também podem contribuir para o efeito protetor da erva. Além disso, a eficácia do orégano e do manjerição como agentes antioxidantes frente à oxidação do colesterol também indica o potencial antioxidante de seus componentes que permaneceram nas amostras de omeletes mesmo após o cozimento.

3.3 Análise dos Componentes Principais e mapa de calor

A Análise dos Componentes Principais (Figuras 3a e b) é uma técnica que se propõe reduzir dados multidimensionais a figuras bi ou tridimensionais, permitindo a fácil visualização de tabelas complexas. Os dois primeiros componentes principais explicam 79,6% da variabilidade dos dados (Dim 1: 63,8 %, Dim 2: 15,8 %), o que é considerado adequado

para explicar a variância dos dados experimentais.

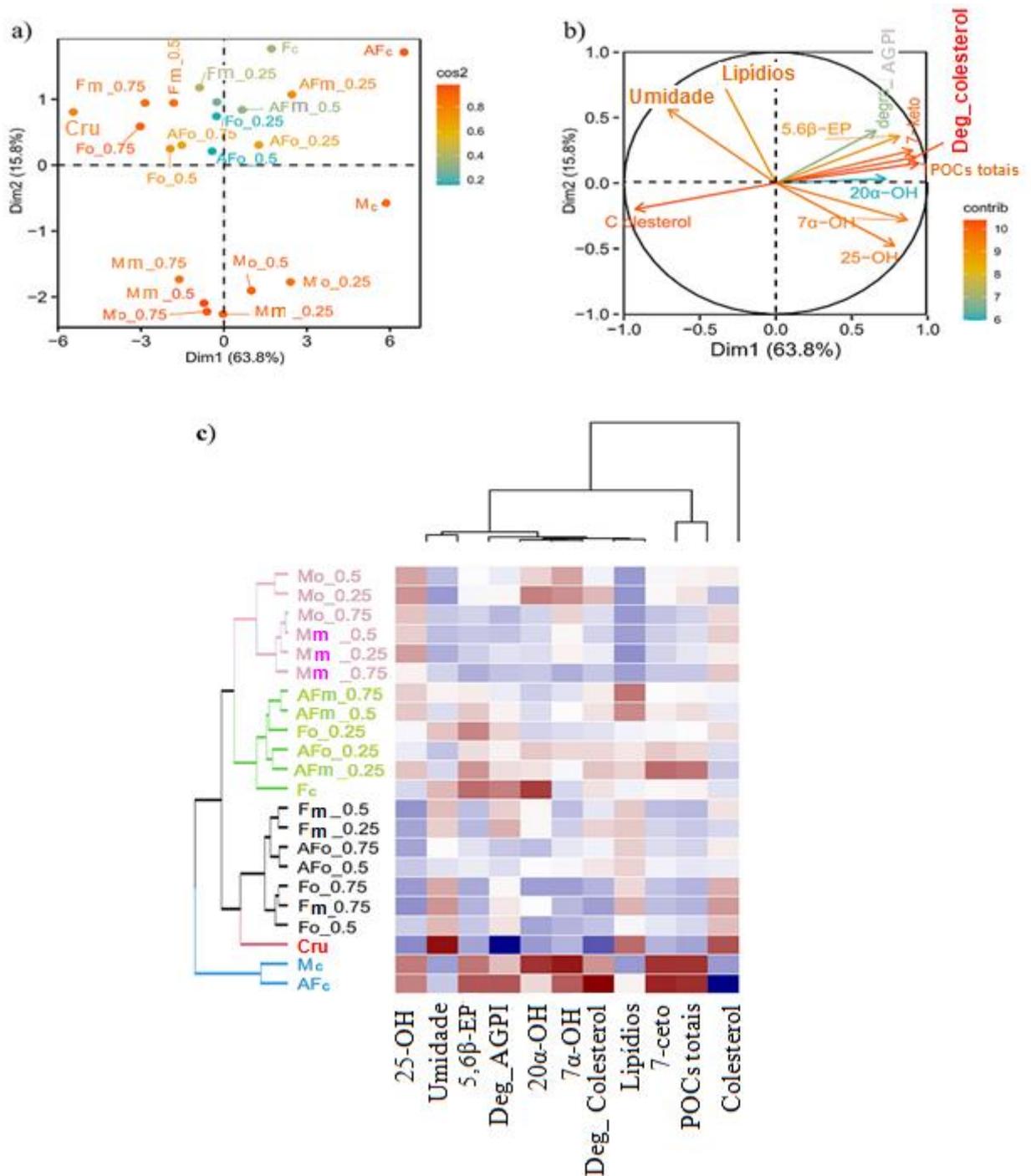


Figura 3: Análise multivariada. Análise dos Componentes Principais para os tratamentos (a) e variáveis (b). Mapa de calor (c). AF = *Air fryer*; M = micro-ondas; F = fogão; c = controle; o = orégano; m = manjericão; AGPI = ácido graxo poli-insaturado; deg_AGPI = degradação de AGPI; deg_cholesterol = degradação do colesterol; POCs = produtos da oxidação do colesterol. Os valores 0,25, 0,5 e 0,75 representam os diferentes níveis de adição das ervas.

As amostras controle, principalmente as tratadas em *air fryer* e micro-ondas, caracterizaram-se por elevados percentuais de degradação do colesterol e, conseqüentemente,

elevados níveis de POCs totais, com a maior contribuição do 7-ceto. Estes indicadores de oxidação de colesterol foram menos evidentes nas amostras preparadas em fogão. A degradação dos AGPIs seguiu a mesma tendência. Por outro lado, as amostras contendo as ervas apresentaram maior similaridade com a amostra crua, principalmente as adicionadas de 0,75%, sugerindo o efeito protetor das ervas frente as alterações na composição lipídica.

No mapa de calor (Figura 3c), a intensidade de cada variável avaliada é representada pela variação de cor, onde o azul e o vermelho representam a baixa e alta intensidade, respectivamente. Ao agrupar as amostras quanto as similaridades das mesmas, cinco grupos foram formados. As amostras preparadas em micro-ondas contendo ambas as ervas foram separadas em um mesmo grupo (representado pela cor rosa). Outro grupo (em verde) foi formado pelas amostras preparadas em *air fryer* adicionadas de manjeriço (0,25, 0,5 e 0,75%) e orégano (0,25%), bem como as amostras controle e com adição de 0,25% orégano submetidas ao aquecimento em fogão. O terceiro grupo (em preto) foi formado pelas demais amostras preparadas no fogão e pelas amostras tratadas em *air fryer* adicionadas de orégano a 0,5 e 0,75%. Um grupo distinto (em vermelho) foi formado apenas pela amostra crua, que apresentou o maior teor de colesterol e a menor degradação dos AGPIs, uma vez que essas amostras não foram afetadas pelo cozimento. Por fim, foram agrupadas as amostras controle preparadas em micro-ondas e *air fryer* (em azul), mostrando características semelhantes, como a elevada degradação dos AGPIs e elevados conteúdos totais de POCs. Como demonstrado, a adição das ervas resultou em valores significativamente diferentes para a maioria dos parâmetros avaliados em relação às amostras controle, indicando o potencial das mesmas como antioxidantes naturais neste estudo.

4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos destacam o potencial antioxidante das ervas, o que pode ser atribuído a rica constituição das mesmas em compostos bioativos. Compostos fenólicos, incluindo ácidos fenólicos (ácido *p*-hidroxibenzoico, ácido vanílico, ácido cafeico) e flavonoides (cirsilineol) foram identificados pelas análises de UHPLC-ESI-MS. O cozimento induziu a formação de POCs em omeletes, principalmente após a cocção em *air fryer* e micro-ondas, revelando o 7-ceto como o principal POC formado. No entanto, a adição do orégano e do manjeriço minimizou a oxidação do colesterol em todos os tratamentos, com maior proteção para o tratamento a 0,75%. Ao comparar os dados obtidos para as amostras tratadas com 0,75% das ervas, o orégano foi o mais eficaz frente à oxidação do colesterol para o tratamento em *air fryer*, enquanto a amostra em micro-ondas contendo manjeriço apresentou um nível inferior de POCs totais em comparação com a amostra adicionada de orégano ($p < 0,05$). Resultados similares foram encontrados para ambas as ervas em amostras preparadas em fogão ($p > 0,05$). Conforme demonstrado pelas análises de UHPLC-ESI-MS, nem todos os compostos identificados nas ervas foram encontrados nas omeletes que continham as ervas após o tratamento térmico, sugerindo a possível degradação térmica dos constituintes das ervas. No entanto, como o orégano e o manjeriço reduziram a formação de POCs, esta pesquisa aponta o potencial dessas ervas como agentes naturais frente à oxidação do colesterol em ovos. Desta forma, o emprego do manjeriço e do orégano pode ser indicado não só para atribuir características sensoriais aos alimentos, mas também para limitar a formação de óxidos de colesterol durante o cozimento, representando ainda uma alternativa para a indústria alimentícia que visa reduzir o emprego de antioxidantes sintéticos.

5 REFERÊNCIAS

- ABDELHALIM, Abeer; HANRAHAN, Jane. Biologically active compounds from Lamiaceae family: Central nervous system effects. **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 68, p. 255-315, 2021.
- ABIDOYE, A. O. et al. Effects of sweet basil leaves (*Ocimum basilicum* L) addition on the chemical, antioxidant, and storage stability of roselle calyces (*Hibiscus sabdariffa*) drink. **Food Chemistry**, v. 371, p. 131170, 2022.
- AGUILAR-BALLESTER, María et al. Impact of cholesterol metabolism in immune cell function and atherosclerosis. **Nutrients**, v. 12, n. 7, p. 2021, 2020.
- ALAM, Manzar et al. Therapeutic implications of caffeic acid in cancer and neurological diseases. **Frontiers in Oncology**, v. 12, 2022.
- ALEXANDRE, Simoni et al. Use of alginate edible coating and basil (*Ocimum* spp) extracts on beef characteristics during storage. **Journal of Food Science and Technology**, v. 58, n. 10, p. 3835-3843, 2021.
- ALI, Akhtar et al. LC-MS/MS-QTOF Screening and Identification of Phenolic compounds from Australian grown herbs and their antioxidant potential. **Antioxidants**, v. 10, n. 11, p. 1770, 2021.
- AL JAOUNI, Soad et al. Elevated CO₂ induces a global metabolic change in basil (*Ocimum basilicum* L.) and peppermint (*Mentha piperita* L.) and improves their biological activity. **Journal of Plant Physiology**, v. 224, p. 121-131, 2018.
- AL JUHAIMI, Fahad; USLU, Nurhan; ÖZCAN, Mehmet Musa. Oil content and fatty acid composition of eggs cooked in drying oven, microwave and pan. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 1, p. 93-97, 2017.
- ALPASLAN, Duygu; ERSEN DUDU, Tuba; AKTAS, Nahit. Synthesis of smart food packaging from poly (gelatin-co-dimethyl acrylamide)/citric acid-red apple peel extract. **Soft Materials**, v. 19, n. 1, p. 64-77, 2021.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC N° 216, de 15 de setembro de 2004. Regulamento Técnico de Boas Práticas de Serviço de Alimentação. Disponível em: <https://www.saude.al.gov.br/wp-content/uploads/2020/06/RDC-N%C2%B0-216-ANVISA-Ag%C3%AAncia-Nacional-de-Vigil%C3%A2ncia-Sanit%C3%A1ria.pdf>. Acesso em: 8 fevereiro 2022.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of AOAC international**. Washington, 2006.
- BARRIUSO, Blanca; ANSORENA, Diana; ASTIASARÁN, Iciar. Oxysterols formation: A review of a multifactorial process. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 169, p. 39-45, 2017.
- BATKOWSKA, Justyna et al. Fatty acids profile, cholesterol level and quality of table eggs from hens fed with the addition of linseed and soybean oil. **Food Chemistry**, v. 334, p. 127612, 2021.
- BENBETTAIEB, Nasreddine et al. Antioxidant activity and release kinetics of caffeic and p-coumaric acids from hydrocolloid-based active films for healthy packaged food. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 26, p. 6906-6916, 2018.
- CASTRONUOVO, Donato et al. Influence of shading treatment on yield, morphological traits and phenolic profile of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). **Scientia Horticulturae**, v. 254, p. 91-98, 2019.
- CHAABAN, Hind et al. Effect of heat processing on thermal stability and antioxidant activity of six flavonoids. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 5, p. e13203, 2017.

CHANDRASEKARAN, S.; RAMANATHAN, S.; BASAK, Tanmay. Microwave food processing—A review. **Food research international**, v. 52, n. 1, p. 243-261, 2013.

CHINPRAHAST, N. et al. Antioxidant activities of local oregano and sweet basil leaves and application in a natural antioxidant enriched ravioli. **International Food Research Journal**, v. 25, n. 5, p. 1996-2004, 2018.

CORTINAS, Lucía et al. Change in α -tocopherol contents, lipid oxidation and fatty acid profile in eggs enriched with linolenic acid or very long-chain ω 3 polyunsaturated fatty acids after different processing methods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, n. 8, p. 820-829, 2003.

CROSS, Gwendolyn A.; FUNG, Daniel YC; DECAREAU, Robert V. The effect of microwaves on nutrient value of foods. **Critical Reviews in Food Science & Nutrition**, v. 16, n. 4, p. 355-381, 1982.

CZERWONKA, Małgorzata et al. Comparison of Lipid Components, Iron and Zinc Levels in Chicken and Quail Eggs Available on the Market. **Preprints**, 2021.

DAWUTI, Awaguli; FANG, Lian-hua; DU, Guan-hua. Research advances on the protective effects and mechanism of salvianolic acids against ischemic heart disease. **Acta Pharmaceutica Sinica**, p. 368-373, 2021.

DE CARVALHO, Isabella Oliveira Alves Moreira et al. The use of lemon juice and its role on polyunsaturated fatty acids and cholesterol oxides formation in thermally prepared sardines. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 104, p. 104087, 2021.

DE OLIVEIRA, Vanessa Sales et al. Use of natural antioxidants in the inhibition of cholesterol oxidation: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 6, p. 1465-1483, 2018.

DE OLIVEIRA, Vanessa Sales et al. Effect of aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) fruit against polyunsaturated fatty acids and cholesterol thermo-oxidation in model systems containing sardine oil (*Sardinella brasiliensis*). **Food Research International**, v. 132, p. 109091, 2020.

DE OLIVEIRA, Vanessa Sales et al. Parsley (*Petroselinum crispum* Mill.): A source of bioactive compounds as a domestic strategy to minimize cholesterol oxidation during the thermal preparation of omelets. **Food Research International**, v. 156, p. 111199, 2022.

DEREWIAKA, D.; MOLIŃSKA, E. Cholesterol transformations during heat treatment. **Food Chemistry**, v. 171, p. 233-240, 2015.

DOUNY, Caroline et al. Effect of storage and cooking on the fatty acid profile of omega-3 enriched eggs and pork meat marketed in Belgium. **Food Science & Nutrition**, v. 3, n. 2, p. 140-152, 2015.

DURAN, Ragbet Ezgi; KILIC, Semra; COSKUN, Yasemin. Melatonin influence on *in vitro* callus induction and phenolic compound production in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 55, n. 4, p. 468-475, 2019.

EMBUSCADO, Milda E. Bioactives from culinary spices and herbs: a review. **Journal of Food Bioactives**, v. 6, 2019.

FAZAL, Hina; AHMAD, Nisar; KHAN, Mir Ajab. Physicochemical, phytochemical evaluation and DPPH-scavenging antioxidant potential in medicinal plants used for herbal formulation in Pakistan. **Pakistan Journal of Botany**, v. 43, n. SI, p. 63-67, 2011.

FERNANDES, Rafaella de Paula Paseto et al. Assessment of the stability of sheep sausages with the addition of different concentrations of *Origanum vulgare* extract during storage. **Meat Science**, v. 137, p. 244-257, 2018.

FERNANDES, Filipa et al. *Ocimum basilicum* var. *purpurascens* leaves (red rubin basil): A source of bioactive compounds and natural pigments for the food industry. **Food & Function**, v. 10, n. 6, p. 3161-3171, 2019.

