



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS, SOCIAIS E AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA
AGROALIMENTAR**

**INCORPORAÇÃO DE EXTRATO DE RESÍDUO
AGROINDUSTRIAL DE ACEROLA EM EMBALAGEM
BIODEGRADÁVEL E SEU EFEITO SOBRE A
QUALIDADE DE HAMBÚRGUER BOVINO**

Edilayne da Nóbrega Santos

Bacharela em Engenharia de Alimentos

Bananeiras, 2020



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS, SOCIAIS E AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA
AGROALIMENTAR**

**INCORPORAÇÃO DE EXTRATO DE RESÍDUO
AGROINDUSTRIAL DE ACEROLA EM EMBALAGEM
BIODEGRADÁVEL E SEU EFEITO SOBRE A
QUALIDADE DE HAMBÚRGUER BOVINO**

Edilayne da Nóbrega Santos

Orientador: Prof. Dr. Fábio Anderson Pereira da Silva

Co-orientadora: Dra. Valquíria Cardoso da Silva Ferreira

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Agroalimentar da UFPB, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Tecnologia Agroalimentar.

Bananeiras, 2020

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S237i Santos, Edilayne da Nóbrega.

Incorporação de extrato de resíduo agroindustrial de acerola em embalagem biodegradável e seu efeito sobre a qualidade de hambúrguer bovino / Edilayne da Nóbrega Santos. - Bananeiras, 2020.

100 f. : il.

Orientação: Fábio Anderson Pereira da Silva.

Coorientação: Valquíria Cardoso da Silva Ferreira.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCHSA.

1. Antioxidantes Naturais. 2. Otimização. 3. Filme Biodegradável. 4. Malpighia emarginata. 5. Oxidação Lipídica. 6. Oxidação Proteica. I. Silva, Fábio Anderson Pereira da. II. Ferreira, Valquíria Cardoso da Silva. III. Título.

UFPB/BC

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS, SOCIAIS E AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA AGROALIMENTAR

PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

TÍTULO: Incorporação de extrato de residuo agroindustrial de acerola em embalagem biodegradável e seu efeito sobre a qualidade de hambúrguer bovino

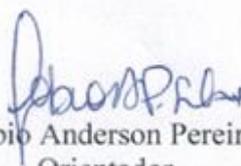
AUTOR: Edilayne da Nóbrega Santos

ORIENTADOR: Prof. Dr. Fábio Anderson Pereira da Silva

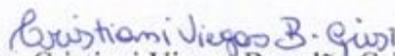
JULGAMENTO

CONCEITO: APROVADO

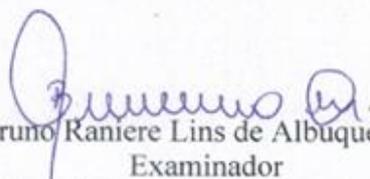
EXAMINADORES:



Prof. Dr. Fábio Anderson Pereira da Silva
Orientador
Universidade Federal da Paraíba/UFPB



Prof. Dra. Cristiani Viegas Brandão Grisi
Examinadora
Universidade Federal da Paraíba/UFPB



Prof. Dr. Bruno Raniere Lins de Albuquerque Meireles
Examinador
Universidade Federal de Campina Grande/UFCG

Bananeiras, 28 de fevereiro de 2020

***Aos meus pais, Edileusa Nóbrega e José
Duda, aos meus irmãos e sobrinhos,
DEDICO!***

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida e por sempre ter me sustentado, guiado e me fortalecido, principalmente quando eu pensava que não ia conseguir.

Aos meus pais, Edileusa Nóbrega e José Duda, pelo incentivo, apoio e amor incondicional, minhas irmãs Edizeuda, Edilaneuda, Ediliane, Elidayane, meu irmão José Mário e aos meus sobrinhos por todo apoio e compreensão.

Ao meu orientador, Dr. Fábio Anderson por todo ensinamento, compreensão, paciência, apoio e por sempre estar presente, me orientando de verdade. Sei que os puxões de orelha foram para o meu crescimento e aprendi muito com eles. Muito obrigada por tudo!

A minha co-orientadora, Valquiria Cardoso por toda ajuda durante o mestrado, pela paciência e compreensão. Seu apoio foi fundamental para que tudo desse certo.

A Dra. Cristiani Grisi pelas valiosas contribuições na qualificação e defesa. Grata por tudo!

Ao professor Dr. Bruno Meireles e a Dra. Angela Tribuzy pela parceria no LACOM. Agradeço também ao Dr. Bruno pelas contribuições na defesa.

A coordenadora do PPGTA Solange de Sousa e o vice coordenador Leonardo Augusto pelo apoio sempre que necessário.

Ao secretário do PPGTA, Girleno Viana, aos técnicos de laboratório da UFPB, em especial a José Evangelista e Natasha Diniz pela ajuda durante o experimento.

A Romário Oliveira pela parceria firmada no mestrado. Agradeço pela amizade e apoio!

A minha turma do mestrado, João Vitor Fonseca, Gilmar Freire, Diógenes Gomes, Thamirys Lima, Léo Coutinho e Zayama Santana. Muito obrigada pela convivência harmônica que tivemos durante o mestrado. Vocês são incríveis!

A Diógenes Gomes e Thamirys Lima pela ajuda com as análises no laboratório! Muito obrigada!

A Gilmar Freire, que muito me ajudou durante o mestrado, principalmente no laboratório. Agradeço pela amizade e parceria!

Agradeço especialmente ao meu amigo João Vitor que esteve comigo desde a seleção até a conclusão do mestrado, me apoiando sempre que necessário. Muito obrigada! Torço muito por você!

Agradeço a Deocleciano Santana Neto e Thamyres César pela ajuda no laboratório. Vocês me ajudaram demais! Torço muito pelo sucesso de cada um! Muito obrigada!

A CAPES pela concessão da bolsa.

Agradeço de todo coração, aos que de alguma forma, me ajudaram nesta etapa tão marcante de minha vida!

Muito obrigada!!!

INFORMAÇÕES CURRICULARES DO AUTOR

Eu, Edilayne da Nóbrega Santos, brasileira, solteira, portadora do RG: 3.703.928 SSSD/PB, natural da cidade de São Mamede-PB e nascida em 22 de maio de 1992. Sou graduada em Engenharia de Alimentos pelo Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar da Universidade Federal de Campina Grande (CCTA/UFCG – Campus de Pombal-PB). Participei de projetos de extensão na graduação, trabalhando com os projetos intitulados: Rotulagem de alimentos: Transferência de conhecimentos e ações (2017); Transferência de conhecimento no aproveitamento de resíduos para assentados produtores de polpa de fruta do município de Pombal - PB (2016) e Estudo de layout e capacitação sobre processamento de polpa de fruta e boas práticas de manipulação de alimentos na Associação Comunitária Rural de Riacho dos Currais (2016). Fui monitora das disciplinas de Controle de Qualidade na Indústria de Alimentos (2016.1 e 2016.2) e Instalações Industriais e Refrigeração (2017.1). Participei da Empresa Júnior de Alimentos - CONSUALI (2016-2017), com o cargo de diretora de eventos. Fui estagiária voluntária do Laboratório de Tecnologia de Grãos e Cereais – LTGC (2016.2 – 2017.2). Fiz estágio não obrigatório na Empresa de Temperos Pilão, localizada em Pau dos Ferros-RN (80 horas). Atuo na área de Ciência e Tecnologia de Alimentos, com destaque para os seguintes temas: análises físico-químicas e sensoriais, controle de qualidade e rotulagem de alimentos, aproveitamento de resíduos agroindustriais, extração e avaliação de compostos bioativos, desenvolvimento de filmes biodegradáveis, elaboração de produtos cárneos e avaliação de reações oxidativas em carnes e derivados.