FERREIRA, Fernanda Silva et al. Bioactive compounds of parsley (*Petroselinum*

crispum), chives (*Allium schoenoprasum* L) and their mixture (Brazilian cheiro-verde) as promising antioxidant and anti-cholesterol oxidation agents in a food system. **Food Research International**, v. 151, p. 110864, 2022.

GARCIA-LLATAS, Guadalupe et al. Oxysterols—how much do we know about food occurrence, dietary intake and absorption?. **Current Opinion in Food Science**, v. 41, p. 231-239, 2021.

GHASEMZADEH, Ali et al. Improvement in flavonoids and phenolic acids production and pharmaceutical quality of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) by ultraviolet-B irradiation. **Molecules**, v. 21, n. 9, p. 1203, 2016.

GÖK, Hasya Nazli et al. Profiling the annual change of the neurobiological and antioxidant effects of five *Origanum* species in correlation with their phytochemical composition. **Food Chemistry**, v. 368, p. 130775, 2022.

GONG, Guojin et al. Gastroprotective effect of cirsilineol against hydrochloric acid/ethanol-induced gastric ulcer in rats. **The Korean Journal of Physiology & Pharmacology: Official Journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology**, v. 25, n. 5, p. 403-411, 2021.

HATTA, H. Chemical and physicochemical properties of hen eggs and their application in foods. In: **Hen eggs**. CRC Press, 2018. p. 117-133.

HUR, Sun-Jin; PARK, G. B.; JOO, S. T. Formation of cholesterol oxidation products (COPs) in animal products. **Food Control**, v. 18, n. 8, p. 939-947, 2007.

INNOSA, Denise et al. High temperature and heating effect on the oxidative stability of dietary cholesterol in different real food systems arising from eggs. **European Food Research and Technology**, v. 245, n. 7, p. 1533-1538, 2019.

IOANNOU, Irina; CHEKIR, Leila; GHOUL, Mohamed. Effect of heat treatment and light exposure on the antioxidant activity of flavonoids. **Processes**, v. 8, n. 9, p. 1078, 2020.

IVANIŠOVÁ, Eva et al. Medicinal herbs: Important source of bioactive compounds for food industry. In: **Herbs and Spices-New Processing Technologies**. IntechOpen, 2021.

JAFARI KHORSAND, Ghazaleh et al. Natural diversity in phenolic components and antioxidant properties of oregano (*Origanum vulgare* L.) accessions, grown under the same conditions. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 1-9, 2022.

JIANG, Zhiguo et al. Functional Properties and Preservative Effect of P-Hydroxybenzoic Acid Grafted Chitosan Films on Fresh-Cut Jackfruit. **Foods**, v. 11, n. 9, p. 1360, 2022.

JING, Jiangpeng et al. Cirsilineol inhibits cell growth and induces apoptosis in glioma C6 cells via inhibiting MAPK and PI3K/Akt/mTOR signaling pathways. **Applied Nanoscience**, p. 1-11, 2022.

KAUR, Jaskiran et al. Discovering multifaceted role of vanillic acid beyond flavours: Nutraceutical and therapeutic potential. **Trends in Food Science & Technology**, 2022.

KHATIB, Saloua et al. HPLC–DAD profiling of a phenolic extract from Moroccan sweet Basil and its application as oxidative stabilizer of sunflower oil. **Chemical Papers**, v. 75, n. 5, p. 1907-1917, 2021.

KLOUDOVA-SPALENKOVA, Alzbeta et al. Plasma oxysterol levels in luminal subtype breast cancer patients are associated with clinical data. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 197, p. 105566, 2020.

KUMAR, Naresh; GOEL, Nidhi. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. **Biotechnology Reports**, v. 24, p. e00370, 2019.

LENGYEL, Jozef et al. Oxidation of sterols: Energetics of C–H and O–H bond cleavage. **Food Chemistry**, v. 133, n. 4, p. 1435-1440, 2012.

LI, Pengjuan et al. Comparison between synthetic and rosemary-based antioxidants for the deep frying of French fries in refined soybean oils evaluated by chemical and non-

destructive rapid methods. **Food Chemistry**, v. 335, p. 127638, 2021.

LIU, Yan et al. Dietary cholesterol oxidation products: Perspectives linking food processing and storage with health implications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 21, n. 1, p. 738-779, 2022.

MA, Lunkun; TANG, Liling; YI, Qian. Salvianolic acids: potential source of natural drugs for the treatment of fibrosis disease and cancer. **Frontiers in Pharmacology**, v. 10, p. 97, 2019.

MAJDI, Chaimae et al. Phytochemical characterization and bioactive properties of cinnamon basil (*Ocimum basilicum* cv. 'Cinnamon') and lemon basil (*Ocimum × citriodorum*). **Antioxidants**, v. 9, n. 5, p. 369, 2020.

MAJEED, Mudasir et al. Optimization protocol for the extraction of antioxidant components from *Origanum vulgare* leaves using response surface methodology. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 23, n. 3, p. 389-396, 2016.

MALDONADO-PEREIRA, Lisaura et al. The role of cholesterol oxidation products in food toxicity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 118, p. 908-939, 2018.

MATUMOTO-PINTRO, Paula Toshimi et al. Effects of storage time and temperature on lipid oxidation of egg powders enriched with natural antioxidants. **Food Chemistry**, v. 228, p. 463-468, 2017.

MAZALLI, Mônica Roberta; BRAGAGNOLO, Neura. Increase of cholesterol oxidation and decrease of PUFA as a result of thermal processing and storage in eggs enriched with n-3 fatty acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 11, p. 5028-5034, 2009.

MELO, Jair et al. Nutritional quality and functional lipids in the free-range egg yolks of Brazilian family farmers. **Revista Chilena de Nutrición**, p. 420-428, 2019.

MILLER, H. E. A simplified method for the evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 48, n. 2, p. 91-91, 1971.

MIN, David B; BOFF, Jeffrey M. Lipid oxidation of edible oil. **Food Science and Technology-New York-Marcel Dekker-**, p. 335-364, 2002.

MIN, Joong-Seok et al. Impact of cooking, storage, and reheating conditions on the formation of cholesterol oxidation products in pork loin. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, v. 36, n. 1, p. 23, 2016.

MISHRA, Lokesh K. et al. Evaluation of phenolic bioactive-linked anti-hyperglycemic and Helicobacter pylori inhibitory activities of Asian Basil (*Ocimum* spp.) varieties. **Journal of Herbal Medicine**, v. 20, p. 100310, 2020.

MURCIA, M. Antonia et al. Proximate composition and vitamin E levels in egg yolk: losses by cooking in a microwave oven. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, n. 12, p. 1550-1556, 1999.

NAPOLI, Edoardo; SIRACUSA, Laura; RUBERTO, Giuseppe. New tricks for old guys: Recent developments in the chemistry, biochemistry, applications and exploitation of selected species from the Lamiaceae Family. **Chemistry & Biodiversity**, v. 17, n. 3, p. e1900677, 2020.

NIKOLIC, Jelena S. et al. Chemometric characterization of twenty three culinary herbs and spices according to antioxidant activity. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 13, n. 3, p. 2167-2176, 2019.

NIMALARATNE, Chamila; SCHIEBER, Andreas; WU, Jianping. Effects of storage and cooking on the antioxidant capacity of laying hen eggs. **Food Chemistry**, v. 194, p. 111-116, 2016.

NOOR, Saba et al. Biomedical features and therapeutic potential of rosmarinic acid. **Archives of Pharmacal Research**, p. 1-24, 2022.

OLSZOWY-TOMCZYK, Małgorzata. Synergistic, antagonistic and additive

antioxidant effects in the binary mixtures. **Phytochemistry Reviews**, v. 19, n. 1, p. 63-103, 2020.

OU, Boxin; HAMPSCH-WOODILL, Maureen; PRIOR, Ronald L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 10, p. 4619-4626, 2001.

PRINSI, Bhakti et al. Insight into composition of bioactive phenolic compounds in leaves and flowers of green and purple basil. **Plants**, v. 9, n. 1, p. 22, 2019.

REN, Yuan et al. Oxidative stability of omega-3 polyunsaturated fatty acids enriched eggs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 47, p. 11595-11602, 2013.

REZAIE, Ramin; ABDOLLAHI MANDOULAKANI, Babak; FATTAHI, Mohammad. Cold stress changes antioxidant defense system, phenylpropanoid contents and expression of genes involved in their biosynthesis in *Ocimum basilicum* L. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1-10, 2020.

ROYCHOUDHURY, Shubhadeep et al. Scavenging properties of plant-derived natural biomolecule para-coumaric acid in the prevention of oxidative stress-induced diseases. **Antioxidants**, v. 10, n. 8, p. 1205, 2021.

RUFINO, Maria do Socorro M et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010.

RONDONI, Agnese; ASIOLI, Daniele; MILLAN, Elena. Consumer behaviour, perceptions, and preferences towards eggs: A review of the literature and discussion of industry implications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 106, p. 391-401, 2020.

SALDANHA, Tatiana et al. HPLC separation and determination of 12 cholesterol oxidation products in fish: comparative study of RI, UV, and APCI-MS detectors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 12, p. 4107-4113, 2006.

SASS, Carla Araujo Brito et al. Exploring social media data to understand consumers' perception of eggs: A multilingual study using Twitter. **Journal of Sensory Studies**, v. 35, n. 6, p. e12607, 2020.

SCAGEL, Carolyn F.; LEE, Jungmin; MITCHELL, Jesse N. Salinity from NaCl changes the nutrient and polyphenolic composition of basil leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 127, p. 119-128, 2019.

SCAPIN, G. et al. Phenolics compounds, flavonoids and antioxidant activity of chia seed extracts (*Salvia hispanica*) obtained by different extraction conditions. **International Food Research Journal**, v. 23, n. 6, 2016.

SHAHIDI, Fereidoon; AMBIGAIPALAN, Priyatharini. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 820-897, 2015.

SENATOR, Abderrahmane et al. Antioxidant capacities of oregano and tea aqueous extracts. In: **Proceeding of the 2nd African Congress on Biology & Health University Ferhat Abbas Setif1**. 2012. p. 106.

SERGIO, Lucrezia et al. Bioactive phenolics and antioxidant capacity of some wild edible greens as affected by different cooking treatments. **Foods**, v. 9, n. 9, p. 1320, 2020.

SITI MAHIRAH, Y.; RABETA, M. S.; ANTORA, R. A. Effects of different drying methods on the proximate composition and antioxidant activities of *Ocimum basilicum* leaves. **Food Research**, v. 2, n. 5, p. 421-428, 2018.

SLIMESTAD, Rune; FOSSEN, Torgils; BREDE, Cato. Flavonoids and other phenolics in herbs commonly used in Norwegian commercial kitchens. **Food Chemistry**, v. 309, p. 125678, 2020.

SMITH, Leland L. Cholesterol autoxidation 1981–1986. **Chemistry and Physics of**

Lipids, v. 44, n. 2-4, p. 87-125, 1987.

STAURENGHI, Erica et al. Oxysterols present in Alzheimer's disease brain induce synaptotoxicity by activating astrocytes: A major role for lipocalin-2. **Redox Biology**, v. 39, p. 101837, 2021.

SU, Yujie et al. Characterization of salted egg yolk flavoring prepared by enzyme hydrolysis and microwave irradiation. **Food Chemistry**, v. 338, p. 127913, 2021.

SWAM, T.; HILLIS, W. E. The Phenolic constituents of *Pruniss domestica*. The quantitative analysis of phenolic compounds. **Journals of Sciences of Food and Agriculture**, v. 10, n. 1, p. 63-68, 1959.

TAAMALLI, Amani et al. LC-MS-based metabolite profiling of methanolic extracts from the medicinal and aromatic species *Mentha pulegium* and *Origanum majorana*. **Phytochemical Analysis**, v. 26, n. 5, p. 320-330, 2015.

TAI, C.-Y.; CHEN, Y. C.; CHEN, B. H. Analysis, formation and inhibition of cholesterol oxidation products in foods: An overview (Part I). **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 7, n. 4, 1999.

TANG, Dengyu et al. Comparison of the edible quality of liquid egg with different cooking methods and their antioxidant activity after in vitro digestion. **Food Research International**, v. 140, p. 110013, 2021.

VAISALI, C.; BELUR, Prasanna D.; REGUPATHI, I. Comparison of antioxidant properties of phenolic compounds and their effectiveness in imparting oxidative stability to sardine oil during storage. **LWT-Food Science and Technology**, v. 69, p. 153-160, 2016.

VERARDO, Vito et al. Effect of different egg products on lipid oxidation of biscuits. **Foods**, v. 9, n. 11, p. 1714, 2020.

VICENTE, S. J. V.; TORRES, E. A. F. S. Formation of four cholesterol oxidation products and loss of free lipids, cholesterol and water in beef hamburgers as a function of thermal processing. **Food Control**, v. 18, n. 1, p. 63-68, 2007.

WALI, Jibrán A. et al. Cardio-metabolic effects of high-fat diets and their underlying mechanisms—A narrative review. **Nutrients**, v. 12, n. 5, p. 1505, 2020.

XU, Guihua et al. Effect of eleven antioxidants in inhibiting thermal oxidation of cholesterol. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 93, n. 2, p. 215-225, 2016.

YAN, Feng et al. Antioxidant capacity variation in the oregano (*Origanum vulgare* L.) collection of the German National Genebank. **Industrial Crops and Products**, v. 92, p. 19-25, 2016.

ZAGHI, Aline Nalon et al. Frying process: From conventional to air frying technology. **Food Reviews International**, v. 35, n. 8, p. 763-777, 2019.

ZARDETTO, Stefano; BARBANTI, Davide; DALLA ROSA, Marco. Formation of cholesterol oxidation products (COPs) and loss of cholesterol in fresh egg pasta as a function of thermal treatment processing. **Food Research International**, v. 62, p. 177-182, 2014.

ZEID, Amr et al. Preparation and evaluation of antioxidant packaging films made of polylactic acid containing thyme, rosemary, and oregano essential oils. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 43, n. 10, p. e14102, 2019.

ZELJKOVIĆ, Sanja Čavar et al. Phytochemical variability of selected basil genotypes. **Industrial Crops and Products**, v. 157, p. 112910, 2020.

ZENGIN, Gokhan et al. UHPLC-LTQ Orbitrap MS analysis and biological properties of *Origanum vulgare* subsp. *viridulum* obtained by different extraction methods. **Industrial Crops and Products**, v. 154, p. 112747, 2020.

ZHU, Xiangqian et al. A comparison of selected methods for determining eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in cereal-based foods. **Food Chemistry**, v. 125, n. 4, p. 1320-1327, 2011.

ZŁOTEK, Urszula et al. The effect of different solvents and number of extraction

steps on the polyphenol content and antioxidant capacity of basil leaves (*Ocimum basilicum* L.) extracts. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 23, n. 5, p. 628-633, 2016.

CONCLUSÕES GERAIS

Os dados obtidos neste trabalho demonstraram o impacto do preparo térmico (*air fryer*, micro-ondas e fogão) na fração lipídica de omeletes destacando a importância de estudos acerca do emprego de fontes naturais de compostos antioxidantes, como a salsa, o manjeriço e o orégano, a fim de minimizar os processos oxidativos.

As ervas foram caracterizadas quanto à composição de produtos bioativos e capacidade antioxidante *in vitro*. A partir das referidas análises, observou-se que o orégano apresentou maiores teores de compostos fenólicos e flavonoides totais, assim como maior capacidade antioxidante para os métodos de DPPH e sistema β -caroteno/ácido linoleico. Além disso, compostos bioativos com reconhecidas propriedades antioxidantes, como ácidos fenólicos e flavonoides, foram identificados por análises cromatográficas em todas as ervas estudadas. Desta forma, a caracterização das ervas sugere as mesmas como possíveis fontes de antioxidantes naturais, possibilitando o emprego destas como alternativas frente à oxidação lipídica em alimentos.

Observou-se que o preparo térmico das omeletes induziu a oxidação lipídica causando a degradação de ácidos graxos poli-insaturados e a formação de óxidos de colesterol, compostos reconhecidamente associados a efeitos deletérios à saúde. Quanto à oxidação do colesterol, o efeito mais relevante foi determinado nas amostras preparadas em *air fryer* e micro-ondas, o que pode ser atribuído às condições mais extremas de processamento empregadas nestes métodos, onde temperaturas mais elevadas foram determinadas no interior das omeletes. Apesar do preparo em fogão com o uso de frigideira ser o método mais comum utilizado para omeletes, o emprego de tecnologias como o micro-ondas e o *air fryer* tem apresentado uma crescente popularização entre os consumidores.