INCORPORAÇÃO DE EXTRATO DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE ACEROLA EM EMBALAGEM BIODEGRADÁVEL E SEU EFEITO SOBRE A QUALIDADE DE HAMBÚRGUER BOVINO

RESUMO GERAL - A oxidação lipídica e proteica em carnes e derivados provoca impacto negativo na qualidade do produto e na saúde do consumidor. Com isso, a indústria de alimentos faz uso de antioxidantes sintéticos, os quais são efetivos, mas têm sido associados ao aparecimento de doenças carcinogênicas. Desta forma, diversos estudos tem sido desenvolvidos no intuito de avaliar a viabilidade da extração e incorporação dos antioxidantes naturais em produtos cárneos. Neste trabalho, objetivou-se otimizar a extração e avaliar o efeito da incorporação do extrato do resíduo agroindustrial da acerola (ERA) em filme biodegradável à base de gelatina sobre a qualidade de hambúrguer bovino. As condições ótimas para extração dos compostos com potencial antioxidante do resíduo da acerola foram determinadas utilizando-se um delineamento central composto rotacional (DCCR). A partir do extrato obtido nas condições otimizadas, realizou-se a quantificação dos flavonoides e antocianinas totais, taninos totais e taninos condensados, compostos fenólicos totais, perfil de fenólicos, atividade antioxidante e antimicrobiana do extrato do resíduo da acerola. Na segunda etapa do estudo, foram elaborados 4 filmes ativos a base de gelatina: EF (filme de gelatina sem ERA), AF2 (filme de gelatina com 2% de ERA), AF4 (filme de gelatina com 4% de ERA) e AF6 (filme de gelatina com 6% de ERA). O filme plástico comercial de PVC foi utilizado como controle (PF). Foram determinadas as características físicas e as propriedades de barreira dos filmes. Realizaram-se determinações físicas, físico-químicas e de oxidação lipídica e proteica nos hambúrgueres. As condições ótimas de extração foram obtidas utilizando 34% de etanol, a 20 °C por 110 min. A caracterização do extrato nas condições ótimas revelou alta concentração de compostos bioativos com elevada atividade antioxidante. O perfil fenólico do extrato mostrou a presença de 16 compostos fenólicos, destacando-se o ácido protocatecuico, ácido gentístico e o ácido salicílico, além dos flavonoides catequina e rutina. O filme à base de gelatina com e sem extrato apresentou boas propriedades físicas e de barreira. A aplicação do filme ativo a base de gelatina influenciou nas características de qualidade dos hambúrgueres, onde a concentração de 4% do extrato no filme proporcionou a manutenção da cor vermelha do produto e apresentou maior efetividade contra a oxidação lipídica e proteica dos hambúrgueres durante o armazenamento congelado, com redução de 23,58 e 60,14% na formação de malonaldeído e de compostos carbonílicos totais, respectivamente, em relação ao tratamento controle. Portanto, o filme ativo à base de gelatina e extrato de resíduo da acerola é uma alternativa promissora para prolongar a vida de prateleira de hambúrgueres armazenados sob congelamento.

PALAVRAS-CHAVE: Antioxidantes naturais, otimização, filme biodegradável, *Malpighia emarginata*, oxidação lipídica, oxidação proteica.

INCORPORATION OF AGROINDUSTRIAL WASTE EXTRACT FROM ACEROLA IN BIODEGRADABLE PACKAGING AND ITS EFFECT ON THE QUALITY OF BOVINE HAMBURGER

GENERAL ABSTRACT - Lipid and protein oxidation in meat and meat products harms product quality and consumer health. With this, the food industry makes use of synthetic antioxidants, which are effective but have been associated with the appearance of carcinogenic diseases. Thus, several studies have been developed to assess the feasibility of extracting and incorporating natural antioxidants in meat products. In this work, the objective was to optimize the extraction and evaluate the effect of incorporating the extract of the acerola agro-industrial residue (ERA) in a gelatin-based biodegradable film on the quality of beef hamburger. The optimal conditions for extracting compounds with antioxidant potential from the acerola residue were determined using a central rotational composite design (DCCR). From the extract obtained in the optimized conditions, the quantification of total flavonoids and anthocyanins, total tannins and condensed tannins, total phenolic compounds, phenolic profile, antioxidant and antimicrobial activity of the extract of the acerola residue was performed. In the second stage of the study, 4 active gelatin-based films were made: EF (gelatin film without ERA), AF2 (gelatin film with 2% ERA), AF4 (gelatin film with 4% ERA) and AF6 (gelatin film with 6% ERA). The commercial PVC plastic film was used as a control (PF). The physical characteristics and barrier properties of the films were determined. Physical, physical-chemical, and lipid and protein oxidation determinations were performed on hamburgers. Optimum extraction conditions were obtained using 34% ethanol, at 20 ° C for 110 min. The characterization of the extract in optimal conditions revealed a high concentration of bioactive compounds with high antioxidant activity. The phenolic profile of the extract showed the presence of 16 phenolic compounds, especially protocatechuic acid, gentistic acid, and salicylic acid, in addition to catechin and rutin flavonoids. The gelatin-based film with and without extract showed good physical and barrier properties. The application of the gelatin-based active film influenced the quality characteristics of the hamburgers, where the concentration of 4% of the extract in the film provided the maintenance of the red color of the product and showed greater effectiveness against the lipid and protein oxidation of the hamburgers during storage. frozen, with a reduction of 23.58 and 60.14% in the formation of malonaldehyde and total carbonyl compounds, respectively, compared to the control treatment. Therefore, the gelatin-based active film and acerola residue extract is a promising alternative to prolong the shelf life of hamburgers stored under freezing.

KEYWORDS: Natural antioxidants, optimization, Biodegradable film, *Malpighia emarginata*, lipid oxidation, protein oxidation.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- %M.S:** Percentagem de matéria seca da amostra
- %TC:** Percentagem de taninos condensados
- µg:** Micrograma
- ANOVA:** Análise de Variância
- BSA:** albumina sérica bovina
- DC:** dienos conjugados
- DCCR:** Delineamento Composto Central Rotacional
- DNPH:** 2,4-Dinitrofenilhidrazina
- DPPH:** 2,2-difenil-1-picri-hidrazil
- ERA:** Extrato do Resíduo da Acerola
- FAO:** Food and Agriculture Organization of the United Nations
- FTIR:** Infravermelho Médio por Transformada de Fourier
- HCL:** Ácido Clorídrico
- HPLC:** Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
- IUPAC:** International Union of Pure and Applied Chemistry
- LCEAA:** Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Absorção Atômica
- m/v:** massa/volume
- mbar:** milibar
- MDA:** Malonaldeído
- Mf:** Peso final
- mg:** Miligrama
- mgEAG:** Miligramas de Equivalente em Ácido Gálico
- mgEAT:** Miligrama de Equivalente Ácido Tânico
- Mi:** Peso inicial
- nm:** nanômetro
- PA:** Porcentagem de Alongamento
- pH:** Potencial Hidrogeniônico
- PVA:** Permeabilidade ao Vapor de Água
- RT:** Resistência à Tração
- TBA:** Ácido 2-tiobarbitúrico
- TE:** Equivalentes de Trolox
- TEP:** Padrão de Tetraetoxipropano

Trolox: ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico

v/v: volume/volume

ΔE : variação total de cor

$\mu\text{g TE/mg}$: Microgramas de equivalentes de Trolox por miligramas de amostra

μL : microlitro

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais

Figura 1. Esquema do processo de oxidação lipídica. 4

Figura 2. Esquema da influência do processamento da carne sobre a oxidação de proteínas e possíveis implicações na saúde humana. 6

Figura 3. Esquematização das consequências da oxidação lipídica e proteica sobre as características sensoriais, nutricionais e tecnológicas do produto e sobre a saúde do consumidor. 7

CAPÍTULO 2 – Otimização da extração e avaliação das propriedades bioativas do extrato do resíduo agroindustrial de *Malpighia emarginata*

Figura 1. Fluxograma do processo de otimização do ERA..... 23

Figura 2. Gráfico de Pareto do teor de Compostos Fenólicos (2A), Atividade Antioxidante (2B) e Rendimento de Extração (2C)..... 30

Figura 3. Resultado dos valores preditos e desejabilidade para o conteúdo de compostos fenólicos, atividade antioxidante e rendimento de extração do extrato do ERA..... 36

CAPÍTULO 3 – Filme ativo à base de gelatina e extrato do resíduo de *Malpighia emarginata* para inibir a oxidação lipídica e proteica em hambúrguer bovino

Figura 1. Espectros de FTIR dos filmes à base de gelatina sem e incorporado com extrato do resíduo de acerola. 61

Figura 2. Efeito do armazenamento congelado sobre a variação total de cor (ΔE) dos hambúrgueres com filme comercial (PF), filme de gelatina sem extrato (EF) e filme adicionado de 2 (AF2), 4 (AF4) e 6% (AF6) de extrato do resíduo de *Malpighia emarginata*. 66

Figura 3. Efeito do armazenamento congelado sobre o pH dos hambúrgueres com filme comercial (PF), filme de gelatina sem extrato (EF) e filme adicionado de 2 (AF2), 4 (AF4) e 6% (AF6) de extrato do resíduo de *Malphigia emarginata*.
..... 68

Figura 4. Efeito do armazenamento congelado sobre a perda de peso dos hambúrgueres com filme comercial (PF), filme de gelatina sem extrato (EF) e filme adicionado de 2 (AF2), 4 (AF4) e 6% (AF6) de extrato do resíduo de *Malphigia emarginata*.
..... 69

Figura 5. Resultado de dienos conjugados dos hambúrgueres com filme comercial (PF), filme de gelatina sem extrato (EF) e filme adicionado de 2 (AF2), 4 (AF4) e 6% (AF6) de extrato do resíduo de *Malphigia emarginata* durante o armazenamento congelado.
..... 70