As análises cromatográficas demonstraram a possível degradação térmica dos constituintes antioxidantes das ervas após o cozimento das omeletes. No entanto, todas as ervas foram eficazes frente ao controle da oxidação lipídica e formação de POCs. Entre os níveis de adição estudados, observou-se que os tratamentos mais efetivos foram os adicionados com 0,75% das ervas. As ervas apresentaram comportamentos diferentes de acordo com cada tratamento térmico. No entanto, é possível destacar o efeito protetor do orégano e do manjeriço, pois a salsa mostrou-se como o melhor tratamento apenas nas amostras preparadas em *air fryer*.

Assim, os resultados destacam o potencial dessas ervas como uma estratégia para minimizar os processos oxidativos durante o preparo doméstico de alimentos como omeletes, priorizando assim a qualidade e a segurança no consumo dos mesmos. Ademais, a utilização destas ervas também pode ser considerada pela indústria de alimentos a fim de substituir ou reduzir o emprego de antioxidantes sintéticos.

ANEXO - Artigo publicado na revista Food Research International

Food Research International 156 (2022) 111199

Contents lists available at ScienceDirect



Food Research International
journal homepage:
www.elsevier.com/locate/foodres



Parsley (*Petroselinum crispum* Mill.): A source of bioactive compounds as a domestic strategy to minimize cholesterol oxidation during the thermal preparation of omelets

Vanessa Sales de Oliveira^a, Davy William Hidalgo Chávez^a, Paula Renata Felipe Paiva^a, Ormino Domingues Gamallo^a, Rosane Nora Castro^b, Alexandra Christine Helena Frankland Sawaya^c, Geni Rodrigues Sampaio^d, Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva Torres^{d,*}, Tatiana Saldanha^a

^a Department of Food Technology, Institute of Technology, University Federal Rural of Rio de Janeiro, Rodovia Br 465, Seropédica, RJ 23890-000, Brazil ^b Department of Organic Chemistry, Institute of Chemistry, University Federal Rural of Rio de Janeiro, Rodovia Br 465, Seropédica, RJ 23890-000, Brazil ^c Faculty of Pharmaceutical Science, University of Campinas, Unicamp, Campinas, SP, Brazil

^d Department of Nutrition, School of Public Health, University of São Paulo (USP), Ave. Dr. Arnaldo, 715, São Paulo, SP 01246-904, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Petroselinum crispum Mill.
Culinary herb
Natural antioxidant
Eggs
Thermo-oxidation
Cholesterol oxides
Lipidomic analysis

ABSTRACT

This study evaluated the protective effect of parsley (*Petroselinum crispum* Mill.) against lipid and cholesterol oxidation in omelets prepared by air frying, pan frying, and microwaving. The bioactive composition and *in vitro* antioxidant capacity of parsley extract was characterized. Compounds such as phenolic acids and their derivatives (*p*-coumaric acid, *p*-coumaric acid 4-O-hexoside) and flavonoids (apigenin 7-glucoside, quercetin-O-pentosyl-hexoside) were identified in parsley by UHPLC-ESI-MS. Moreover, the presence of these bioactive constituents was investigated in omelets. Cooking induced lipid oxidation and increased the level of cholesterol oxidation products (COPs) in control omelets, which was more pronounced after air frying and microwaving. The total content of COPs increased from $40.69 \pm 2.26 \mu\text{g/g}$ (raw) to $821.05 \pm 13.77 \mu\text{g/g}$ (air frying), $805.21 \pm 14.50 \mu\text{g/g}$ (microwaving), and $311.07 \pm 13.84 \mu\text{g/g}$ (pan frying). The addition of parsley proved to be effective reducing COPs formation, mainly in air-fried samples with 0.75% parsley (81.73% of protection). Chromatographic analyses revealed the thermo-degradation of parsley compounds, since only two flavonoids detected in parsley were found in omelets containing the herb after cooking. Nonetheless, these findings indicate the potential application of parsley as a natural inhibitor of cholesterol and lipid oxidation in food systems such as omelets.

* Corresponding author.

E-mail addresses: vanessasdo@bol.com.br (V.S. de Oliveira), davyhw76@gmail.com (D.W.H. Chávez), paivapaula2@gmail.com (P.R.F. Paiva), odgamallo@gmail.com (O.D. Gamallo), noraufrrj@gamil.com (R.N. Castro), achfsawa@unicamp.br (A.C.H.F. Sawaya), genirs@usp.br (G.R. Sampaio), eatortes@usp.br (E.A.F.S. Torres), tatysal@gmail.com (T. Saldanha).

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111199>

Received 7 March 2022; Received in revised form 25 March 2022; Accepted 27 March 2022

Available online 29 March 2022

0963-9969/© 2022 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Chicken eggs are a widespread staple food product containing high-quality proteins, lipids, vitamins, and minerals, with an array of biological activities (e.g. antimicrobial, antioxidant, antihypertensive, anti-inflammatory) (Réhault-Godbert, Guyot, & Nys, 2019; Xiao et al., 2020). Moreover, eggs are available at low prices, compared to other foods of animal origin, serving as cost-effective and high-quality nutrient resources (Réhault-Godbert et al., 2019; Sass et al., 2020).

Eggs are valued in daily meals and are basic ingredients of numerous culinary recipes (Réhault-Godbert et al., 2019; Sass et al., 2020). Furthermore, they are extensively used by the industry in food products due to their desirable technological properties (Afriz, et al., 2020). Moreover, their consumption is predicted to continuously increase, considering the growing population that adopted a meat-free diet or simply reduced meat intake (Morris, Beesabathuni, & Headey, 2018).

On the other hand, the consumption of eggs has been a topic of intense debate due to their high content of cholesterol. However, studies have shown that there is no evidence of an association between egg intake and an increase in plasma total cholesterol level (Drouin-Chartier et al., 2020; Ma et al., 2022; Marventano et al., 2020).

The lipid fraction of eggs, which contains unsaturated fatty acids and cholesterol, is extremely prone to oxidation when exposed to light, high temperatures, and oxygen. Therefore, the thermal preparation of eggs may compromise their quality by degrading fatty acids and forming harmful oxidized compounds such as cholesterol oxides (Innosa et al., 2019; Ren, Perez, Zuidhof, Renema, & Wu, 2013; Verardo, Messia, Marconi, & Caboni, 2020).

Previous studies on foods containing eggs and processed eggs have described the presence of cholesterol oxidation products (COPs) (Chudy & Teichert, 2021; Innosa et al., 2019; Verardo et al., 2020), whose consumption has been related to pathological processes, including inflammations, carcinogenesis, cell death, neurodegeneration, and atherosclerosis (Kloudova-Spalenkova et al., 2020; Liu et al., 2022; Nury et al., 2021). Due to the role of COPs intake in human health, it is important to consider strategies to minimize their formation during food preparation, especially those based on natural antioxidants.

Parsley (*Petroselinum crispum* Mill.) is one of the main herbs used to enhance the color, flavor, and aroma of food dishes. Moreover, it has drawn researchers' attention to its nutritional value and health-promoting effects, which are linked to bioactive compounds such as polyphenols (e.g. phenolic acids, flavones, biflavonoids) (Ferreira et al., 2022; Frattani et al., 2021; Sęczyk, Świeca, Gawlik-Dziki, Luty, & Czyż, 2016).

The consumption of polyphenols has shown to reduce cardiovascular disease mortality, risk, and biomarkers (Pontifex, Malik, Connell, Müller, & Vauzour, 2021; Sharifi-Rad et al., 2020). The anti-inflammatory and antioxidative properties of polyphenolic compounds mediate their role on brain and gut health (Aravind, Wichienchot, Tsao, Ramakrishnan, & Chakkaravarthi, 2021; Pontifex et al., 2021). In addition, regarding their antioxidant potential, the addition of parsley containing these phytochemicals in food preparations may reinforce the human endogenous antioxidant system and protect food constituents from oxidation (Ferreira et al., 2022; Ferreira et al., 2017).

Although eggs are extremely versatile, they are frequently eaten as scrambled eggs, popularly known as omelets, which are globally consumed and may be thermally prepared in different ways. However, there are no available studies on the formation of COPs in omelets. As parsley has shown promising antioxidant potential, this study investigated its effectiveness in inhibiting cholesterol oxidation in omelets prepared by

air frying, pan frying, and microwaving.

Parsley extract was characterized by its bioactive composition and antioxidant capacity. Then, parsley at different levels (0.25, 0.5, and 0.75%) was added to omelets prepared with whole eggs. Furthermore, parsley and omelets were analyzed by UHPLC-ESI-MS to identify the bioactive compounds from the herb that are present in omelets and may show antioxidant properties.

2. Materials and methods

2.1 Chemicals

Aluminum trichloride, quercetin, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), Trolox, Folin-Ciocalteu reagent, gallic acid, linoleic acid, β -carotene, Tween-40, BHT (butylated hydroxytoluene), and sodium methoxide were acquired from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). AAPH (2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride) and fluorescein were purchased from Merck (Darmstadt, Germany). All other chemicals were obtained from Vetec (São Paulo, Brazil). Undecanoic methyl ester was acquired from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) and the standard fatty acid mixtures were from Supelco TM 37 (FAME Mix 18919, Bellefonte, PA, USA). Cholesterol and cholesterol oxides standards were achieved from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Solvents used for chromatographic analyses were obtained as follows: formic acid (Synth, São Paulo, Brazil), hexane (Scharlau, Barcelone, Spain), acetonitrile (Merck, Darmstadt, Germany), and 2-propanol (St. Louis, MO, USA).

2.2 Parsley (*Petroselinum crispum* Mill.) analyses

2.2.1. Plant material

Fresh organic parsley (*Petroselinum crispum* Mill. var. *neapolitanum*), approximately 1 kg, was donated by a producer from Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil, in September 2020 (latitude 22° 76' 19.31''S; longitude 43° 67' 16.99'' W). It was authenticated and a voucher specimen was deposited in the Herbarium of the University Federal Rural of Rio de Janeiro (number 37741). Leaves were selected, washed in filtered running water, chopped, packaged in plastic bags with low oxygen permeability, and stored at 4 °C.

2.2.2. Extract preparation

Fresh parsley (2 g) was stirred in an ethanol/water solution (40 mL, 80:20, v/v) at room temperature for 30 min. Then, the mixture was extracted in a sonic bath (Elmasonic P, Elma Schmidbauer GmbH, Singen, Germany) at 40 kHz for 20 min and centrifuged at 18,000 g for 10 min (NI 1813, Nova Instruments, São Paulo, Brazil). The supernatant was collected, transferred to a 50 mL volumetric amber flask and the volume completed with the ethanol/water solution.

2.2.3. Total phenolics and flavonoids content

The total phenolic content was assessed using the Folin-Ciocalteu reagent as described by Swain and Hillis (1959). The absorbance was measured at 725 nm and results were expressed as mg gallic acid equivalent (GAE)/g sample. Total flavonoids level was determined as reported by Scapin, Schmidt, Prestes, and Rosa (2016). The readings were performed at 510 nm and results were expressed as mg of quercetin equivalent (QE)/g sample.

2.2.4. *In vitro* antioxidant capacity

2.2.4.1. *DPPH free radical scavenging assay.* The extract (100 μ L) and a 0.06 mM methanolic DPPH solution (3.9 mL) were homogenized and left resting for 1 h in the dark at 25 °C. The absorbance was read at 517 nm and the DPPH radical scavenging capacity was calculated as follows: %I_{DPPH} = (A₀ - A) / A₀ 100 (Equation 1), where A₀ and A are the absorbance of the control (DPPH) and sample, respectively (Rufino et al., 2010).

2.2.4.2. *Oxygen radical absorbance capacity (ORAC).* The ORAC assay was carried out according to Ou, Hampsch-Woodill, and Prior (2001). Trolox was the control standard and a curve of relative fluorescence intensity was used to calculate the results (μ M Trolox Equivalent (TE)/ g).

2.2.4.3. *β -carotene/linoleic acid assay.* This assay was carried out as described by Miller (1971). Readings were performed every 15 min at 50 °C and 470 nm. BHT was used as control. The percentage of oxidation where A_c and A_s are the absorbance of the control and samples, respectively:

$$A_c = \text{Initial absorbance} - \text{final absorbance} \quad (2)$$

$$A_s = \text{Initial absorbance} - \text{final absorbance} \quad (3)$$

$$\%I = (A_c - A_s / A_c) \times 100 \quad (4)$$

2.2.5. *Identification of bioactive compounds by UHPLC-ESI-MS analyses*

Parsley was analyzed using an UHPLC Acquity chromatographer (Waters, Milford, MA, USA) coupled with a triple quadrupole TQD Acquity mass spectrometer (Micromass-Waters), with Electrospray Ionization (ESI) in the negative mode, under the following conditions: capillary – 3.5 kV, cone -30 V, source temperature 150 °C, desolvation temperature 350 °C. MS/MS spectra of selected ions were obtained via collision-induced dissociation (CID) at 20 V. For chromatographic separation, a C18 BEH Waters Acquity (2.1 mm \times 50 mm \times 1.7 μ m) column at 30 °C was used. The mobile phases A (0.1% formic acid) and B (acetonitrile) were applied (0.2 mL/min) with a linear gradient starting at 30% B and increasing to up 100% acetonitrile in 8 min, holding until 9 min, then returning to the initial conditions and re-equilibrating until 10 min. Compounds were putatively identified by comparison of their precursor and product ions with data from literature. In addition, UHPLC-ESI-MS analyses were also carried out with the omelet samples, following the same procedures.

2.3. *Omelets*

2.3.1. *Preparation of omelets*

Fresh conventional chicken eggs were acquired from a market located in Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil. The eggs were classified and labeled as “Type 1, extra”, which includes eggs with a minimal weight of 60 g. Thus, the eggs presented the following characteristics: average weight of 61.10 g, average egg length of 5.70 \pm 0.5 cm, and average egg width of 4.2 \pm 0.5 cm. Twelve eggs were broken and egg yolk and white were mixed (velocity 1 for 15 s) using a domestic mixer (Ri7000, Walita, São Paulo, Brazil). This mixture was analyzed before cooking, corresponding to raw samples.

The omelets were thermally prepared according to each treatment: omelets without parsley (control) and omelets with fresh parsley at 0.25, 0.5 and, 0.75% w/w; calculated according to the weight of each omelet (150 ± 0.5 g, equivalent to three eggs). As there are no studies applying parsley directly in omelets, the percentages were defined by performing an informal sensory analysis with the laboratory team.

2.3.2. *Cooking methods*

Since there are no standard procedures for the thermal preparation of omelets, the temperature/time binomial of each cooking method was determined by carrying out informal tests, mimicking domestic preparations. Additionally, food safety was also considered and a minimum internal temperature of 70 °C (ANVISA, 2004) was defined and monitored using a digital thermometer (Incoterm 6132, Brazil). The maximum internal temperatures measured at the end of the cooking time were: 84 °C (pan frying), 95 °C (microwaving), and 138 °C (air frying).

Pan frying was performed using a domestic stove (Esmaltec, Ceará, Brazil) and a Teflon pan for 4 min. The sample was turned over at 1-min intervals, totaling 2 min of cooking for each omelet side. For air frying, an electric air fryer (RI9225/50, Philips Walita, São Paulo, Brazil) was used. The equipment temperature was set at 220 °C. Then, the air fryer form containing the sample was placed in the chamber and the sample was heated for 10 min. A microwave oven (CCE, São Paulo, Brazil) was used to cook the omelets, which were placed in microwave forms, for 3 min (600 W).

A total of three omelets, each containing nine eggs, was prepared and mixed to obtain a single sample for each treatment. The samples were ground, homogenized, and lyophilized to obtain the results on a dry basis. Convenient aliquots were taken for analyses, which were carried out in triplicate.

2.4. *Analyses of omelet samples*

2.4.1. *Total lipids and moisture*

Moisture and total lipids were determined according to AOAC (2006) by methods 950.46 and 991.36, respectively. For moisture, the samples were placed in an oven at 105 °C and dried for 12 h. Then, they were periodically removed from the oven, cooled in a desiccator, and weighed for additional 1 h intervals until constant weight. For total lipids, the Soxhlet apparatus was used to extract the oil with petroleum ether for 8 h and, then, the collected solvent was removed using a rotary evaporator at 40 °C.

2.4.2. *Fatty acid composition*

Lipids were converted into methyl esters according to Zhu, Svendsen, Jaepelt, Moughan, and Rutherford (2011). Analyses were conducted using a gas chromatograph (Shimadzu GC 2010, Tokyo, Japan) with a flame ionization detector and a fused silica CP-SIL 88 capillary column (100 m x 0.25 mm i.d., 0.20 µm film thickness) (Chrompack, Middelburg, The Netherlands), operating in the split mode (1:50). The chromatographic conditions were used as described by de Oliveira et al. (2020).

2.4.3. *Cholesterol and cholesterol oxides*

Cholesterol and cholesterol oxides were determined simultaneously by direct saponification (Saldanha, Sawaya, Eberlin, & Bragagnolo, 2006). Chromatographic analyses were conducted according to Ferreira et al. (2017) using a HPLC system (Waters,

Milford, MA, EUA), equipped with photo-diode array/refractive index detectors.

The structures of cholesterol and cholesterol oxides were confirmed using a HPLC-MS-PDA (Shimadzu LCMS-2020, Tokyo, Japan) with Atmospheric Pressure Chemical Ionization (APCI) in the positive ion mode and selective ion monitoring (SIM) mode, according to de Oliveira et al. (2020).

2.5. Statistical analysis

The experiment was performed using a 3X4 complete factor design: factor A was the cooking method with three levels (a1: pan frying, a2: air frying, and a3: microwaving) and factor B was the concentration of parsley (b1: 0.0%, b2: 0.25%, b3: 0.5%, and b4: 0.75%). Besides, there was an additional treatment including raw samples. The two-way ANOVA test was used, followed by the multiple mean comparison test of Tukey, where significant differences were detected. The differences between raw and control samples of each treatment was analyzed using the Dunnett test. All tests were performed using a 5% of significance. For multivariate statistics, Principal Component Analysis (PCA) and Hierarchical Clustering (HC) with a heatmap were used. PCA was performed after variables standardization to avoid the influence of different magnitudes. The HC was made using Euclidian distances to measure the distances and the Ward method to group. Heatmap was also used for data standardization. Colors varied from blue, white, and red, meaning the lowest, medium, and highest values of each variable, respectively.

3. Results and discussion

3.1. Parsley analyses

3.1.1. Phenolic compounds, flavonoids, and antioxidant capacity of parsley

The total content of phenolic compounds and flavonoids, as well as the antioxidant capacities of parsley extract are presented in Table 1. The total phenolic content of parsley was 5.12 ± 0.03 mg GAE/g, while variable values were found in the literature (from 2.10 to 12.49 mg GAE/g) (Dobričević et al., 2019; Epifanio et al., 2020; Ferreira et al., 2022; Mazzucotelli et al., 2018). The flavonoid content was 14.73 ± 1.01 mg QE/g, which is in agreement with Epifanio et al. (2020) (15.05 mg QE/g), but was higher than the value determined for a methanolic extract evaluated by Mazzucotelli et al. (2018) (1.65 mg QE/g).

Table 1

Total content of phenolic compounds and flavonoids and *in vitro* antioxidant capacities determined by DPPH, ORAC, and β -carotene/linoleic acid assays of parsley extract.

Method	Value
Total phenolic compounds mg GAE/g	5.12 ± 0.03
Total flavonoids mg QE/g	14.73 ± 1.01
DPPH % inhibition percentage	13.07 ± 0.64
ORAC μ M TE/g	54.76 ± 1.12
β-carotene/linoleic acid % oxidative inhibition	12.14 ± 2.89

Results presented as mean \pm standard deviation, n = 3.

The DPPH assay showed an inhibition of 13.07 ± 0.64 %, which was similar to results reported by Jadczyk, Bojko, Wysocka, and Szymanska (2019) (from 2.16 to 14.26%) and

lower than the one found by Ferreira et al. (2022) (59.21%). The ORAC value was $54.76 \pm 1.12 \mu\text{M TE/g}$, which was lower than $109.94 \mu\text{M TE/g}$ (Ferreira et al., 2022) and higher than $32 \mu\text{M TE/g}$ (Ertekin, Nazli, and Guzel, 2017). For the β -carotene/ linoleic acid assay, the percentage of oxidative inhibition was $12.14 \pm 2.89 \%$, while Ferreira et al. (2022) and Tiveron et al. (2012) reported inhibition percentages of 40.74 and 60.70%, respectively.

Varied findings may be expected since the level of phytochemicals is highly affected by genetic and ecological aspects. Moreover, different extracting conditions result in different extraction performances, influencing the results found in the literature (Dobričević et al., 2019; Janković, Mitić, Arsić, & Stankov-Jovanović, 2021).

3.1.2. Bioactive compounds from parsley determined by UHPLC-ESI-MS

Eleven compounds were identified in parsley extract in the negative ion mode, including organic acids, phenolic acids and their derivatives and flavonoids (Table 2 and Fig. 1).

Table 2

Identification of bioactive compounds present in parsley extract by UHPLC-ESI- MS in the negative ion mode.

Rt (min)	Precursor ion (m/z)	Main product ion(s) (m/z)	Proposed identification	Reference
0.572	191	111; 109; 87; 85; 67	Citric acid	Frattani et al. (2021)
0.603	133	115; 89; 71	Malic acid	Bergantin et al. (2017)
0.861	563	465; 269	Apigenin 7- <i>apiosylglucoside</i> (apiin)	Epifanio et al. (2020) Frattani et al.(2021) Kaiser et al. (2013) Slimestad et al. (2020)
0.876	325	163; 119; 89	<i>p</i> -coumaric acid 4-O-hexoside	Ferreira et al. (2022) Kaiser et al. (2013)
0.981	593	353; 299; 232	Diosmetin 7- <i>apiosylglucoside</i>	Ferreira et al (2022) Kaiser et al. (2013) Slimestad et al. (2020)
1.024	595	474; 299; 199	Quercetin-O-pentosyl-hexoside	Epifanio et al. (2020)
1.031	163	119	<i>p</i> -coumaric acid	Ferreira et al. (2022)
1.045	605	564; 545; 455; 269	Apigenin-O-acetyl-pentosyl-hexoside	Śęczyk et al. (2016)
1.120	679	635; 593; 576; 299	Chrysoeriol-7-O-malonyl <i>apiosylglucoside</i> B	Epifanio et al. (2020)
1.648	471	427; 307; 163; 145; 119	Coumaroyl derivative	Frattani et al. (2021)
4.541	431	311; 153	Apigenin 7- <i>glucoside</i>	Ferreira et al. (2022) Slimestad et al. (2020)

*Rt- retention time.

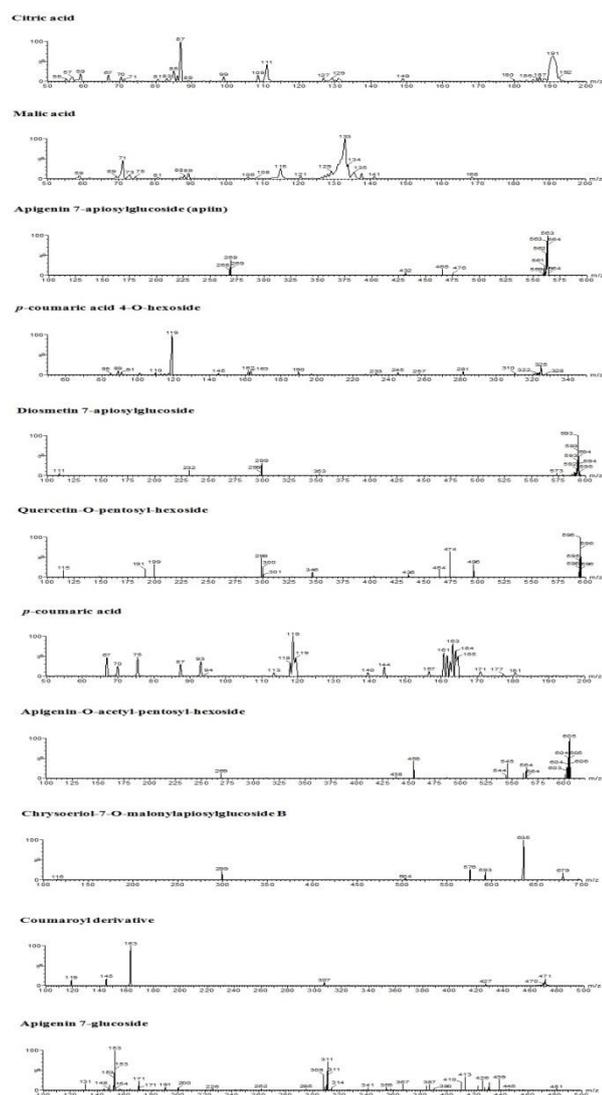


Fig. 1. MS/MS spectra in negative ion mode of compounds identified in parsley extract.

The phenolic acid *p*-coumaric (m/z 163) was found in parsley in agreement with Ferreira et al. (2022), while derivatives from *p*-coumaric acid were detected as m/z 471 (a coumaroyl derivative) and m/z 325 (*p*-coumaric acid 4-O-hexoside) (Ferreira et al., 2022; Frattani et al., 2021; Kaiser, Carle, & Kammerer, 2013). Regarding, flavonoids, apigenin 7-glucoside (m/z 431), apigenin 7-apiosylglucoside (apiin, m/z 563), diosmetin 7-apiosylglucoside (m/z 593), quercetin-O-pentosyl-hexoside (m/z 595), apigenin-O-acetyl-pentosyl-hexoside (m/z 605), and chrysoeriol-7-O-malonylapiosylglucoside B (m/z 679) were identified (Epifanio et al., 2020; Ferreira et al., 2022; Frattani et al., 2021; Kaiser et al., 2013; Sęczyk et al., 2016; Sliestad, Fossen, & Brede, 2020). Citric and malic acids were determined according to Frattani et al. (2021) and Bergantin et al. (2017), respectively.

These natural compounds have received increasing attention. Godarzi, Gorji, Gholizadeh, Mard, and Mansouri (2020) showed that the treatment with *p*-coumaric acid protected against ischemia reperfusion injury via its antioxidant and anti-inflammatory effects. A wide spectrum of bioactivities for glycosylated flavonoids has been documented, including antioxidant, immunomodulatory, anti-inflammatory, and anticancer activities (Minda et al., 2020; Yang, Liu, Yang, Gupta, & Jiang, 2018). Apigenin 7-glucoside presented

in vitro antiproliferative and pro-apoptotic potentials against human cervical cancer cell line (Minda et al., 2020).

These bioactivities are mainly attributed to the antioxidant properties of phenolic compounds formed by one or more hydroxylated aromatic rings bonded to one or more hydroxyls, which donate a hydrogen atom and/or an electron to free radicals that initiate oxidative processes (Embuscado, 2019; Zeb, 2021). Most of the phenolic compounds detected in parsley are flavonoids, which minimize lipid autoxidation in food by quenching radicals. Additionally, they can act as singlet oxygen scavengers and as metal-chelating agents. Flavonoids also act in antioxidant enzymes activation and oxidative enzymes inhibition (D'Amelia, Aversano, Chiaiese, & Carputo, 2018; Procházková, Bousová, & Wilhelmová, 2011).

Whereas parsley is appreciated due to its aroma, flavor and color, it is also a source of antioxidant compounds. Thus, the addition of parsley as a strategy to control oxidative reactions in food systems such as omelets, which are widely consumed but little studied, is worth evaluating.

3.2 Omelet samples

3.2.1 Total moisture and lipids of omelet samples

The moisture of raw omelets was 76.71 ± 0.14 g/100 g (Supplementary material Table 1), similar to fresh whole eggs evaluated by Tang et al. (2021) (76.52 g/100 g). After cooking, moisture decreased to 73.64 ± 0.17 g/100 g (pan frying), 71.40 ± 0.32 g/100 g (air frying), and 70.61 ± 0.15 g/100 g (microwaving) in control samples, corresponding to reductions around 4, 7, and 8%, respectively ($p < 0.05$). Parsley did not significantly alter the results obtained after cooking ($p > 0.05$).

Other authors have also demonstrated reductions of moisture in eggs due to cooking. Tang et al. (2021) reported losses of approximately 4 and 12% in cooked eggs after microwaving (300 W/ 4 min) and pan frying (130 °C/ 2.5 min), respectively. Su et al. (2021) showed that moisture declined fast, from about 75 to 10%, as microwave irradiation time increased (800 W/ 70–100 s).

The total lipid content of raw omelets was 29.72 ± 0.42 g/100 g (dry basis) (Supplementary material Table 1), in agreement with Attia, Al-Harhi, Korish, and Shiboob (2015) (from 28.10 to 33.10 g/100 g). Microwaving significantly decreased the lipid level of control samples ($p < 0.05$), which was not observed after air frying and pan frying. The total contents of lipids of control samples were: 28.67 ± 0.40 g/100 g (air frying), 28.47 ± 0.36 g/100 g (pan frying), and 27.79 ± 0.17 g/100 g (microwaving). As for moisture, parsley did not significantly alter the results ($p > 0.05$).

Murcia, Martínez-Tomé, Cerro, Sotillo, and Ramírez (1999) reported losses of lipids in eggs corresponding to 1.53% after microwaving. Cortinas, Galobart, Barroeta, Baucells, and Grashorn (2003) showed that pan frying did not affect the lipids content. Other studies have demonstrated increased levels of lipids after egg microwaving (Su et al., 2021; Tang et al., 2021) and pan frying (Tang et al., 2021), possibly as a consequence of water loss.

3.2.2 Effects on fatty acids degradation

The main fatty acids of raw omelets were: oleic (C18:1 *n*9t, 38.69 ± 0.09 g/100 g oil), palmitic (C16:0, 23.44 ± 0.05 g/100 g oil), and linoleic acids (C18:2 *n*6c, 9.35 ± 0.05 g/100 g oil). Stearic and palmitoleic acids also presented high levels. The sum fatty acid contents increased as follows: polyunsaturated fatty acid (PUFA) (11.26 ± 0.03 g/100 g oil) < saturated fatty acid (SFA) (32.18 ± 0.12 g/100 g oil) < monounsaturated fatty acid (MUFA) (42.60 ± 0.10 g/100 g oil) (Table 3). Similar fatty acids profiles were reported by other

authors (Al Juhaimi, Uslu, & Özcan, 2017; Innosa et al., 2019).

Heating modified fatty acids concentration in control samples (Table 3). After air frying, the contents of SFAs, MUFAs, and PUFAs were 30.49 ± 0.48 , 45.73 ± 0.17 , and 8.84 ± 0.12 g/100 g oil, respectively. Microwaving also reduced SFAs (30.87 ± 0.15 g/100 g oil) and PUFAs (9.44 ± 0.08 g/100 g oil), while increased the amount of MUFAs (43.53 ± 1.43 g/100 g oil). A similar trend was observed after pan frying: SFAs (30.48 ± 0.43 g/100 g oil), MUFAs (45.79 ± 0.18 g/100 g oil), and PUFAs (9.04 ± 0.03 g/100 g oil). However, the fatty acids profile (MUFA > SFA > PUFA) did not change after cooking for all methods applied.

In fact, exposure to high temperatures accelerates oxidative processes in food by reducing the activation energy required for the hydrogen abstraction and formation of free radicals (Barriuso, Ansorena, & Astiasarán, 2017). Since PUFAs are most susceptible to oxidation they are commonly considered to study lipid oxidation in food. The more unsaturations in the fatty acid chain the higher the oxidation rate (Barriuso et al., 2017). Regarding PUFAs, heating resulted in degradations of 21.50% (air frying), 19.72% (pan frying), and 16.17% (microwaving).