Figura 6. Resultado de TBA-RS dos hambúrgueres com filme comercial (PF), filme de gelatina sem extrato (EF) e filme adicionado de 2 (AF2), 4 (AF4) e 6% (AF6) de extrato do resíduo de *Malphigia emarginata* durante o armazenamento congelado.
..... 72

Figura 7. Resultado de compostos carbonílicos totais (CCT) dos hambúrgueres com filme comercial (PF), filme de gelatina sem extrato (EF) e filme adicionado de 2 (AF2), 4 (AF4) e 6% (AF6) de extrato do resíduo de *Malphigia emarginata* durante o armazenamento congelado.
..... 73

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais

Tabela 1. Exemplos de aplicação de extratos naturais em carne e derivados.. 9

CAPÍTULO 2 – Otimização da extração e avaliação das propriedades bioativas do extrato do resíduo agroindustrial de *Malpighia emarginata*

Tabela 1. Variáveis independentes e níveis do planejamento DCCR, para extração de compostos com potencial antioxidante do resíduo da acerola. 24

Tabela 2. Níveis e resultados das variáveis respostas do planejamento fatorial 2^3+3 repetições do ponto central configuração estrela (2x3) para obtenção de extrato do resíduo da acerola..... 28

Tabela 3. Resultado da quantificação dos compostos bioativos do ERA otimizado..... 37

Tabela 4. Perfil fenólico dos principais compostos presentes no ERA. 39

Tabela 5. Resultado da atividade antimicrobiana pelo teste de difusão em disco do ERA..... 422

CAPÍTULO 3 – Filme ativo à base de gelatina e extrato do resíduo de *Malpighia emarginata* para inibir a oxidação lipídica e proteica em hambúrguer bovino

Tabela 1. Resultado das análises físicas e mecânicas dos filmes de gelatina. 58

Tabela 2. Resultado da colorimetria dos filmes de gelatina..... 60

Tabela 3. Efeito do armazenamento congelado sobre as coordenadas de cor (L^* , a^* , b^* , hue^* e razão de a^*/b^*) dos hambúrgueres com filme comercial (PF), filme de gelatina sem extrato (EF) e filme adicionado de 2 (AF2), 4 (AF4) e 6% (AF6) de ERA..... 62

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	4
2.1 Oxidação lipídica e proteica em carnes e derivados	4
2.2 Antioxidantes naturais	8
2.2.1 Resíduo agroindustrial da acerola.....	10
2.3 Embalagem biodegradável e ativa	11
3 REFERÊNCIAS.....	13
CAPÍTULO 2 – Otimização da extração e avaliação das propriedades bioativas do extrato do resíduo agroindustrial de <i>Malpighia emarginata</i> . 20	
1 INTRODUÇÃO	21
2 MATERIAL E MÉTODOS	22
2.1. Coleta dos frutos	22
2.2. Obtenção do Extrato do Resíduo da Acerola	23
2.3 Caracterização do Extrato do Resíduo da Acerola (ERA) otimizado	24
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
3.1 Otimização da extração dos compostos antioxidantes	28
3.2 Validação do modelo matemático	35
3.3 Compostos bioativos e perfil fenólico do extrato otimizado.....	37
Atividade antimicrobiana do ERA.....	41
4 CONCLUSÕES	42
5 REFERÊNCIAS.....	43
CAPÍTULO 3 – Filme ativo à base de gelatina e extrato do resíduo de <i>Malpighia emarginata</i> para inibir a oxidação lipídica e proteica em hambúrguer bovino	49
1 INTRODUÇÃO	50
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	51
2.1 Obtenção do resíduo e preparo do extrato	51
2.2 Preparação do filme ativo a base de gelatina incorporado com ERA	52
2.3 Caracterização dos filmes.....	53
2.3.1 Espessura	53
2.3.2 Propriedades mecânicas.....	53
2.3.3 Solubilidade em água.....	53
2.3.4 Permeabilidade ao vapor de água – PVA	54

2.3.5 Determinação da cor e opacidade	54
2.3.6 Análise de espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	55
2.4 Processamento dos hambúrgueres e aplicação dos filmes	55
2.5 Determinação da cor instrumental dos hambúrgueres.....	55
2.6 Determinação de perda de peso por centrifugação	56
2.7 Determinação do pH dos hambúrgueres	56
2.8 Medição das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS) dos hambúrgueres.....	56
2.9 Determinação dos dienos conjugados dos hambúrgueres	57
2.10 Quantificação dos compostos carbonílicos totais dos hambúrgueres...	57
2.11 Análise estatística	57
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57
3.1 Caracterização dos filmes.....	58
3.2 Efeito do armazenamento sobre os parâmetros de cor dos hambúrgueres	62
3.3 Efeito do armazenamento sobre o pH dos hambúrgueres.....	67
3.4 Perda de peso dos hambúrgueres por centrifugação	68
3.5 Estabilidade oxidativa dos hambúrgueres durante o armazenamento congelado (-18 °C).....	69
4 CONCLUSÕES	75
5 REFERÊNCIAS.....	76

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1 INTRODUÇÃO

A indústria alimentícia tem buscado por alternativas para solucionar questões que coloquem em risco a qualidade e segurança dos alimentos. Os principais problemas de qualidade dos alimentos podem surgir durante o processamento ou armazenamento dos produtos, resultando em alterações nas características sensoriais, redução de valor nutricional e decomposição por microrganismos (Lorenzo et al., 2014).

A carne e os produtos derivados são susceptíveis a deterioração por oxidação lipídica devido à presença dos ácidos graxos insaturados em sua constituição (Domínguez et al., 2018). A degradação por oxidação em carnes tem como resultado mudanças indesejáveis de cor e sabor, perda de água e nutrientes, além da produção de compostos tóxicos (Contini et al., 2014).

O uso de aditivos sintéticos como o hidroxilanisol butilado (BHA) e o hidroxitolueno butilado (BHT) é frequente no setor alimentício, porém, esses produtos têm sido relacionados ao aparecimento de doenças carcinogênicas (Kamemura, 2018; Yang et al., 2018). Com o intuito de oferecer fontes alternativas de conservantes para a indústria da carne, pesquisas têm destacado a viabilidade da aplicação de extratos vegetais na conservação de carnes e seus derivados, visando substituir os aditivos sintéticos (Shah et al., 2014; El-Nashi et al., 2015; Lorenzo et al., 2017).

Os subprodutos oriundos do processamento de frutas tais como sementes, grãos e bagaço, frequentemente descartados, estão sendo cada vez mais estudados, pois apresentam substâncias com propriedades interessantes para a indústria de alimentos (Rezende et al., 2017; Gullón et al., 2018; Silva et al., 2019; Martínez-patiño et al., 2019). Os compostos bioativos detectados nos resíduos do fruto e a preocupação por tecnologias ambientalmente corretas justificam o crescente interesse por resíduos oriundos do processamento de frutas e vegetais (Willersinn et al., 2017).

A acerola (*Malpighia emarginata*) é uma fruta bastante cultivada no Brasil (Malegori et al., 2017) e devido à sua alta perecibilidade, é rapidamente processada e comercializada na forma de polpa e suco clarificado, além de

exportada como fruta congelada (Belwal et al., 2018). Ao final do processamento, até 40% de resíduos são gerados, os quais são frequentemente descartados (Nogueira et al., 2019). Este subproduto do despulpamento da acerola possui elevadas concentrações de compostos bioativos (antocianinas, flavonoides, carotenoides, ácidos fenólicos) e a extração dessas substâncias poderia aumentar o valor comercial da matéria-prima e o rendimento no processamento da acerola, além de minimizar o impacto ambiental pela redução do descarte inadequado (Rezende et al., 2017).

Polímeros biodegradáveis contendo substâncias bioativas apresentam propriedades desejáveis e têm forte potencial para aplicação na indústria de alimentos (Mir et al., 2018). Estas embalagens podem atuar protegendo a integridade do alimento de influências externas, contribuindo para manutenção e melhoria da qualidade dos alimentos frescos, congelados ou processados, e ainda agindo como veículos para compostos antimicrobianos e antioxidantes, de forma a minimizar problemas de perda de umidade, oxidação lipídica e deterioração da cor dos alimentos (Campos et al., 2011). Além disso, os biopolímeros são considerados como uma alternativa viável na substituição do plástico de origem petroquímica para produção de embalagens de alimentos (Dicastillo et al., 2016).

A embalagem ativa atua aumentando o prazo de validade do alimento a partir da presença de substâncias ativas, seja com ação antioxidante ou antimicrobiana, aumentando a segurança do produto (Kruijf et al., 2002). É utilizada como método de conservação complementar ou para substituir técnicas convencionais de processamento de alimentos (processamento térmico, salga, desidratação e utilização de aditivos sintéticos) (López-de-Dicastillo et al., 2011).