Table 3

Fatty acid composition (g/100 g oil) of raw and cooked omelets (control and with parsley at 0.25, 0.5,

Air frying					
Fatty acid	Raw	Control	0.25% parsley	0.5% parsley	0.75% parsley
C14:0	0.31 ± 0.00	0.31 ± 0.01 ^{A;a}	0.29 ± 0.00 ^{B;a;α}	0.30 ± 0.00 ^{AB;a}	0.31 ± 0.00 ^{AB;a}
C16:0	23.44 ± 0.05	22.80 ± 0.25 ^{A;a;*}	22.81 ± 0.06 ^{A;b;*}	22.79 ± 0.05 ^{A;b;*}	22.80 ± 0.10 ^{A;b;*}
C18:0	8.27 ± 0.18	7.30 ± 0.23 ^{B;a;*}	8.39 ± 0.41 ^{B;a;α}	8.44 ± 0.32 ^{B;a;α}	8.49 ± 0.03 ^{B;a;α}
C22:0	0.16 ± 0.00	0.08 ± 0.00 ^{B;b;*}	0.13 ± 0.00 ^{A;ab;α;*}	0.13 ± 0.00 ^{A;a;α;*}	0.13 ± 0.00 ^{A;b;α;*}
C16:1	3.09 ± 0.01	2.56 ± 0.01 ^{C;a;*}	2.67 ± 0.02 ^{B;a;α;*}	2.67 ± 0.02 ^{B;a;α;*}	2.72 ± 0.00 ^{A;a;α;*}
C18:1 n9t	38.69 ± 0.09	42.67 ± 0.17 ^{A;a;*}	42.22 ± 0.14 ^{A;a;α;*}	42.49 ± 0.17 ^{A;a;*}	42.40 ± 0.24 ^{A;a;*}
C20:1 n9	0.43 ± 0.00	0.38 ± 0.01 ^{AB;a;*}	0.37 ± 0.00 ^{B;a;*}	0.38 ± 0.01 ^{AB;a;*}	0.40 ± 0.01 ^{A;a}
C24:1 n9	0.39 ± 0.00	0.12 ± 0.02 ^{B;b;*}	0.21 ± 0.03 ^{A;a;α;*}	0.22 ± 0.01 ^{A;a;α;*}	0.21 ± 0.02 ^{A;ab;α;*}
C18:2 n6c	9.35 ± 0.05	8.15 ± 0.04 ^{A;b;*}	8.39 ± 0.15 ^{A;a;*}	8.41 ± 0.12 ^{A;b;*}	8.47 ± 0.19 ^{A;a;*}
C20:4 n6	1.55 ± 0.00	0.61 ± 0.07 ^{B;a;*}	1.19 ± 0.09 ^{A;a;α;*}	1.22 ± 0.01 ^{A;a;α;*}	1.23 ± 0.01 ^{A;a;α;*}
C22:6 n3	0.36 ± 0.00	0.08 ± 0.01 ^{C;b;*}	0.16 ± 0.02 ^{B;b;α;*}	0.22 ± 0.01 ^{A;ab;α;*}	0.18 ± 0.03 ^{AB;b;α;*}
ΣSFA	32.18 ± 0.12	30.49 ± 0.48 ^{B;a;*}	31.62 ± 0.38 ^{A;a;α}	31.66 ± 0.30 ^{A;a;α}	31.73 ± 0.13 ^{A;a;α}
ΣMUFA	42.60 ± 0.10	45.73 ± 0.17 ^{A;a;*}	45.46 ± 0.10 ^{A;a;*}	45.76 ± 0.16 ^{A;a;*}	45.73 ± 0.21 ^{A;a;*}
ΣPUFA	11.26 ± 0.03	8.84 ± 0.12 ^{B;b;*}	9.74 ± 0.06 ^{A;a;α;*}	9.85 ± 0.11 ^{A;a;α;*}	9.88 ± 0.18 ^{A;a;α;*}
ΣUFA	53.86 ± 0.12	54.57 ± 0.06 ^{B;a}	55.20 ± 0.09 ^{A;a;α;*}	55.61 ± 0.06 ^{A;a;α;*}	55.61 ± 0.33 ^{A;ab;α;*}
Σn3/n6	0.03 ± 0.00	0.01 ± 0.00 ^{C;b;*}	0.02 ± 0.00 ^{BC;b;α;*}	0.02 ± 0.00 ^{A;ab;α;*}	0.02 ± 0.00 ^{AB;b;α;*}

Pan frying					
	Raw	Control	0.25% parsley	0.5% parsley	0.75% parsley
C14:0	0.31 ± 0.00	0.25 ± 0.00 ^{B;c,*}	0.27 ± 0.00 ^{AB;b;β,*}	0.29 ± 0.00 ^{A;b;β,*}	0.25 ± 0.00 ^{A;a;β}
C16:0	23.44 ± 0.05	22.63 ± 9.28 ^{A;a,*}	22.69 ± 0.10 ^{A;b,*}	22.71 ± 0.03 ^{A;b,*}	22.78 ± 0.07 ^{A;b,*}
C18:0	8.27 ± 0.18	7.49 ± 0.21 ^{A;a,*}	7.50 ± 0.33 ^{A;a,*}	7.59 ± 0.01 ^{A;b,*}	7.67 ± 0.05 ^{A;c}
C22:0	0.16 ± 0.00	0.11 ± 0.01 ^{B;a,*}	0.15 ± 0.00 ^{A;a;β}	0.15 ± 0.01 ^{A;a;β}	0.15 ± 0.02 ^{A;a;β}
C16:1	3.09 ± 0.01	2.54 ± 0.05 ^{A;a,*}	2.54 ± 0.14 ^{A;a,*}	2.69 ± 0.02 ^{A;a,*}	2.71 ± 0.17 ^{A;a,*}
C18:1 n9t	38.69 ± 0.09	42.81 ± 0.22 ^{A;a,*}	42.46 ± 0.06 ^{B;a;β,*}	42.48 ± 0.05 ^{AB;a;β,*}	42.60 ± 0.13 ^{A^B;a,*}
C20:1 n9	0.43 ± 0.00	0.32 ± 0.01 ^{A;b,*}	0.32 ± 0.03 ^{A;a,*}	0.32 ± 0.01 ^{A;b,*}	0.37 ± 0.03 ^{A;a;β,*}
C24:1 n9	0.39 ± 0.00	0.12 ± 0.01 ^{B;b,*}	0.13 ± 0.00 ^{B;b,*}	0.13 ± 0.00 ^{B;b,*}	0.17 ± 0.02 ^{A;b;β,*}
C18:2 n6c	9.35 ± 0.05	8.20 ± 0.02 ^{B;b,*}	8.45 ± 0.38 ^{AB;a,*}	8.68 ± 0.02 ^{AB;a,*}	8.77 ± 0.22 ^{A;a;β,*}
C20:4 n6	1.55 ± 0.00	0.77 ± 0.01 ^{B;a,*}	1.01 ± 0.03 ^{A;b;β,*}	1.06 ± 0.06 ^{A;b;β,*}	1.11 ± 0.08 ^{A;a;β,*}
C22:6 n3	0.36 ± 0.00	0.07 ± 0.01 ^{C;b,*}	0.22 ± 0.03 ^{B;a;β,*}	0.25 ± 0.03 ^{AB;a;β,*}	0.27 ± 0.00 ^{A;a;β,*}
ΣSFA	32.18 ± 0.12	30.48 ± 0.43 ^{A;a,*}	30.59 ± 0.42 ^{A;a,*}	30.74 ± 0.00 ^{A;b,*}	30.85 ± 0.13 ^{A;b,*}
ΣMUFA	42.60 ± 0.10	45.79 ± 0.18 ^{A;a,*}	45.45 ± 0.11 ^{A;a,*}	45.62 ± 0.05 ^{A;a,*}	45.85 ± 0.23 ^{A;a,*}
ΣPUFA	11.26 ± 0.03	9.04 ± 0.03 ^{B;b,*}	9.68 ± 0.32 ^{A;a;β,*}	9.99 ± 0.06 ^{A;a;β,*}	10.15 ± 0.20 ^{A;a;β,*}
ΣUFA	53.86 ± 0.12	54.83 ± 0.15 ^{C;a}	55.13 ± 0.21 ^{BC;a,*}	55.61 ± 0.01 ^{AB;a;β,*}	56.00 ± 0.43 ^{A;a;β,*}
Σn3/n6	0.03 ± 0.00	0.01 ± 0.00 ^{B;b,*}	0.02 ± 0.00 ^{A;a;β,*}	0.03 ± 0.00 ^{A;a;β,*}	0.03 ± 0.00 ^{A;a;β,*}

Microwaving					
	Raw	Control	0.25% parsley	0.5% parsley	0.75% parsley
C14:0	0.31 ± 0.00	0.29 ± 0.01 ^{A;b}	0.30 ± 0.01 ^{A;a}	0.30 ± 0.00 ^{A;a}	0.30 ± 0.01 ^{A;a}
C16:0	23.44 ± 0.05	23.11 ± 0.08 ^{A;a}	23.19 ± 0.08 ^{A;a}	23.22 ± 0.01 ^{A;a}	23.40 ± 0.25 ^{A;a}
C18:0	8.27 ± 0.18	7.38 ± 0.11 ^{B;a,*}	8.09 ± 0.67 ^{AB;a}	8.31 ± 0.12 ^{A;a;δ}	8.33 ± 0.05 ^{A;b;δ}
C22:0	0.16 ± 0.00	0.09 ± 0.01 ^{A;ab,*}	0.11 ± 0.01 ^{A;b,*}	0.11 ± 0.01 ^{A;b,*}	0.12 ± 0.01 ^{A;b,*}
C16:1	3.09 ± 0.01	2.61 ± 0.02 ^{A;a,*}	2.68 ± 0.15 ^{A;a,*}	2.70 ± 0.19 ^{A;a,*}	2.77 ± 0.01 ^{A;a,*}

C18:1 n9t	38.69 ± 0.09	40.37 ± 1.45 ^{A;b,*}	41.47 ± 0.92 ^{A;a,*}	41.09 ± 0.17 ^{A;b,*}	41.13 ± 0.33 ^{A;b,*}
C20:1 n9	0.43 ± 0.00	0.36 ± 0.00 ^{B;a,*}	0.37 ± 0.01 ^{AB;a,*}	0.37 ± 0.00 ^{AB;a,*}	0.38 ± 0.01 ^{A;a;δ*}
C24:1 n9	0.39 ± 0.00	0.19 ± 0.01 ^{B;a,*}	0.21 ± 0.01 ^{B;a,*}	0.21 ± 0.01 ^{B;a,*}	0.26 ± 0.03 ^{A;a;δ*}
C18:2 n6c	9.35 ± 0.05	8.38 ± 0.11 ^{A;a,*}	8.54 ± 0.17 ^{A;a,*}	8.60 ± 0.04 ^{A;ab,*}	8.65 ± 0.04 ^{A;a;δ,*}
C20:4 n6	1.55 ± 0.00	0.90 ± 0.11 ^{B;a,*}	0.90 ± 0.03 ^{B;b,*}	1.02 ± 0.03 ^{AB;b,*}	1.16 ± 0.10 ^{A;a;δ,*}
C22:6 n3	0.36 ± 0.00	0.16 ± 0.02 ^{B;a,*}	0.21 ± 0.01 ^{AB;ab,*}	0.19 ± 0.02 ^{AB;b,*}	0.21 ± 0.03 ^{A;b;δ,*}
ΣSFA	32.18 ± 0.12	30.87 ± 0.15 ^{B;a,*}	31.69 ± 0.71 ^{AB;a}	31.94 ± 0.11 ^{A;a;δ}	32.15 ± 0.25 ^{A;a;δ}
ΣMUFA	42.60 ± 0.10	43.53 ± 1.43 ^{A;b}	44.73 ± 0.77 ^{A;a,*}	44.37 ± 0.02 ^{A;b,*}	44.54 ± 0.33 ^{A;b,*}
ΣPUFA	11.26 ± 0.03	9.44 ± 0.08 ^{C;a,*}	9.65 ± 0.20 ^{BC;a,*}	9.81 ± 0.05 ^{AB;a;δ,*}	10.02 ± 0.17 ^{A;a;δ,*}
ΣUFA	53.86 ± 0.12	52.97 ± 1.49 ^{B;a,*}	54.38 ± 0.63 ^{AB;ab,*}	54.18 ± 0.03 ^{AB;b,*}	54.56 ± 0.48 ^{A;b;δ,*}
Σn3/n6	0.03 ± 0.00	0.02 ± 0.00 ^{A;a,*}	0.02 ± 0.00 ^{A;ab,*}	0.02 ± 0.00 ^{A;b,*}	0.02 ± 0.00 ^{A;ab,*}

SFA = saturated fatty acid; MUFA = monounsaturated fatty acid; PUFA = Polyunsaturated fatty acid; UFA = unsaturated fatty acid. Values represent means ± standard deviation in triplicates. Different capital letters indicate significant differences among the percentages of parsley addition for each cooking method by the Tukey test. Different lowercase letters indicate significant differences among the cooking methods considering the same percentage of parsley addition by the Tukey test. Air frying - "α" indicates significant differences compared to "Control" by the Dunnett test. Pan frying - "β" indicates significant differences compared to "Control" by the Dunnett test. Microwaving - "δ" indicates significant differences compared to "Control" by the Dunnett test. "*" indicates significant differences of any samples compared to "Raw".

PUFAs were mainly affected by air frying, while the lowest degradation percentage was determined in microwaved samples. Air frying was carried out at the highest temperature (220 °C) for the longest time (10 min), achieving the highest internal temperature (138 °C). These findings are in agreement with Douny et al. (2015), who compared boiling, pan frying, and oven cooking, showing that the fatty acid composition of eggs was most affected by oven cooking (180 °C / 45 min), which achieved the highest internal temperature (102.6 °C). Murcia et al. (1999) reported that PUFAs decreased by approximately 13 and 30% in eggs prepared by microwaving and pan frying, respectively. Al Juhaimi et al. (2017) concluded that oleic acid was most degraded by microwaving when comparing boiled, pan-fried, and baked eggs.

The impact of cooking on food constituents depends on numerous parameters such as method, equipment, selected temperature, length of cooking, and others. Thus, differences among studies reported in the literature are expected, even when considering the same cooking technique.

Although cooking reduced the contents of PUFAs, fatty acid degradation was much higher in control samples than in samples with parsley (Table 3). The levels of PUFAs in air-fried samples with parsley (from 9.74 ± 0.06 to 9.88 ± 0.18 g/100 g oil) were higher compared to control (21.50% of degradation) ($p < 0.05$). Thus, a lower degradation was observed with the herb addition (12.26% for 0.75% parsley).

For pan-fried samples containing parsley (from 9.68 ± 0.32 to 10.15 ± 0.20 g/100 g

oil), a lower degradation was found for 0.75% parsley (9.86%) compared to control (19.72%). For microwaving, contents from 9.65 ± 0.20 to 10.02 ± 0.17 g/100 g were determined, with 11.02% of degradation for the treatment with 0.75%. No significant differences were determined among samples added with different levels of parsley in most samples ($p > 0.05$).

Parsley contains a wide spectrum of bioactive compounds (especially flavonoids) with antioxidant properties that may contribute to its protective effect against lipid oxidation. These polyphenols react with free radicals formed during the initiation stage of autoxidation and may also protect lipids from oxidative initiators such as metal ions (Embuscado, 2019; Zeb, 2021).

3.2.3 Effects on cholesterol oxides formation

The cholesterol content of raw omelets was 1038.41 ± 4.51 mg/100 g (dry basis) (Table 4), which is in accordance with Batkowska, Drabik, Brodacki, Czech, and Adamczuk (2021) (1010 mg/100 g) who studied fresh whole eggs. However, regarding the relevance of cholesterol to the human diet, studies have been carried out on its concentration and the factors that may influence it in eggs (Abdalla & Ochi, 2018; Batkowska et al., 2021).

Heating significantly reduced ($p < 0.05$) cholesterol levels by 58.96% (426.21 ± 5.84 mg/100 g), 38.12% (642.60 ± 7.85 mg/100 g), and 27.63% (751.55 ± 1.20 mg/100 g) after air frying, microwaving, and pan frying (Table 4), respectively, showing the greatest impact of air frying. Although numerous studies have described cholesterol degradation during cooking in food matrices, there is a lack of data concerning eggs.

Table 4: Cholesterol (mg/100 g, dry basis) and cholesterol oxides ($\mu\text{g/g}$, dry basis) levels of raw and cooked omelets (control and with parsley at 0.25, 0.5, and 0.75%).

Air frying					
	Raw	Control	0.25% parsley	0.5% parsley	0.75% parsley
5,6α-EP	-	26.67 $\pm 0.20^a$	-	-	-
5,6β-EP	13.09 ± 0.12	71.56 $\pm 1.88^{A;a,*}$	27.63 $\pm 3.13^{BC;b,*}$	37.01 $\pm 5.91^{B;a,*}$	22.97 $\pm 3.36^{C;a,*}$
20α-OH	1.57 ± 0.02	14.88 $\pm 0.21^{A;b,*}$	2.78 $\pm 0.03^{B;c;\alpha}$	2.52 $\pm 0.56^{BC;c;\alpha}$	1.97 $\pm 0.09^{C;b;\alpha}$
25-OH	1.63 ± 0.30	96.86 $\pm 0.73^{A;a,*}$	47.31 $\pm 2.64^{B;b;\alpha,*}$	48.89 $\pm 7.13^{B;b;\alpha,*}$	22.49 $\pm 0.98^{C;b;\alpha,*}$
7α-OH	5.42 ± 0.22	28.14 $\pm 0.62^{A;b,*}$	5.03 $\pm 0.04^{B;b;\alpha}$	5.78 $\pm 0.69^{B;b;\alpha}$	5.61 $\pm 0.28^{B;a;\alpha}$
7β-OH	-	-	-	-	-
7-keto	19.88 ± 2.48	582.93 $\pm 12.73^{A;a,*}$	211.80 $\pm 3.36^{B;b;\alpha,*}$	165.05 $\pm 16.57^{C;b;\alpha,*}$	96.95 $\pm 7.89^{D;c;\alpha,*}$
Total COPs	40.69 ± 2.26	821.05 $\pm 13.77^{A;a,*}$	294.56 $\pm 4.29^{B;b;\alpha,*}$	259.26 $\pm 19.16^{C;b;\alpha,*}$	150 $\pm 10.94^{D;c;\alpha,*}$
Cholesterol	1038.41 ± 4.51	426.21 $\pm 5.84^{D;c,*}$	732.20 $\pm 2.01^{C;a;\alpha,*}$	749.11 $\pm 6.28^{B;b;\alpha,*}$	892.77 $\pm 0.46^{A;a;\alpha,*}$
Pan frying					
	Raw	Control	0.25% parsley	0.5% parsley	0.75% parsley
5,6α-EP	-	-	-	-	-
5,6β-EP	13.09 ± 0.12	66.75 $\pm 4.11^{A;a,*}$	39.78 $\pm 3.44^{B;ab,*}$	38.43 $\pm 1.50^{B;a,*}$	28.27 $\pm 0.77^{C;a,*}$
20α-OH	1.57 ± 0.02	29.54 $\pm 1.41^{A;a,*}$	28.68 $\pm 0.41^{A;a,*}$	26.45 $\pm 1.20^{A;a,*}$	14.13 $\pm 2.59^{B;a;\beta,*}$

25-OH	1.63 ± 0.30	31.70 ± 0.72 ^{A;b;*}	23.84 ± 4.08 ^{AB;c;β*}	20.37 ± 4.31 ^{B;c;β;*}	17.43 ± 1.61 ^{B;c;β;*}
7α-OH	5.42 ± 0.22	8.18 ± 1.08 ^{A;c;*}	6.76 ± 0.93 ^{AB;b;*}	5.23 ± 1.05 ^{B;b;β}	5.28 ± 0.19 ^{B;a;β}
7β-OH	-	-	-	-	-
7-keto	19.88 ± 2.48	174.90 ± 8.99 ^{A;c;*}	159.33 ± 1.14 ^{B;c;β;*}	155.95 ± 2.67 ^{BC;b;β;*}	144.92 ± 1.15 ^{C;b;β;*}
Total COPs	40.69 ± 2.26	311.07 ± 13.84 ^{A;b;*}	258.39 ± 8.08 ^{B;c;β;*}	246.44 ± 6.95 ^{B;b;β;*}	210.03 ± 3.97 ^{C;b;β;*}
Cholesterol	1038.41 ± 4.51	751.55 ± 1.20 ^{BC;a;*}	747.68 ± 10.63 ^{C;a;*}	767.00 ± 3.52 ^{AB;a;β;*}	771.32 ± 4.38 ^{A;b;β;*}

Microwaving

	Raw	Control	0.25% parsley	0.5% parsley	0.75% parsley
5,6α-EP	-	23.37 0.58 ^{A;b}	21.58 ± 1.35 ^A	-	-
5,6β-EP	13.09 ± 0.12	65.17 ± 0.05 ^{A;a;*}	48.17 ± 7.97 ^{B;a;δ;*}	29.21 ± 3.75 ^{C;a;δ;*}	26.44 ± 1.46 ^{C;a;δ;*}
20α-OH	1.57 ± 0.02	30.60 ± 0.10 ^{A;a;*}	17.10 ± 1.80 ^{B;b;δ;*}	15.47 ± 0.23 ^{BC;b;δ;*}	13.50 ± 0.44 ^{C;a;δ;*}
25-OH	1.63 ± 0.30	97.96 ± 0.42 ^{A;a;*}	91.22 ± 3.34 ^{B;a;δ;*}	72.55 ± 0.70 ^{C;a;δ;*}	29.20 ± 0.21 ^{D;a;δ;*}
7α-OH	5.42 ± 0.22	34.59 ± 0.92 ^{A;a;*}	15.10 ± 1.01 ^{B;a;δ;*}	10.62 ± 0.58 ^{C;a;δ;*}	4.63 ± 0.10 ^{D;b;δ;*}
7β-OH	-	4.04 ± 0.94 ^A	1.66 ± 0.17 ^{B;δ}	-	-
7-keto	19.88 ± 2.48	549.48 ± 13.76 ^{A;b;*}	475.17 ± 6.02 ^{B;a;δ;*}	349.97 ± 0.80 ^{C;a;δ;*}	172.62 ± 2.45 ^{D;a;δ;*}
Total COPs	40.69 ± 2.26	805.21 ± 14.50 ^{A;a;*}	670 ± 8.77 ^{B;a;δ;*}	477.83 ± 3.68 ^{C;a;δ;*}	232.89 ± 1.27 ^{D;a;δ;*}
Cholesterol	1038.41 ± 4.51	642.60 ± 7.85 ^{C;b;*}	651.74 ± 13.69 ^{C;b;*}	675.07 ± 4.63 ^{B;c;δ;*}	727.11 ± 2.23 ^{A;c;δ;*}

5,6α-EP = 5,6α-epoxycholesterol; 5,6β-EP = 5,6β-epoxycholesterol; 20α-OH = 20α-hydroxycholesterol; 25-OH = 25-hydroxycholesterol; 7α-OH = 7α-hydroxycholesterol; 7β-OH = 7β-hydroxycholesterol; 7-keto = 7-ketocholesterol. Values represent means ± standard deviation in triplicates. Different capital letters indicate significant differences among the percentages of parsley addition for each cooking method by the Tukey test. Different lowercase letters indicate significant differences among the cooking methods considering the same percentage of parsley addition by the Tukey test. Air frying - "α" indicates significant differences compared to "Control" by the Dunnett test. Pan frying - "β" indicates significant differences compared to "Control" by the Dunnett test. Microwaving - "δ" indicates significant differences compared to "Control" by the Dunnett test. "*" indicates significant differences of any samples compared to "Raw".

Zardetto, Barbanti, and Rosato (2014) reported cholesterol reductions from 16 to 25% after thermal treatments of fresh egg pasta containing pasteurized liquid whole egg. The cholesterol content of boiled eggs remained stable after 5 min of boiling (from 1557 to 1613 mg/100 g); however, it decreased significantly in eggs cooked for 10 and 20 min (1236 and 1210 mg/100 g, respectively) (Innosa et al., 2019).

Cholesterol is an essential biochemical compound commonly present in food of animal origin; however, it is highly affected by thermal treatments. High temperatures induce cholesterol degradation routes like oxidation and polymerization, resulting in the formation of COPs, ketones, aldehydes, hydrocarbons, alcohols, and volatile organic acids (Derewiaka & Molińska, 2015).

Parsley showed a protective effect against cholesterol degradation. Cholesterol levels varied as follows: from 732.20 ± 2.01 to 892.77 ± 0.46 mg/100 g (air frying), from 747.68 ± 10.63 to 771.32 ± 4.38 mg/100 g (pan frying), and from 651.74 ± 13.69 to 727.11 ± 2.23 mg/100 g (microwaving) (Table 4), with the highest protection observed with 0.75% parsley. In general, the higher concentration of herb the higher its effectiveness.

Five cholesterol oxides were found in raw samples: 7-keto, 7α-OH, 5,6β-EP, 20α-OH, and 25-OH. The main one was 7-keto (19.88 ± 2.48 μg/g, dry basis), followed by 5,6β-EP (13.09 ± 0.12 μg/g, dry basis) and 7α-OH (5.42 ± 0.22 μg/g, dry basis), respectively (Table 4).

The presence of these oxides in raw samples indicates that either lipid oxidation had already occurred or these compounds are metabolites arising from enzymatic processes of chicken metabolism (Mazalli & Bragagnolo, 2009).

However, cooking increased the levels of total COPs from 40.69 ± 2.26 $\mu\text{g/g}$ (raw) to 821.05 ± 13.77 $\mu\text{g/g}$ (air frying), 311.07 ± 13.84 $\mu\text{g/g}$ (pan frying), and 805.21 ± 14.50 $\mu\text{g/g}$ (microwaving) in control samples ($p < 0.05$). In addition to COPs identified in raw samples, 5,6 α -EP and 7 β -OH were detected in control omelets. The absence of these compounds in raw samples can be inherent to sampling since lipids composition of eggs is influenced by numerous factors (Batkowska et al., 2021; Panaite et al., 2021).

7-keto was the predominant COP in control samples showing varied contents depending on the cooking method (Table 4). Increased levels of COPs were also determined by the formation of 25-OH and 5,6 β -EP. Additionally, 5,6 α -EP was only detected after air frying and microwaving, as well as 7 β -OH was found exclusively in pan-fried samples.

COPs formation was mainly induced by air frying and microwaving, with increments of 95.05 and 94.95%, respectively, while pan frying increased by approximately 87%. Thus, close levels of total COPs were determined in control samples after air frying and microwaving ($p > 0.05$).

Air frying has emerged as an alternative technique to fry food without oil, as the hot air circulates uniformly around the food, the crisp characteristic appears (Ferreira et al., 2017; Zaghi, Barbalho, Guiguer, & Otoboni, 2019). However, as demonstrated in this study, more extreme conditions are required (220 °C/ 10 min, internal temperature: 138 °C), resulting in a greater degradation of cholesterol. It is also important to consider that oxygen, which is present in the air, induces oxidation. Thus, samples were most exposed to oxygen during air frying (Ferreira et al., 2017; de Carvalho et al., 2021).

Microwave heating is a type of dielectric heating that does not require a heat-transfer medium, being expected to deliver more homogenous heat at a faster rate (De Pilli & Alessandrino, 2020; Kelly & vo Kientza, 2021). A lower internal temperature (95 °C) was achieved in microwaved samples compared to air frying. However, microwave and air fryer present different mechanisms of heat transfer that may influence COPs formation in different ways, since cholesterol oxidation involves numerous complex reactions (Barriuso et al., 2017).

When compared to the conventional pan cooking, which is the most traditional method used for omelets, microwaving and air frying have practical advantages such as precise process control and speed of operation (Kelly & vo Kientza, 2021; Zaghi et al., 2019). In contrast, pan frying, with the lowest internal temperature (84 °C), resulted in the lowest total COPs level.

Cholesterol oxidation occurs via a mechanism similar to the autoxidation of unsaturated fatty acids. Thus, the presence of a double bond between carbons 5 and 6 facilitates the allylic hydrogen abstraction at C7 by lowering the activation energy required, forming 7-keto, 7 α -OH, and 7 β -OH (Lengyel et al., 2012). Indeed, 7-keto is considered a marker of cholesterol oxidation in food since it is one of the most representative COP (>30% of total COPs) (Innosa et al., 2019; Smith, 1987).

Epoxidation may also occur, being associated with oxidation processes by air. In the present study, samples were exposed to atmospheric oxygen and heat during cooking. Thus, 5,6 β -EP formation can also be highlighted. The β -epimer was the most predominant epoxycholesterol, which could be due to the steric hindrance of the hydroxyl group at position 3. Moreover, the tertiary carbons C20 and C25 are also reactive sites of cholesterol, where hydroperoxides derived from the side chain may originate 20 α -OH and 25-OH (Chien, Wang, & Chen, 1998; Smith, 1987).

Studies have shown the impact of heating on COPs formation in eggs. Higher levels of

COPs, such as 7-keto, 7 β -OH, and 7 α -OH, were determined in *n3*-enriched eggs after boiling and frying (Mazalli & Bragagnolo, 2009; Ren et al., 2013). Zardetto et al. (2014) showed that COPs concentration of pasta prepared with pasteurized eggs increased from 66.44 $\mu\text{g/g}$ (raw) to 117.9 $\mu\text{g/g}$ after 120 min at 100 °C. Biscuit samples formulated with spray-dried eggs showed lower amounts of COPs compared to those formulated with pasteurized eggs, since spray-drying technology reduced the cholesterol oxidation 2.6 times compared to pasteurized eggs (Verardo et al., 2020).

In general, these studies reported lower levels of COPs compared to the present study. However, cholesterol oxidation is a dynamic process influenced by numerous factors (e.g. temperature, pH, oxygen, light, antioxidants, pro-oxidants) and occurs by distinct pathways, resulting in the formation of different oxides at different concentrations (Barriuso et al., 2017; Smith, 1987).

Parsley was effective in protecting cholesterol from oxidation, with lower levels of COPs in samples containing the herb ($p < 0.05$) (Table 4). The amount of total COPs in air-fried samples with parsley varied from 150 ± 10.94 (0.75% parsley) to 294.56 ± 4.29 $\mu\text{g/g}$ (0.25% parsley). In pan-fried samples, 0.75% parsley showed the highest protective effect, reducing the total COPs content to 210.03 ± 3.97 $\mu\text{g/g}$. Microwaved samples with 0.75% parsley presented 232.89 ± 1.27 $\mu\text{g/g}$ of COPs, while 805.21 ± 14.50 $\mu\text{g/g}$ was assessed for control samples. Thus, lower increments in COPs levels were observed with parsley addition compared to control, mainly in the treatments with 0.75% parsley: 72.88% (air frying), 80.63% (pan frying), and 82.53% (microwaving).

Parsley has shown to be as a suitable natural antioxidant in food (Ferreira et al., 2017; Ferreira et al., 2022) and can be added to different food products to improve their antioxidant properties, extending their shelf life (Badee, Salama, & Ki, 2020; Huynh, Krickmeier, & Schnaekkel, 2020). Moreover, parsley has shown preservative effects when incorporated to food packing (Dordevic et al., 2021).

In this study, parsley acted as an anti-cholesterol oxidation agent, which is valuable for the public health. Since eggs contain high levels of cholesterol and are thermally prepared, omelets are potential sources of exogenous COPs that are linked to the development of numerous diseases, as a consequence of their cytotoxic, atherogenic, neurodegenerative, inflammatory, and carcinogenic effects (Kloudova-Spalenkova et al., 2020; Liu et al., 2022; Nury et al., 2021). Thus, strategies to minimize COPs formation during thermal preparation are crucial to maintain the nutritional quality and safety of egg products and dishes.

3.2.4. Determination of parsley constituents present in cooked omelet samples

Eleven bioactive compounds were identified in parsley; however, not all of them were detected in cooked omelet samples (Table 5).

Table 5: Comparison of bioactive compounds present in salsa extract and omelet samples.