Embora existam várias pesquisas com o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis incorporadas com extratos naturais com ação antioxidante (Turgut et al., 2017; Kalem et al., 2018; Riaz et al., 2018), não foram encontrados dados na literatura que reportem o poder antioxidante do resíduo da acerola em embalagens biodegradáveis quando aplicado em produtos cárneos.

Nesse contexto, objetivou-se verificar o efeito da aplicação de embalagem biodegradável incorporada com extrato do resíduo agroindustrial de acerola sobre a qualidade de hambúrguer de bovino durante o armazenamento congelado.

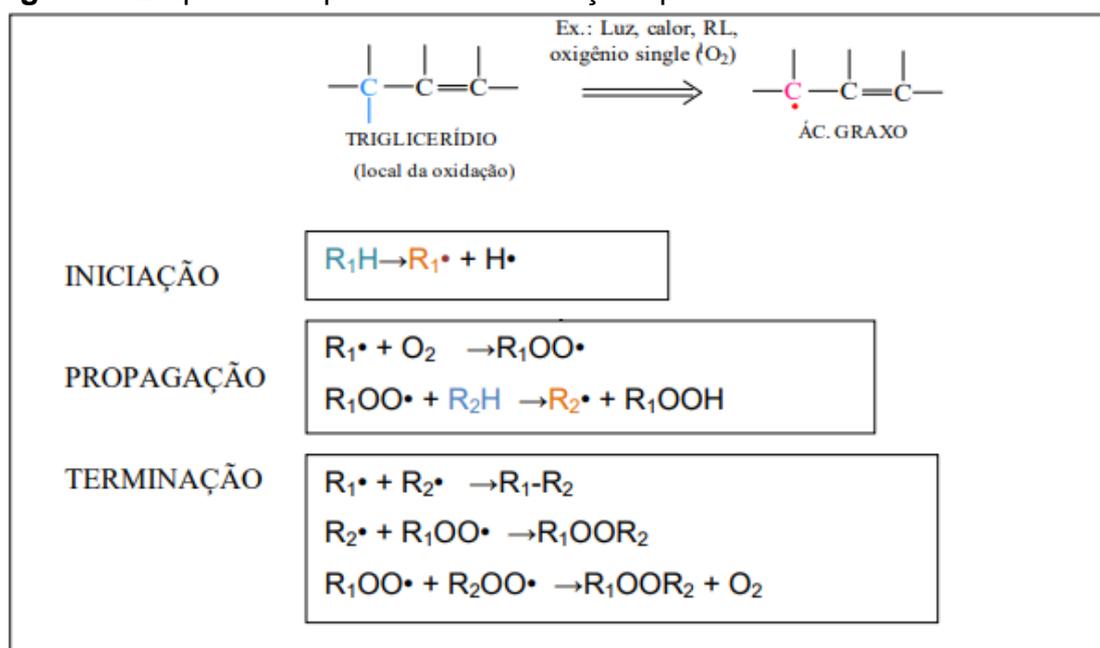
Esta dissertação foi dividida em três capítulos. Cada capítulo está formatado de acordo com as normas internas do programa (PPGTA). O Capítulo I descreve as considerações gerais e o referencial teórico dos problemas de deterioração oxidativa da carne e seus derivados e estratégias para evitar/minimizar estes problemas. O capítulo II descreve o processo de otimização e caracterização do extrato do resíduo da acerola (artigo I). O capítulo III descreve o efeito do filme à base de gelatina e resíduo de acerola contra a oxidação lipídica e proteica em hambúrguer bovino (artigo II).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Oxidação lipídica e proteica em carnes e derivados

A oxidação lipídica consiste em uma série de reações em cadeia de radicais caracterizada por três fases concomitantemente: iniciação, propagação e terminação (Guyon et al., 2016), conforme estar representado na figura 1.

Figura 1. Esquema do processo de oxidação lipídica.



- RH: carbono alfa-metileno; -R•: radical livre; -H•: hidrogênio removido; -ROO•: radical peroxila; -ROOH: hidroperóxido.

Fonte: Oliveira, 2014.

Na etapa de iniciação é formado um radical livre (R₁•) por ação do oxigênio sobre os lipídeos insaturados. Este radical pode reagir com oxigênio, na etapa de propagação, formando radicais peróxidos livres (R₁OO•), como dienos conjugados e hidroperóxidos (ROOH), que são produtos primários da oxidação. Estes compostos se decompõem, produzindo compostos aromáticos voláteis (compostos carbonílicos, cetonas, álcoois e aldeídos) que são considerados produtos secundários da oxidação lipídica, os quais conferem sabor e odor de ranço, alteração da cor e formação de compostos tóxicos na fase de terminação (Sampaio et al., 2012).

A oxidação lipídica em carnes é afetada principalmente pela presença de oxigênio, que reage com ácidos graxos insaturados formando peróxidos (Min e Ahn, 2012). Os radicais livres altamente instáveis são derivados do oxigênio, nitrogênio e enxofre, produzindo espécies reativas de oxigênio (ROS), espécies reativas de nitrogênio (RNS) e espécies reativas de enxofre (RSS) (Ribeiro et al., 2018).

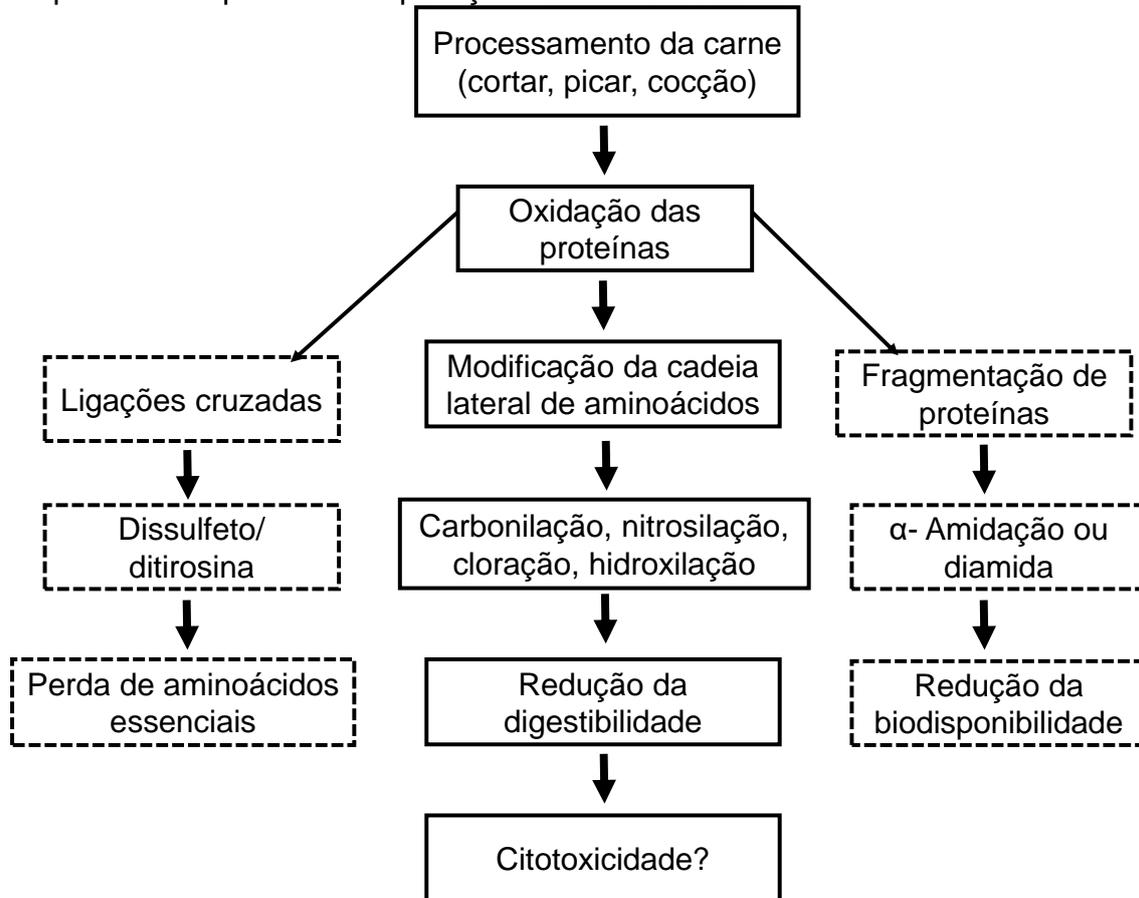
A taxa de oxidação é proporcional à quantidade de insaturações presentes na fonte lipídica, afetando diretamente a cor e estabilidade dos produtos (Hallenstvedt et al., 2012). A velocidade das reações de oxidação bem como os produtos formados dependem também de fatores como tipo de músculo, espécie animal, enzimas, pH, níveis de antioxidantes internos e externos da carne, bem como do processamento (Lorenzo e Pateiro, 2013; Pateiro et al., 2014).