Bioactive compound	Air fryer						Pan frying				Microwaving		
	Parsley	Control	0.25% parsley	0.5% parsley	0.75% parsley	Control	0.25% parsley	0.5% parsley	0.75% parsley	Control	0.25% parsley	0.5% parsley	0.75% parsley
Citric acid (<i>m/z</i> 191)	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Malic acid (<i>m/z</i> 133)	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Apigenin 7-apiosylglucoside (<i>m/z</i> 563)	x	-	x	x	x	-	x	x	x	-	x	x	x
<i>p</i> -coumaric acid 4-O-hexoside (<i>m/z</i> 325)	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Diosmetin 7-apiosylglucoside (<i>m/z</i> 593)	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Quercetin-O-pentosyl-hexoside (<i>m/z</i> 595)	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>p</i> -coumaric acid (<i>m/z</i> 163)	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Apigenin-O-acetyl-pentosyl-hexoside (<i>m/z</i> 605)	x	-	x	x	x	-	x	x	x	-	x	x	x
Chrysoeriol-7-O-malonylapiosylglucoside B (<i>m/z</i> 679)	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coumaroyl derivative (<i>m/z</i> 471)	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Apigenin 7-glucoside (<i>m/z</i> 431)	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

“x” indicates presence of the bioactive compound in the corresponding sample. “-” indicates absence of the bioactive compound in the corresponding sample.

As expected, control samples did not present the compounds found in parsley. Among parsley constituents, only apigenin 7-apiosylglucoside (apiin, m/z 563) and apigenin-O-acetyl-pentosyl-hexoside (m/z 605) were also detected in omelets containing the herb, regardless of the cooking method (Table 5). This indicates the possible thermal degradation of other bioactive compounds from parsley, which were not found in omelets after cooking. Moreover, these two compounds were detected in samples prepared with all levels of herb (Table 5).

Studies have shown the effects of different cooking methods on bioactive compounds present in plant materials (Nayeem, Sundararajan, Ashok, Abusaliya, & Ramalingam, 2021; Wu, Zhao, Haytowitz, Chen, & Pehrsson, 2019). Flavonoids and other compounds found in parsley are sensitive to high temperatures, light and oxygen, so they may degrade during cooking (de Carvalho et al., 2021; Ioannou, Chekir, & Ghoul, 2020).

Degradation is not only in function of the cooking method/condition. The chemical structure of a compound also plays a role in its thermo-stability. A previous study reported that rutin was more stable than quercetin, which was associated with the presence of a glycosyl moiety (da Costa, Barbosa Filho, do Nascimento, and Macêdo, 2002). Ioannou et al. (2020) evaluated the thermal degradation of model flavonoid solutions during heating (130 °C/2 h) and showed that eriodictyol was completely degraded whereas naringin (glycoside) content only decreased by 20%. This may explain why only apigenin 7-apiosylglucoside and apigenin-O-acetyl-pentosyl-hexoside were detected after cooking.

In fact, the degradation of bioactive compounds encompasses complex reactions that may affect the antioxidant potential in different ways. Therefore, further studies must be performed for each compound to better elucidate the mechanisms involved in its thermo-stability and, consequent, thermo-degradation.

In addition to these findings, food systems, such as omelets, present different constituents that may interact with the bioactive compounds in distinct ways (Olszowy-Tomczyk, 2020). Thus, a lower extractability of parsley constituents in omelet samples may also be considered. Indeed, the extractability depends on the bonding of the herb components to the food matrix. Other relevant point regarding the extraction of a compound is its hydrophilicity/lipophilicity that may influence its solubility and extraction (Rajbhar, Dawda, & Mukundan, 2015). Therefore, in complex food matrices, it is worth considering how the interactions formed may affect these parameters. Moreover, since compounds differ in molecular size, polarity, and solubility, each parsley constituent may show a different behavior, which also highlights the importance of future studies on the compounds identified herein.

3.3 Principal component analysis and heatmap

The first two principal components explain 78.2% of the data variability (Dim 1: 59.5 %, Dim 2: 18.7 %) (Fig. 2a and 2b), which adequately explain the variance of experimental data. The heatmap (Fig. 2c) allows the visualization of low (blueness) or high (redness) values of variables for each treatment.

Control samples presented the highest values for cholesterol oxidation indicators such as 25-OH, 7 α -OH, total COPs, and 7-keto compared to samples with parsley. However, it was less prominent in pan-fried samples. On the other hand, samples with 0.25, 0.5 and 0.75% parsley prepared by air frying and pan frying showed higher contents of cholesterol, suggesting the protective effect of the herb against cholesterol degradation (Fig. 2a, 2b, and 2c).

Control samples presented the highest values for cholesterol oxidation indicators such as 25-OH, 7 α -OH, total COPs, and 7-keto compared to samples with parsley. However, it was less prominent in pan-fried samples. On the other hand, samples with 0.25, 0.5 and 0.75%

parsley prepared by air frying and pan frying showed higher contents of cholesterol, suggesting the protective effect of the herb against cholesterol degradation (Fig. 2a, 2b, and 2c).

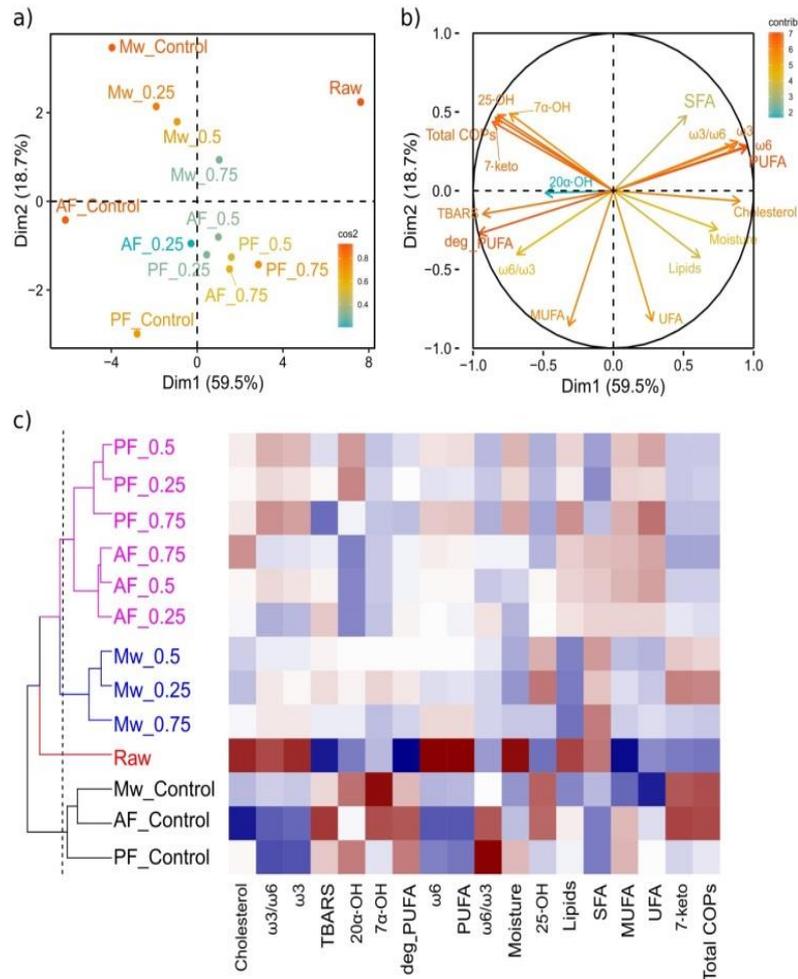


Fig. 2. Multivariate analyses. Principal component analyses for treatments (a) and variables (b). Heatmap (c). AF = air frying; Mw = microwave; PF = pan frying; SFA = saturated fatty acid; MUFA = monounsaturated fatty acid; PUFA = polyunsaturated fatty acid; UFA = unsaturated fatty acid; deg_PUFA = degradation of PUFA. The values 0.25, 0.5, and 0.75 represent the levels of parsley added to omelet samples at each treatment.

Fig. 2c shows four groups formed according to their similarities. All control samples were placed in the same group (in black), which presented low levels of cholesterol, $\omega 3$, and $\omega 6$. These samples also had high total COPs, degradation of PUFAs, 25-OH, and 7 α -OH. Another group (in red) presented just the raw sample indicating its distinct composition (e. g. greatest contents of cholesterol, $\omega 3$, $\omega 6$, and PUFAs, while presenting lower values of PUFAs degradation and total COPs). Finally, two other groups were composed of samples treated with parsley: a blue colored group with the microwaved samples and a pink colored group with pan-fried and air-fried samples.

The distinct groups highlight both the impact of cooking methods on sample composition and the protective effect of parsley against oxidation. This can also be observed by the ample color variation in the heatmap (Fig. 2c) regarding the different types of samples (raw, controls, and samples containing parsley). The addition of parsley resulted in significantly different values for most parameters evaluated in relation to control samples,

indicating the effect of parsley as a natural antioxidant in this study.

4. Conclusions

The UHPLC-ESI-MS analyses detected bioactive compounds such as phenolic acids and their derivatives (*p*-coumaric acid, *p*-coumaric acid 4- O-hexoside, and a coumaroyl derivative), flavonoids (apigenin 7-glucoside, apigenin 7-apiosylglucoside, diosmetin 7-apiosylglucoside, quercetin-O-pentosyl-hexoside, apigenin-O-acetyl-pentosyl-hexoside, and chrysoeriol-7-O-malonylapiosylglucoside B), and organic acids (citric and malic acids), which may explain parsley's antioxidant capacity. Air frying, pan frying, and microwaving induced the oxidation of egg lipids, increasing the content of COPs in omelets. The formation of COPs was more prominent in air-fried and microwaved samples, where the highest internal temperatures were achieved and more extreme processing conditions were used. However, parsley minimized cholesterol oxidation, mainly at 0.75%. In general, the higher the level of parsley the higher the protective effect. Only two bioactive compounds from parsley (apigenin 7-apiosylglucoside and apigenin-O-acetyl-pentosyl-hexoside) were found in cooked omelets containing the herb, indicating the degradation of other parsley constituents and the possible reduction of their extractability in the food matrix. The use of parsley is a promising strategy to minimize lipid and cholesterol oxidation during the preparation of omelets by different cooking methods. However, further studies must be performed to evaluate different levels of addition and sensorial aspects.

Authors' contribution

Vanessa S. de Oliveira undertook almost most of the experimental work presented in this paper. Tatiana Saldanha designed, supervised, and organized the study. Davy W. H. Chávez did the statistical analysis and interpreted the results. Alexandra C. H. F. Sawaya was responsible for the mass spectrometry analyses. Rosane N. Castro contributed with the HPLC-MS-PDA analyses used to confirm the structures of cholesterol and cholesterol oxides. Paula R. F. Paiva helped with the experimental work. Ormino D. Gamallo, Geni R. Sampaio, and Elizabeth A. F. S. Torres supervised and organized the study. Vanessa S. de Oliveira and Tatiana Saldanha predominantly interpreted the results and drafted the manuscript with help from the other authors. All authors revised and approved the final version of the manuscript.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgments

The authors thank the Natl. Brazilian Research Foundations (CAPES) and the São Paulo Research Foundation (FAPESP) Grant 2008/58035-6 for the use of the UHPLC-MS equipment

Appendix A. Supplementary material

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111199>.

References

- Abdalla, M. A., & Ochi, E. B. (2018). Effect of laying hen's age and oviposition time on egg cholesterol contents. *Science Letters*, 6(1), 42–46.
- Afraz, M. T., Khan, M. R., Roobab, U., Noranizan, M. A., Tiwari, B. K., Rashid, M. T., ... Aadil, R. M. (2020). Impact of novel processing techniques on the functional properties of

egg products and derivatives: A review. *Journal of Food Process Engineering*, 43(12), Article e13568. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13568>

Al Juhaimi, F., Uslu, N., & Özcan, M. M. (2017). Oil content and fatty acid composition of eggs cooked in drying oven, microwave and pan. *Journal of Food Science and Technology*, 54(1), 93–97. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2439-x>

ANVISA (Brazilian Health Regulatory Agency) (2004). Resolução – RDC Nº 216, de 15 de setembro de 2004. Regulamento Técnico de Boas Práticas de Serviço de Alimentação. Retrieved from: <https://www.saude.al.gov.br/wp-content/uploads/2020/06/RDC-N%C2%B0-216-ANVISA-Ag%C3%Aancia-Nacional-de-Vigil%C3%A2ncia-Sanit%C3%A1ria.pdf>. Accessed: February 8, 2022.

AOAC. (2006). *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Washington, USA: AOAC International.

Aravind, S. M., Wichienhot, S., Tsao, R., Ramakrishnan, S., & Chakkaravarthi, S. (2021). Role of dietary polyphenols on gut microbiota, their metabolites and health benefits. *Food Research International*, 142, Article 110189. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110189>

Attia, Y. A., Al-Harhi, M. A., Korish, M. A., & Shiboob, M. M. (2015). Fatty acid and cholesterol profiles and hypocholesterolemic, atherogenic, and thrombogenic indices of table eggs in the retail market. *Lipids in Health and Disease*, 14(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12944-015-0133-z>

Badee, A. Z. M., Salama, N. A., & KI, M. A. (2020). Utilization of dried parsley leaves (*Petroselinum crispum*) and their essential oil for extending shelf life of beef burger. *Carpathian Journal of Food Science & Technology*, 12(4). <https://doi.org/10.34302/crpjfst/2020.12.4.5>.

Barriuso, B., Ansorena, D., & Astiasarán, I. (2017). Oxysterols formation: A review of a multifactorial process. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 169, 39–45. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2016.02.027>

Batkowska, J., Drabik, K., Brodacki, A., Czech, A., & Adamczuk, A. (2021). Fatty acids profile, cholesterol level and quality of table eggs from hens fed with the addition of linseed and soybean oil. *Food Chemistry*, 334, Article 127612. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127612>

Bergantin, C., Maietti, A., Cavazzini, A., Pasti, L., Tedeschi, P., Brandolini, V., & Marchetti, N. (2017). Bioaccessibility and HPLC-MS/MS chemical characterization of phenolic antioxidants in Red Chicory (*Cichorium intybus*). *Journal of Functional Foods*, 33, 94–102. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.02.037>

Chien, J. T., Wang, H. C., & Chen, B. H. (1998). Kinetic model of the cholesterol oxidation during heating. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(7), 2572–2577. <https://doi.org/10.1021/jf970788d>

Chudy, S., & Teichert, J. (2021). Oxysterols in stored powders as potential health hazards. *Scientific Reports*, 11(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00636-5>

Cortinas, L., Galobart, J., Barroeta, A. C., Baucells, M. D., & Grashorn, M. A. (2003). Change in a-tocopherol contents, lipid oxidation and fatty acid profile in eggs enriched with linolenic acid or very long-chain o-3 polyunsaturated fatty acids after different processing methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(8), 820–829. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1418>

da Costa, E. M., Barbosa Filho, J. M., do Nascimento, T. G., & Macêdo, R. O. (2002). Thermal characterization of the quercetin and rutin flavonoids. *Thermochimica Acta*, 392, 79–84. [https://doi.org/10.1016/S0040-6031\(02\)00087-4](https://doi.org/10.1016/S0040-6031(02)00087-4).

D’Amelia, V., Aversano, R., Chiaiese, P., & Carputo, D. (2018). The antioxidant properties of plant flavonoids: Their exploitation by molecular plant breeding. *Phytochemistry Reviews*, 17(3), 611–625. <https://doi.org/10.1007/s11101-018-9568-y>

de Carvalho, I. O. A. M., de Oliveira, V. S., Chávez, D. W. H., Gamallo, O. D., Castro, R. N., Sawaya, A. C. H. F., ... Saldanha, T. (2021). The use of lemon juice and its role on polyunsaturated fatty acids and cholesterol oxides formation in thermally prepared sardines. *Journal of Food Composition and Analysis*, *104*, Article 104087. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104087>

de Oliveira, V. S., Chaves, D. W. H., Gamallo, O. D., Sawaya, A. C. H. F., Sampaio, G. R., Castro, R. N., ... Saldanha, T. (2020). Effect of aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) fruit against polyunsaturated fatty acids and cholesterol thermo-oxidation in model systems containing sardine oil (*Sardinella brasiliensis*). *Food Research International*, *132*, Article 109091. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109091>

De Pilli, T., & Alessandrino, O. (2020). Effects of different cooking technologies on biopolymers modifications of cereal-based foods: Impact on nutritional and quality characteristics review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *60*(4), 556–565. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1544884>

Derewiaka, D., & Molínska, E. (2015). Cholesterol transformations during heat treatment. *Food Chemistry*, *171*, 233–240. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.117>

Dobricević, N., Šićić, Z., Labur, J., Voćica, S., Pliješćić, S., Galić, A., Delić, A., & Fabek Uher, S. (2019). Bioactive compounds content and nutritional potential of different parsley parts (*Petroselinum crispum* Mill.). *Journal of Central European Agriculture*, *20*(3), 900–910. <https://doi.org/10.5513/jcea01/20.3.2417>

Dordevic, S., Dordevic, D., Sedlacek, P., Kalina, M., Tesikova, K., Antonic, B., ... Bulakova, M. (2021). Incorporation of Natural Blueberry, Red Grapes and Parsley Extract By-Products into the Production of Chitosan Edible Films. *Polymers*, *13*(19), 3388. <https://doi.org/10.3390/polym13193388>

Douny, C., El Khoury, R., Delmelle, J., Brose, F., Degand, G., Moula, N., ... Scippo, M. L. (2015). Effect of storage and cooking on the fatty acid profile of omega-3 enriched eggs and pork meat marketed in Belgium. *Food Science & Nutrition*, *3*(2), 140–152. <https://doi.org/10.1002/fsn3.197>

Drouin-Chartier, J. P., Chen, S., Li, Y., Schwab, A. L., Stampfer, M. J., Sacks, F. M., ... Bhupathiraju, S. N. (2020). Egg consumption and risk of cardiovascular disease: Three large prospective US cohort studies, systematic review, and updated meta-analysis. *BMJ*, *368*. <https://doi.org/10.1136/bmj.m513>

Embuscado, M. E. (2019). Bioactives from culinary spices and herbs: A review. *Journal of Food Bioactives*, *6*.