As reações de oxidação proteica, ao contrário da lipídica, só vieram ser investigadas nas últimas décadas (Estévez, 2015). No entanto, as reações de oxidação lipídica e proteica estão diretamente relacionadas entre si, pois são iniciadas por ROS e vários produtos da oxidação lipídica são ROS para a oxidação proteica (Wang et al., 2019). Assim, a determinação da oxidação de proteínas na avaliação da qualidade da carne e derivados tornou-se critério significativo, uma vez que as proteínas musculares influenciam diretamente nas características nutricionais, físico-químicas e sensoriais da carne (Falowo et al., 2014).

A oxidação das proteínas pode ocorrer através de três formas: modificação de um aminoácido específico, clivagem do peptídeo mediado por radicais livres e pela formação da proteína de ligação transversal originada pela peroxidação lipídica. Além disso, a presença de aminoácidos como metionina, cisteína, arginina e histidina possivelmente tornam as proteínas mais sensíveis à oxidação (Ribeiro et al., 2018).

O estado químico das proteínas pode ser influenciado com o processamento da carne (armazenamento, cocção, cura), devido às reações de oxidação, afetando de forma negativa o seu poder nutricional pela destruição de aminoácidos essenciais, redução da digestibilidade e biodisponibilidade e possíveis distúrbios à saúde do consumidor (Figura 2) (Soladoye et al., 2015; La Pomélie et al., 2018).

Figura 2. Esquema da influência do processamento da carne sobre a oxidação de proteínas e possíveis implicações na saúde humana.



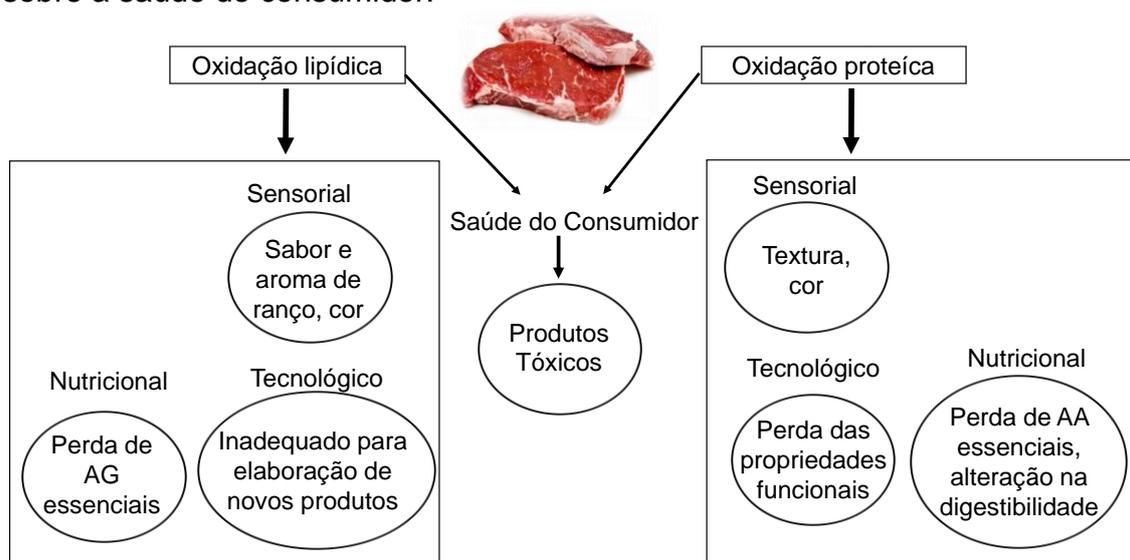
Fonte: Adaptado de Soladoye et al. (2015).

As carbonilas (aldeídos e cetonas) são formados durante reações oxidativas irreversíveis e não enzimática de proteínas, as quais também podem ser induzidas por outros mecanismos, sendo que a principal via de formação de carbonilas é a de oxidação direta de cadeias laterais de aminoácidos suscetíveis (lisina, treonina, arginina e prolina) (Estévez, 2011).

Fatores como a concentração de pigmentos heme, lipídios oxidáveis e enzimas também estão diretamente relacionados com a oxidação proteica (Xiong, 2000). Desta forma, pesquisas têm sido realizadas para avaliar os impactos provocados pela oxidação proteica em carne e derivados e a sua relação com a oxidação lipídica (Li et al., 2019; Malheiros et al., 2019; Zhao et al., 2019).

De modo geral, a oxidação de lipídeos e proteínas impacta diretamente nas características sensoriais, nutricionais, tecnológicas e na saúde do consumidor, como esquematizado na figura 3.

Figura 3. Esquematização das consequências da oxidação lipídica e proteica sobre as características sensoriais, nutricionais e tecnológicas do produto e sobre a saúde do consumidor.



Fonte: Autoria própria (2020).

A oxidação de lipídeos e proteínas tem como consequência a formação de compostos tóxicos, como malonaldeído e compostos carbonílicos, respectivamente, os quais podem ocasionar problemas de saúde ao consumidor, como doenças neurodegenerativas e carcinogênicas (Soladoye et al., 2015; Estévez e Luna, 2017).

A oxidação dos lipídeos em carne e derivados afeta sensorialmente o sabor, aroma e a cor do produto, devido a rancidez e oxidação da mioglobina, tornando-se inadequado para elaboração de novos produtos e consumo humano. Além disso, promove a perda de ácidos graxos essenciais (Contini et al., 2014; Falowo et al., 2014).

A oxidação das proteínas afeta as características sensoriais de textura e cor, principalmente devido à perda da funcionalidade das proteínas e formação de linhas cruzadas. Promove a perda de aminoácidos essenciais, causando alterações na digestibilidade e ocasiona impacto nas propriedades tecnológicas das proteínas, como perda da capacidade de retenção de água, de formar gel,

capacidade espumante, emulsificante, dentre outras (Falowo et al., 2014; Soladoye et al., 2015).

2.2 Antioxidantes naturais

Pesquisas apontam que várias plantas têm sido detectadas como sendo detentoras de significativas quantidades de compostos bioativos, tais como os fenóis, flavonóides e terpenóides (Andrés et al., 2017; Rezende et al., 2017). Esses compostos apresentam atividade antioxidante e atuam eliminando a ação dos radicais livres, tornando-se alvo de interesse para utilização como conservantes naturais nos alimentos em substituição aos aditivos sintéticos (Kalem et al., 2017; Venkatesan et al., 2017).

Os antioxidantes são classificados conforme seu mecanismo de ação para compostos primários ou secundários. Os antioxidantes primários atuam por meio da quebra de cadeia, doando um elétron ao radical livre, enquanto que os antioxidantes secundários atuam através da remoção de espécies iniciadores da oxidação (ROS/nitrogênio) por extinção do catalisador iniciador de cadeia (Lobo et al., 2010).

Os antioxidantes agem neutralizando ou inibindo a ação de moléculas instáveis (moléculas com um elétron não emparelhado e altamente reativas) responsáveis por provocar danos ao DNA, promover o envelhecimento, doenças degenerativas e podem ocasionar câncer. Estes compostos atuam como doadores de hidrogênio ou de elétrons, decompositores de peróxido, inibidores de oxigênio singlete e de enzimas, sinergistas e como quelantes de metais (Lobo et al., 2010).

A ação de compostos antioxidantes de extratos vegetais tem papel importante na redução da oxidação lipídica e proteica em tecidos vegetais e animais. Os compostos que contêm anel aromático ou fenólico atuam como antioxidantes eficazes, através da doação de hidrogênio para estabilização de um radical livre (Banerjee et al., 2017).

Há diversas formas de aplicação de extratos naturais em carne e derivados, seja por adição na ração animal, adição direta na massa cárnea ou através da incorporação em embalagens de alimentos. Quando os extratos

vegetais são adicionados nos produtos alimentícios, além de conservá-los, não causa efeitos danosos à saúde do consumidor (Soobratee et al., 2005).

Desta forma, diversos estudos avaliaram o efeito da aplicação de extratos naturais de plantas contra oxidação em carne e derivados (Kalem et al., 2018; Rezende et al., 2018; Borzi et al., 2019). Na tabela 1 são mostrados alguns exemplos de estudos com diferentes formas de aplicação de extratos naturais em carne e derivados.

Tabela 1. Exemplos de aplicação de extratos naturais em carne e derivados.

Origem do Extrato	Forma de aplicação	Produto	Condições do teste	Referência
Extrato de <i>Terminalia arjuna</i>	Aplicação direta na carne	Carne suína	Refrigeração	Chauhan et al. (2019)
Extrato de alcaçuz (<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.)	Dieta do animal / diretamente na massa	Hambúrguer de coelho	Refrigeração	Dal Bosco et al. (2019)
Extrato de <i>Terminalia arjuna</i>	Embalagem ativa comestível de alginato de cálcio	Salsicha Chevon	Refrigeração	Kalem et al. (2018)
Extrato de <i>L. inermis</i>	Embalagem ativa de gelatina	Carne bovina	Refrigeração	Jridi et al. (2018)
Extrato de bellota (<i>Quercus ilex</i> L.)	Aplicação direta na carne	Carne de frango	Refrigeração	Özünlü et al. (2018)
Extrato do co-produto de própolis	Aplicação direta na massa	Hambúrguer de carne bovina	Congelamento	Reis et al. (2017)
Extrato de bellota (<i>Quercus ilex</i> L.)	Aplicação direta na massa	Hambúrguer de frango	Refrigeração	Ferreira et al. (2017)
Extrato casca de romã	Aplicação direta na massa	Almôndegas de carne bovina	Congelamento	Turgut et al. (2017)

Extrato de semente de uva	Incorporação na dieta do animal	Carne bovina	Refrigeração	Guerra-Rivas et al. (2016)
Extrato do resíduo de cervejaria	Embalagem ativa de polietileno de alta densidade	Carne bovina	Refrigeração	Barbosa-Pereira et al. (2014)

Fonte: Autoria própria (2020).

2.2.1 Resíduo agroindustrial da acerola

A Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) estima que a produção global de alimentos deve aumentar em 60% até 2050 e este aumento contribuirá para uma maior produção de resíduos agroindustriais, tornando-se uma situação agravante para o meio ambiente (Leite et al., 2019). Porém, esses resíduos são fontes de compostos com potencial antioxidante, principalmente os compostos fenólicos (Rezende et al., 2018; Silva et al., 2019). Desta forma, estratégias para aproveitamento desses compostos são necessárias, sobretudo como recurso para aplicação em alimentos como alternativa aos aditivos sintéticos.

A acerola (*Malpighia emarginata*) é um fruto pertencente à família *Malpighiaceae*, a qual contém em torno de 45 espécies de arbustos ou árvores de pequeno porte. A *M. emarginata* é originária da América Central e do Norte da América do Sul, cultivada principalmente no Brasil (Malegori et al., 2017). Dentre as espécies, a acerola é bastante comercializada, devido ao sabor agradável e elevado teor de vitamina C, sendo consumida in natura ou processada na forma de sucos, polpas, geleias, dentre outras variedades de produtos (Rezende et al., 2017; Belwal et al., 2018). Porém, devido a elevada perecibilidade, rapidamente após sua colheita, a acerola é processada em diversos produtos. É um fruto que contém compostos bioativos como a vitamina C, compostos fenólicos, flavonoides e antocianinas, (Silva et al., 2019), os quais proporcionam propriedades farmacológicas, tais como potencial antioxidante (Rezende et al., 2018).

Klosterhoff et al. (2018), verificaram que um polissacarídeo péctico rico em arabina, extraído de acerola, demonstrou potencial atividade antioxidante

intracelular e que a pectina foi capaz de proteger a célula contra a citotoxicidade gerada pelo H₂O₂.

A partir da análise exploratória de estudos que reportem estratégias contra os impactos das reações de oxidação lipídica e proteica em carnes e derivados, fica evidente a demanda por extratos antioxidantes naturais para substituição dos sintéticos, seja através da adição direta do extrato ao produto ou por meio da incorporação em filmes ativos.

2.3 Embalagem biodegradável e ativa

A tendência de muitas pesquisas sobre novas embalagens de alimentos decorre da demanda dos consumidores por produtos mais saudáveis, práticos e com vida útil prolongada (Dobrucka e Cierpiszewski, 2014). De acordo com a RDC nº 91/2001 da ANVISA, embalagem “é o artigo que está em contato direto com alimentos, destinado a contê-los, desde a sua fabricação até a sua entrega ao consumidor, com a finalidade de protegê-los de agente externos, de alterações e de contaminações, assim como de adulterações” (Brasil, 2001).

O filme, consiste numa fina película que é produzida e depois adicionada sobre o alimento, enquanto que o revestimento, é uma suspensão ou emulsão que se aplica diretamente ao alimento, e após sua secagem, forma-se uma fina película que recobre o produto (Villadiego et al., 2005).

O desenvolvimento de embalagens biodegradáveis tem sido bastante estudado com o intuito de prolongar a vida útil dos alimentos e atender a demanda dos consumidores por produtos de qualidade (Kalem et al., 2018; Riaz et al., 2018). Além disso, os materiais plásticos derivados do petróleo são altamente poluentes, gerando acúmulo de resíduos (Rodríguez et al., 2012). Desta forma, uma alternativa viável para minimizar este problema tem sido a utilização de filmes biodegradáveis produzidos a partir de polímeros naturais, como polissacarídeos, proteínas e lipídeos (Bermúdez-Oria et al., 2018; Soncu et al., 2018; Suderman et al., 2018).

As principais fontes de materiais poliméricos biodegradáveis e comestíveis são proteínas (gelatina, caseína, ovoalbumina, zeína e proteínas miofibrilares), polissacarídeos (amido e seus derivados, pectina, alginato e carragena) e lipídeos (monoglicerídeos acetilados, ácido esteárico, ceras e

ésteres de ácido graxo) ou mesmo a partir da mistura desses compostos, na forma de blendas (Han, 2000; Luvielmo e Vieira, 2012).

Filmes produzidos a partir de gelatina tem sido uma prática comum em vários estudos recentes (Adilah et al., 2018; Choi et al, 2018; Ge et al., 2018). A solução normalmente é preparada utilizando a gelatina junto a um plastificante, dissolvidos em água. Após o preparo da solução, é colocada sobre uma placa, seguida de secagem em estufa para evaporação do solvente, quando produzido pelo método de *casting*. Durante a secagem, devido a interconexão de moléculas de proteínas, ocorre a formação da matriz filmogênica (Hosseini e Gómez-Guillén, 2018). Os plastificantes são adicionados com a finalidade de melhorar as propriedades dos filmes comestíveis, como flexibilidade e resistência à tração. Dos plastificantes comerciais, o glicerol é o mais utilizado, devido a sua afinidade com água e as interações com as proteínas (Song et al., 2011).

A embalagem ativa surgiu a partir da necessidade de atender a demanda do consumidor por produtos mais naturais, diminuindo o teor de conservante nos produtos e colocando nas embalagens (Lopez-Rubio et al., 2004). Estas embalagens consistem em um sistema complexo onde o produto e a embalagem interagem para conferir características positivas à preservação do alimento (Mcmillin, 2017). Os mecanismos de ação das embalagens ativas baseiam-se pela liberação de compostos ativos para a atmosfera envolvente e para o produto, ou da absorção dos agentes deteriorantes do produto embalado (Wrona et al., 2015).

As embalagens ativas antioxidantes podem ser produzidas através da incorporação dos compostos ativos antioxidante na matriz, na forma de filmes, de saches, ou de revestimento. A incorporação dos compostos ativos direto na matriz polimérica se dá pela mistura direta do antioxidante ao polímero dissolvidos num solvente apropriado, seguido por um processo de moldagem ou de extrusão. Na forma de sachê, o antioxidante é colocado no interior do sachê. Na forma de revestimento, a solução filmogênica é colocada de forma direta na superfície do produto formando uma fina película (Gómez-Estaca et al., 2014; Fang et al., 2017).

A partir do exposto, estudos sobre a aplicação de filmes comestíveis e/ou biodegradáveis contendo substâncias bioativas para preservação de carne e derivados têm se mostrado efetivo, sendo, portanto, uma estratégia viável no

retardo ou inibição de reações de oxidação em produtos cárneos. A acerola detém de substâncias biologicamente ativas, com ação antioxidante, as quais estão presentes em quantidades significativas no resíduo. Desta forma, pesquisas envolvendo a elaboração de filme ativo incorporado com extratos naturais, como extrato do resíduo da acerola, tornam-se necessárias para avaliar seu efeito protetor em carne e derivados.

3 REFERÊNCIAS

Adilah, A.N., Jamilah, B., Noranizan, M.A., Hanani, Z.N. (2018). Utilization of mango peel extracts on the biodegradable films for active packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 16, p. 1-7.

Andrés, A.I., Petrón, M.J., Adámez, J.D., López, M., Timón, M.L. (2017). Food by-products as potential antioxidant and antimicrobial additives in chill stored raw lamb patties. **Meat Science**, v.129, p. 62-70.

Banerjee, R., Verma, A. K., Siddiqui, M. W. (Eds.). (2017). **Natural Antioxidants: Applications in Foods of Animal Origin**. CRC Press.

Barbosa-Pereira, L., Aurrekoetxea, G.P., Angulo, I., Paseiro-Losada, P., Cruz, J.M. (2014). Development of new active packaging films coated with natural phenolic compounds to improve the oxidative stability of beef. **Meat Science**, v.97, n.2, p. 249-254.