Epifanio, N. M. M., Cavalcanti, L. R. I., Dos Santos, K. F., Duarte, P. S. C., Kachlicki, P., O'zarowski, M., ... & de Almeida Chaves, D. S. (2020). Chemical characterization and *in vivo* antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) aqueous extract. *Food & Function*, *11*(6), 5346–5356. <https://doi.org/10.1039/d0fo00484g>.

Ertekin, F. B., Nazli, K., & Guzel, S. Z. B. (2017). Antioxidant activity and phenolic acid content of selected vegetable broths. *Czech Journal of Food Sciences*, *35*(6), 469–475.

Ferreira, F. S., de Oliveira, V. S., Chávez, D. W. H., Chaves, D. S., Riger, C. J., Sawaya, A. C. H. F., ... Saldanha, T. (2022). Bioactive compounds of parsley (*Petroselinum crispum*), chives (*Allium schoenoprasum* L) and their mixture (Brazilian *cheiro-verde*) as promising antioxidant and anti-cholesterol oxidation agents in a food system. *Food Research International*, *151*, Article 110864. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110864>

Ferreira, F. S., Sampaio, G. R., Keller, L. M., Sawaya, A. C., Chávez, D. W., Torres, E. A., & Saldanha, T. (2017). Impact of air frying on cholesterol and fatty acids oxidation in sardines: Protective effects of aromatic herbs. *Journal of Food Science*, *82*(12), 2823–2831. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13967>

Frattani, F. S., Assafim, M., Casanova, L. M., de Souza, J. E., de Almeida Chaves, D. S.,

- Costa, S. S., & Zingali, R. B. (2021). Oral treatment with a chemically characterized parsley (*Petroselinum crispum* var. *neapolitanum* Danert) aqueous extract reduces thrombi formation in rats. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, *11*(3), 287–291. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2020.04.003>
- Godarzi, S. M., Gorji, A. V., Gholizadeh, B., Mard, S. A., & Mansouri, E. (2020). Antioxidant effect of p-coumaric acid on interleukin 1- β and tumor necrosis factor- α in rats with renal ischemic reperfusion. *Nefrologia*, *40*(3), 311–319. <https://doi.org/10.1016/j.nefro.2019.10.003>
- Huynh, D. B. T., Krickmeier, J., & Schnaekkel, W. (2020). Effects of treatment temperatures on redox potential and sensory evaluation of different spices and herbs applied to cooked pork sausages. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *100* (7), 2898–2904. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10316>
- Innosa, D., Ianni, A., Palazzo, F., Martino, F., Bennato, F., Grotta, L., & Martino, G. (2019). High temperature and heating effect on the oxidative stability of dietary cholesterol in different real food systems arising from eggs. *European Food Research and Technology*, *245*(7), 1533–1538. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03266-4>
- Ioannou, I., Chekir, L., & Ghouil, M. (2020). Effect of Heat Treatment and Light Exposure on the Antioxidant Activity of Flavonoids. *Processes*, *8*(9), 1078. <https://doi.org/10.3390/pr8091078>
- Jadczak, D., Bojko, K., Wysocka, G., & Szymanska, M. (2019). Yield and biological properties of leaf parsley (*Petroselinum crispum* (Mill.) Nym. Ex AW Hillc Convar. *crispum*). *Journal of Elementology*, *24*(2). <https://doi.org/10.5601/jelem.2018.23.4.1697>
- Janković, S., Mitić, M., Arsić, B., & Stankov-Jovanović, V. (2021). The kinetic and thermodynamic studies of solid-liquid extraction of apigenin-glycosides from parsley (*Petroselinum crispum*). *Separation Science and Technology*, *56*(13), 2253–2265. <https://doi.org/10.1080/01496395.2020.1821219>
- Kaiser, A., Carle, R., & Kammerer, D. R. (2013). Effects of blanching on polyphenol stability of innovative paste-like parsley (*Petroselinum crispum* (Mill.) Nym ex AW Hill) and marjoram (*Origanum majorana* L.) products. *Food Chemistry*, *138*(2–3), 1648–1656. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.063>
- Kelly, A. L., & vo Kientza, H. T. (2021). Microwave Heating and Modern Cuisine. In *Handbook of Molecular Gastronomy* (pp. 429-432). CRC Press.
- Kloudova-Spalenkova, A., Ueng, Y. F., Wei, S., Kopeckova, K., Guengerich, F. P., & Soucek, P. (2020). Plasma oxysterol levels in luminal subtype breast cancer patients are associated with clinical data. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, *197*, Article 105566. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2019.105566>
- Lengyel, J., Rimarčík, J., Vagánek, A., Fedor, J., Lukeš, V., & Klein, E. (2012). Oxidation of sterols: Energetics of C-H and O-H bond cleavage. *Food Chemistry*, *133*(4), 1435–1440. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.031>
- Liu, Y., Yang, X., Xiao, F., Jie, F., Zhang, Q., Liu, Y., ... Lu, B. (2022). Dietary cholesterol oxidation products: Perspectives linking food processing and storage with health implications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *21*(1), 738–779. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12880>
- Ma, Z., Wu, W., Zhang, D., Wu, P., Guo, Y., Li, D., & Yang, F. (2022). Daily intake of up to two eggs for 11 weeks does not affect the cholesterol balance of Chinese young adults. *Food Science & Nutrition*. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2734>
- Marventano, S., Godos, J., Tieri, M., Ghelfi, F., Titta, L., Lafranconi, A., ... Grosso, G. (2020). Egg consumption and human health: An umbrella review of observational studies. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, *71*(3), 325–331. <https://doi.org/10.1080/09637486.2019.1648388>

- Mazalli, M. R., & Bragagnolo, N. (2009). Increase of cholesterol oxidation and decrease of PUFA as a result of thermal processing and storage in eggs enriched with n-3 fatty acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(11), 5028–5034. <https://doi.org/10.1021/jf901187j>
- Mazzucotelli, C. A., Gonz'alez-Aguilar, G. A., Villegas-Ochoa, M. A., Dom'inguez- Avila, A. J., Ansorena, M. R., & Di Scala, K. C. (2018). Chemical characterization and functional properties of selected leafy vegetables for innovative mixed salads. *Journal of Food Biochemistry*, 42(1), Article e12461. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12461>
- Miller, H. E. (1971). A simplified method for the evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 48, 91. <https://doi.org/10.1007/BF02635693>
- Minda, D., Avram, S., Pavel, I. Z., Kis, B., Ghitu, A., Zupk' o, I., ... Danicu, C. (2020). An *in vitro* evaluation of apigenin and apigenin-7-o-glucoside against hela human cervical cancer cell line. *Revista de Chimie*, 71(2), 140–144. <https://doi.org/10.37358/RC.20.2.7906>
- Morris, S. S., Beesabathuni, K., & Headey, D. (2018). An egg for everyone: Pathways to universal access to one of nature's most nutritious foods. *Maternal & Child Nutrition*, 14, Article e12679. <https://doi.org/10.1111/mcn.12679>
- Murcia, M. A., Mart'inez-Tom'e, M., Cerro, I. D., Sotillo, F., & Ram'irez, A. (1999). Proximate composition and vitamin E levels in egg yolk: Losses by cooking in a microwave oven. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(12), 1550–1556. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)10970010\(199909\)79:12<1550::AIDJSFA402>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/(SICI)10970010(199909)79:12<1550::AIDJSFA402>3.0.CO;2-3)
- Nayeem, S., Sundararajan, S., Ashok, A. K., Abusaliya, A., & Ramalingam, S. (2021). Effects of cooking on phytochemical and antioxidant properties of pigmented and non-pigmented rare Indian rice landraces. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 32, Article 101928. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.101928>
- Nury, T., Zarrouk, A., Yammine, A., Mackrill, J. J., Vejux, A., & Lizard, G. (2021). Oxiaoptophagy: A type of cell death induced by some oxysterols. *British Journal of Pharmacology*, 178(16), 3115–3123. <https://doi.org/10.1111/bph.15173>
- Olszowy-Tomczyk, M. (2020). Synergistic, antagonistic and additive antioxidant effects in the binary mixtures. *Phytochemistry Reviews*, 19(1), 1–41. <https://doi.org/10.1007/s11101-019-09658-4>
- Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4619–4626.
- Panaite, T. D., Nour, V., Saracila, M., Turcu, R. P., Untea, A. E., & Vlaicu, P. A. (2021). Effects of Linseed Meal and Carotenoids from Different Sources on Egg Characteristics, Yolk Fatty Acid and Carotenoid Profile and Lipid Peroxidation. *Foods*, 10(6), 1246. <https://doi.org/10.3390/foods10061246>
- Pontifex, M. G., Malik, M. M., Connell, E., M'uller, M., & Vauzour, D. (2021). Citrus polyphenols in brain health and disease: Current perspectives. *Frontiers in Neuroscience*, 15, 115. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.640648>
- Prochazková, D., Bousová, I., & Wilhelmová, N. (2011). Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*, 82(4), 513–523. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2011.01.018>
- Rajbhar, K., Dawda, H., & Mukundan, U. (2015). Polyphenols: Methods of extraction. *Scientific Reviews & Chemical Communications*, 5(1), 1–6.
- R'ehault-Godbert, S., Guyot, N., & Nys, Y. (2019). The golden egg: Nutritional value, bioactivities, and emerging benefits for human health. *Nutrients*, 11(3), 684.
- Ren, Y., Perez, T. I., Zuidhof, M. J., Renema, R. A., & Wu, J. (2013). Oxidative stability of omega-3 polyunsaturated fatty acids enriched eggs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(47), 11595–11602. <https://doi.org/10.1021/jf403039m>

- Rufino, M. S. M., Alves, R. E., de Brito, E. S., Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F., & Mancini-Filho, J. (2010). Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 nontraditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, *121*(4), 996-1002. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.037>.
- Saldanha, T., Sawaya, A. C. H. F., Eberlin, M. N., & Bragagnolo, N. (2006). HPLC separation and determination of 12 cholesterol oxidation products in fish: Comparative study of RI, UV, and APCI-MS detectors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*(12), 4107–4113. <https://doi.org/10.1021/jf0532009>
- Sass, C. A. B., Pimentel, T. C., Aleixo, M. G. B., Dantas, T. M., Cyrino Oliveira, F. L., de Freitas, M. Q., ... Esmerino, E. A. (2020). Exploring social media data to understand consumers' perception of eggs: A multilingual study using Twitter. *Journal of Sensory Studies*, *35*(6), Article e12607. <https://doi.org/10.1111/joss.12607>
- Scapin, G., Schmidt, M. M., Prestes, R. C., & Rosa, C. S. (2016). Phenolics compounds, flavonoids and antioxidant activity of chia seed extracts (*Salvia hispanica*) obtained by different extraction conditions. *International Food Research Journal*, *23*(6), 2341.
- Sęczyk, Ł., Świeca, M., Gawlik-Dziki, U., Luty, M., & Czyż, J. (2016). Effect of fortification with parsley (*Petroselinum crispum* Mill.) leaves on the nutraceutical and nutritional quality of wheat pasta. *Food Chemistry*, *190*, 419–428. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.110>
- Sharifi-Rad, J., Rodrigues, C. F., Sharopov, F., Docea, A. O., Can Karaca, A., Sharifi-Rad, M., ... Calina, D. (2020). Diet, lifestyle and cardiovascular diseases: Linking pathophysiology to cardioprotective effects of natural bioactive compounds. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *17*(7), 2326. <https://doi.org/10.3390/ijerph17072326>
- Slimestad, R., Fossen, T., & Brede, C. (2020). Flavonoids and other phenolics in herbs commonly used in Norwegian commercial kitchens. *Food Chemistry*, *309*, Article 125678. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125678>
- Smith, L. L. (1987). Cholesterol autoxidation 1981–1986. *Chemistry and Physics of Lipids*, *44*(2–4), 87–125. [https://doi.org/10.1016/0009-3084\(87\)90046-6](https://doi.org/10.1016/0009-3084(87)90046-6)
- Su, Y., Chen, Z., Li, J., Chang, C., Gu, L., & Yang, Y. (2021). Characterization of salted egg yolk flavoring prepared by enzyme hydrolysis and microwave irradiation. *Food Chemistry*, *338*, Article 127913. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127913>
- Swain, T., & Hillis, W. E. (1959). The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I.— The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *10*(1), 63–68. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740100110>.
- Tang, D., Wang, R., He, X., Chen, X., Huo, X., Lü, X., & Shan, Y. (2021). Comparison of the edible quality of liquid egg with different cooking methods and their antioxidant activity after in vitro digestion. *Food Research International*, *140*, Article 110013. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.110013>
- Tiveron, A. P., Melo, P. S., Bergamaschi, K. B., Vieira, T. M., Regitano-d'Arce, M. A., & Alencar, S. M. (2012). Antioxidant activity of Brazilian vegetables and its relation with phenolic composition. *International Journal of Molecular Sciences*, *13*(7), 8943–8957. <https://doi.org/10.3390/ijms13078943>
- Verardo, V., Messia, M. C., Marconi, E., & Caboni, M. F. (2020). Effect of Different Egg Products on Lipid Oxidation of Biscuits. *Foods*, *9*(11), 1714. <https://doi.org/10.3390/foods9111714>
- Wu, X., Zhao, Y., Haytowitz, D. B., Chen, P., & Pehrsson, P. R. (2019). Effects of domestic cooking on flavonoids in broccoli and calculation of retention factors. *Heliyon*, *5*(3), Article e01310. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01310>
- Xiao, N., Zhao, Y., Yao, Y., Wu, N., Xu, M., Du, H., & Tu, Y. (2020). Biological activities of

- egg yolk lipids: A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(7), 1948–1957. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b06616>
- Yang, B., Liu, H., Yang, J., Gupta, V. K., & Jiang, Y. (2018). New insights on bioactivities and biosynthesis of flavonoid glycosides. *Trends in Food Science & Technology*, 79, 116–124. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.006>
- Zaghi, A. N., Barbalho, S. M., Guiguer, E. L., & Otoboni, A. M. (2019). Frying process: From conventional to air frying technology. *Food Reviews International*, 35(8), 763–777. <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1600541>
- Zardetto, S., Barbanti, D., & Dalla Rosa, M. (2014). Formation of cholesterol oxidation products (COPs) and loss of cholesterol in fresh egg pasta as a function of thermal treatment processing. *Food Research International*, 62, 177–182. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.02.028>
- Zeb, A. (2021). Phenolic Antioxidants in Herbs and Spices. In *Phenolic Antioxidants in Foods: Chemistry, Biochemistry and Analysis* (pp. 225–238). Cham: Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-74768-8_8
- Zhu, X., Svendsen, C., Jaepelt, K. B., Moughan, P. J., & Rutherford, S. M. (2011). A comparison of selected methods for determining eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in cereal-based foods. *Food Chemistry*, 125(4), 1320–1327. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.105>