Belwal, T., Devkota, H. P., Hassan, H. A., Ahluwalia, S., Ramadan, M. F., Mocan, A., Atanasov, A.G. (2018). Phytopharmacology of Acerola (*Malpighia* spp.) and its potential as functional food. **Trends in Food Science & Technology**, v.74, p.99-106.

Bermúdez-Oria, A., Rodríguez-Gutiérrez, G., Rubio-Senent, F., Fernández-Prior, Á., Fernández-Bolaños, J. (2018). Effect of edible pectin-fish gelatin films containing the olive antioxidants hydroxytyrosol and 3, 4-dihydroxyphenylglycol on beef meat during refrigerated storage. **Meat Science**, v. 148, p. 213-218.

Borzi, F., Torrieri, E., Wrona, M., Nerín, C. (2019). Polyamide modified with green tea extract for fresh minced meat active packaging applications. **Food Chemistry**, v.300, p.125242.

Campos, C.A., Gerschenson, L.N., Flores, S.K. (2011). Development of edible films and coatings with antimicrobial activity. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, n. 6, p. 849-875.

Chauhan, P., Pradhan, S. R., Das, A., Nanda, P. K., Bandyopadhyay, S., Das, A. K. (2019). Inhibition of lipid and protein oxidation in raw ground pork by Terminalia arjuna fruit extract during refrigerated storage. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.32, n.2, p.265.

Choi, I., Lee, S.E., Chang, Y., Lacroix, M., Han, J. (2018). Effect of oxidized phenolic compounds on cross-linking and properties of biodegradable active packaging film composed of turmeric and gelatin. **LWT-Food Science and Technology**, v. 93, p. 427-433.

Contini, C., Álvarez, R., O'sullivan, M., Dowling, D.P., Gargan, S.O., Monahan, F.J. (2014). Effect of an active packaging with citrus extract on lipid oxidation and sensory quality of cooked turkey meat. **Meat Science**, v. 96, n. 3, p. 1171-1176.

Dal Bosco, A., Mattioli, S., Matics, Z., Szendrő, Z., Gerencsér, Z., Mancinelli, A. C., Dalle Zotte, A. (2019). The antioxidant effectiveness of liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) extract administered as dietary supplementation and/or as a burger additive in rabbit meat. **Meat Science**, v.158, p.107921.

Dicastillo, C.L., Rodríguez, F., Guarda, A., Galotto, M.J. (2016). Antioxidant films based on cross-linked methyl cellulose and native Chilean berry for food packaging applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 136, p. 1052-1060.

Dobrucka, R., Cierpiszewski, R. (2014). Active and intelligent packaging food–research and development—a review. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 64, n. 1, p. 7-15.

Domínguez, R., Barba, F.J., Gómez, B., Putnik, P., Kovačević, D.B., Pateiro, M., Lorenzo, J.M. (2018). Active packaging films with natural antioxidants to be used in meat industry: A review. **Food Research International**, v.113, p. 93-101.

El-Nashi, H.B., Fattah, A.F.A.K.A., Rahman, N.R.A., El-Razik, M.A. (2015). Quality characteristics of beef sausage containing pomegranate peels during refrigerated storage. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 60, n.2, p. 403-412.

Estévez, M. (2011). Protein carbonyls in meat systems: A review. **Meat Science**, v.89, n.3, p.259-279.

Estévez, M. (2015). Oxidative damage to poultry: from farm to fork. **Poultry Science**, v. 94, n.6, p. 1368-1378.

Estévez, M., e Luna, C. (2017). Dietary protein oxidation: A silent threat to human health?. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.57, n.17, p.3781-3793.

Falowo, A.B., Fayemi, P.O., Muchenje, V. (2014). Natural antioxidants against lipid–protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. **Food Research International**, v. 64, p.171-181.

Fang, Z., Zhao, Y., Warner, R.D., Johnson, S.K. (2017). Active and intelligent packaging in meat industry. **Trends in Food Science & Technology**, v.61, p. 60-71.

Ferreira, V. C., Morcuende, D., Hernández-López, S. H., Madruga, M. S., Silva, F. A., Estévez, M. (2017). Antioxidant Extracts from Acorns (*Quercus ilex* L.) Effectively Protect Ready-to-Eat (RTE) Chicken Patties Irrespective of Packaging Atmosphere. **Journal of Food Science**, v.82, n.3, p.622-631.

Ge, L., Zhu, M., Li, X., Xu, Y., Ma, X., Shi, R., Li, D., Mu, C. (2018). Development of active rosmarinic acid-gelatin biodegradable films with antioxidant and long-term antibacterial activities. **Food Hydrocolloids**, v. 83, p. 308-316.

Gómez-Estaca, J., Gavara, R., Catalá, R., Hernández-Muñoz, P. (2014). The potential of proteins for producing food packaging materials: A review. **Packaging Technology and Science**, v. 29, n.4-5, p. 203-224.

Guerra-Rivas, C., Vieira, C., Rubio, B., Martínez, B., Gallardo, B., Mantecón, A. R., Manso, T. (2016). Effects of grape pomace in growing lamb diets compared with vitamin E and grape seed extract on meat shelf life. **Meat Science**, p.116, v.221-229.

Gullón, B., Gullón, P., Eibes, G., Cara, C., Torres, A., López-Linares, J. C., Castro, E. (2018). Valorisation of olive agro-industrial by-products as a source of bioactive compounds. **Science of the Total Environment**, v.645, p.533-542.

Guyon, C., Meynier, A., de Lamballerie, M. (2016). Protein and lipid oxidation in meat: A review with emphasis on high-pressure treatments. **Trends in Food Science & Technology**, v.50, p.131-143.

Hallenstvedt, E., Kjos, N. P., Øverland, M., Thomassen, M. (2012). Changes in texture, colour and fatty acid composition of male and female pig shoulder fat due to different dietary fat sources. **Meat Science**, v. 90, n.3, p. 519-527.

Han, J.H. (2000). Antimicrobial Food Packaging. **Food Technology**, v. 54, n.3, p. 3-65.

Hosseini, S.F., Gómez-Guillén, M.C. (2018). A state-of-the-art review on the elaboration of fish gelatin as bioactive packaging: Special emphasis on nanotechnology-based approaches. **Trends in Food Science & Technology**, v. 79, p. 125-135.

Kalem, I.K., Bhat, Z.F., Kumar, S., Desai, A. (2017). *Terminalia arjuna*: A novel natural preservative for improved lipid oxidative stability and storage quality of muscle foods. **Food Science and Human Wellness**, v. 6, p. 167-175.

Kalem, I.K., Bhat, Z.F., Kumar, S., Noor, S., Desai, A. (2018). The effects of bioactive edible film containing *Terminalia arjuna* on the stability of some quality attributes of chevon sausages. **Meat Science**, v. 140, p. 38-43.

Kamemura, N. (2018). 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.

Klosterhoff, R. R., Bark, J. M., Glänzel, N. M., Iacomini, M., Martinez, G. R., Winnischofer, S. M., Cordeiro, L. M. (2018). Structure and intracellular antioxidant activity of pectic polysaccharide from acerola (*Malpighia emarginata*). **International Journal of Biological Macromolecules**, v.106, p.473-480.

Kruijf, N.D., Beest, M.V., Rijk, R., Sipiläinen-Malm, T., Losada, P.P., Meulenaer, B.D. (2002). Active and intelligent packaging: applications and regulatory aspects. **Food Additives & Contaminants**, v.19, n.S1, p. 144-162.

La Pomélie, D., Santé-Lhoutellier, V., Sayd, T., Gatellier, P. (2018). Oxidation and nitrosation of meat proteins under gastro-intestinal conditions: Consequences in terms of nutritional and health values of meat. **Food Chemistry**, v.243, p.295-304.

Leite, P., Silva, C., Salgado, J. M., Belo, I. (2019). Simultaneous production of lignocellulolytic enzymes and extraction of antioxidant compounds by solid-state fermentation of agro-industrial wastes. **Industrial Crops and Products**, v. 137, p. 315-322.

Li, B., Xu, Y., Li, J., Niu, S., Wang, C., Zhang, N., Zhang, M., Yang K., Zhou S., Chen S., Ele L., Liu S., Yin S., Yang Y. (2019). Effect of oxidized lipids stored under different temperatures on muscle protein oxidation in Sichuan-style sausages during ripening. **Meat Science**, v.147, p.144-154.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacognosy Reviews**, v.4, n.8, p. 118.

López-De-Dicastillo, C., Catalá, R., Gavara, R., Hernández-Muñoz, P. (2011). Food applications of active packaging EVOH films containing cyclodextrins for the preferential scavenging of undesirable compounds. **Journal of Food Engineering**, v. 104, n.3, p. 380-386.

Lopez-Rubio, A., Almenar, E., Hernandez-Muñoz, P., Lagarón, J.M., Catalá, R., Gavara, R. (2004). Overview of active polymer-based packaging technologies for food applications. **Food Reviews International**, v. 20, n.4, p. 357-387.

Lorenzo, J.M., Pateiro, M., Domínguez, R., Barba, F.J., Putnik, P., Kovačević, D. B., Shpigelman, A., Granato, D., Franco, D. (2017). Berries extracts as natural antioxidants in meat products: A review. **Food Research International**, v.106, p.1095-1104.

Lorenzo, J.M., Pateiro, M., Fontán, M.C. G., Carballo, J. (2014). Effect of fat content on physical, microbial, lipid and protein changes during chill storage of foal liver pâté. **Food Chemistry**, v. 155, p. 57–63.

Lund, M. N., Heinonen, M., Baron, C. P., Estevez, M. (2011). Protein oxidation in muscle foods: A review. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 55, n.1, p. 83-95.

Luvielmo, M.M., Vieira Lamas, S. (2012). Revestimentos comestíveis em frutas. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v.8, n.1.

Malegori, C., Marques, E. J. N., De Freitas, S. T., Pimentel, M. F., Pasquini, C., Casiraghi, E. (2017). Comparing the analytical performances of Micro-NIR and FT-NIR spectrometers in the evaluation of acerola fruit quality, using PLS and SVM regression algorithms. **Talanta**, v.165, p.112-116.

Malheiros, J. M., Braga, C. P., Grove, R. A., Ribeiro, F. A., Calkins, C. R., Adamec, J., Chardulo, L. A. L. (2019). Influence of oxidative damage to proteins on meat tenderness using a proteomics approach. **Meat Science**, v.148, p.64-71.

Martínez-Patiño, J. C., Gullón, B., Romero, I., Ruiz, E., Brnčić, M., Žlabur, J. Š., Castro, E. (2019). Optimization of ultrasound-assisted extraction of biomass from olive trees using response surface methodology. **Ultrasonics Sonochemistry**, v51, p.487-495.

Mcmillin, K.W. (2017). Advancements in meat packaging. **Meat Science**, v.132, 153-162.

Min, B., Ahn, D.U. (2012). Sensory properties of packaged fresh and processed poultry meat. In: Advances in meat, poultry and seafood packaging. **Woodhead Publishing**, p. 112-153.

Mir, S.A., Dar, B.N., Wani, A. A., Shah, M.A. (2018). Effect of plant extracts on the techno-functional properties of biodegradable packaging films. **Trends in Food Science & Technology**, v.80, p.141-154.

Nakyinsige, K., Sazili, A. Q., Aghwan, Z. A., Zulkifli, I., Goh, Y. M., Bakar, F. A., & Sarah, S. A. (2015). Development of microbial spoilage and lipid and protein oxidation in rabbit meat. **Meat Science**, v.108, p.125-131.

Nogueira, G. D., Silva, P. B., Duarte, C. R., Barrozo, M. A. (2019). Analysis of a hybrid packed bed dryer assisted by infrared radiation for processing acerola (*Malpighia emarginata* DC) residue. **Food and Bioproducts Processing**, v.114, p.235-244.

Özünlü, O., Ergezer, H., Gökçe, R. (2018). Improving physicochemical, antioxidative and sensory quality of raw chicken meat by using acorn extracts. **LWT-Food Science and Technology**, v.98, p.477-484.

Pateiro, M., Lorenzo, J.M., Amado, I.R., Franco, D. (2014). Effect of addition of green tea, chestnut and grape extract on the shelf-life of pig liver pâté. **Food Chemistry**, v.147, p. 386-394.

Reis, A. S., Diedrich, C., de Moura, C., Pereira, D., de Flório Almeida, J., da Silva, L. D., Carpes, S. T. (2017). Physico-chemical characteristics of microencapsulated propolis co-product extract and its effect on storage stability of burger meat during storage at- 15° C. **LWT-Food Science and Technology**, v.76, p.306-313.

Rezende, Y. R. R. S., Nogueira, J. P., Narain, N. (2017). Comparison and optimization of conventional and ultrasound assisted extraction for bioactive compounds and antioxidant activity from agro-industrial acerola (*Malpighia emarginata* DC) residue. **LWT-Food Science and Technology**, v.85, p.158-169.

Rezende, Y. R. R. S., Nogueira, J. P., Narain, N. (2018). Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. **Food Chemistry**, v.254, p.281-291.

Riaz, A., Lei, S., Akhtar, H.M.S., Wan, P., Chen, D., Jabbar, S., Zeng, X. (2018). Preparation and characterization of chitosan-based antimicrobial active food packaging film incorporated with apple peel polyphenols. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.114, p. 547-555.

Ribeiro, J. S., Santos, M. J. M. C., Silva, L. K. R., Pereira, L. C. L., Santos, I. A., da Silva Lannes, S. C., Silva, M. V. (2018). Natural antioxidants used in meat products: A brief review. **Meat science**. v. 148, p.181-188.

Rodríguez, F.J., Galotto, M.J., Guarda, A., Bruna, J.E. (2012). Modification of cellulose acetate films using nanofillers based on organoclays. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n.2, p. 262-268.

Sampaio, G.R., Saldanha, T., Soares, R.A.M., Torres, E.A.F.S. (2012). Effect of natural antioxidant combinations on lipid oxidation in cooked chicken meat during refrigerated storage. **Food Chemistry**, v. 135, p. 1383–1390.

Shah, M.A., Don Bosco, S.J., Mir, S.A. (2014). Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. **Meat Science**, v. 98, p. 21-33.

Silva, P. B., Duarte, C. R., Barrozo, M. A. S. (2019). A novel system for drying of agro-industrial acerola (*Malpighia emarginata* DC) waste for use as bioactive compound source. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, V.52, p.350-357.

Soladoye, O. P., Juárez, M. L., Aalhus, J. L., Shand, P., Estévez, M. (2015). Protein oxidation in processed meat: mechanisms and potential implications on human health. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.14, n.2, p.106-122.

Soncu, E.D., Arslan, B., Ertürk, D., Küçükkaya, S., Özdemir, N., Soyer, A. (2018). Microbiological, physicochemical and sensory characteristics of Turkish fermented sausages (sucuk) coated with chitosan-essential oils. **LWT-Food Science and Technology**, v. 97, p. 198-204.

Song, F., Tang, D. L., Wang, X.L., Wang, Y.Z. (2011). Biodegradable soy protein isolate-based materials: a review. **Biomacromolecules**, v. 12, n. 10, p. 3369-3380.

Soobrattee, M.A., Neergheen, V.S., Luximon-Ramma, A., Aruoma, O.I., Bahorun, T. (2005). Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 579, n.1, p. 200-213.

Suderman, N., Isa, M.I.N., Sarbon, N.M. (2018). The effect of plasticizers on the functional properties of biodegradable gelatin-based film: A review. **Food Bioscience**, v. 24, p. 111-119.

Turgut, S.S., Işıkçi, F., Soyer, A. (2017). Antioxidant activity of pomegranate peel extract on lipid and protein oxidation in beef meatballs during frozen storage. **Meat Science**, v.129, p. 111-119.

Venkatesan, A., Kathirvel, A., Prakash, S., Sujatha, V. (2017). Antioxidant, antibacterial activities and identification of bioactive compounds from terminalia chebula bark extracts. **Free Radicals and Antioxidants**, v.7, n.1, p. 43-49.

Villadiego, A.M.D., Soares, N.F.F., Andrade, N.J., Puschmann, R., Minim, V.P.R., Cruz, R. (2005). Filmes e revestimentos comestíveis na conservação de produtos alimentícios. **Revista Ceres**, v.52, n. 300.

Wang, Z., He, Z., Emara, A. M., Gan, X., Li, H. (2019). Effects of malondialdehyde as a byproduct of lipid oxidation on protein oxidation in rabbit meat. **Food Chemistry**, v.288, p.405-412.

Willersinn, C., Mouron, P., Mack, G., Siegrist, M. (2017). Food loss reduction from an environmental, socio-economic and consumer perspective—The case of the Swiss potato market. **Waste Management**, v.59, p.451-464.

Wrona, M., Bentayeb, K., & Nerín, C. (2015). A novel active packaging for extending the shelf-life of fresh mushrooms (*Agaricus bisporus*). **Food Control**, 54, 200-207.

Xiong, Y.L. (2000). Protein oxidation and implications for muscle food quality. Antioxidants in Muscle Foods: Nutritional Strategies to Improve Quality. **New York: Wiley and Sons**, p. 85-90.

Yang, X., Sun, Z., Wang, W., Zhou, Q., Shi, G., Wei, F., Jiang, G. (2018). Developmental toxicity of synthetic phenolic antioxidants to the early life stage of zebrafish. **Science of the Total Environment**, v. 643, p. 559-568.

Zhao, X., Xing, T., Wang, P., Xu, X., Zhou, G. (2019). Oxidative stability of isoelectric solubilization/precipitation-isolated PSE-like chicken protein. **Food Chemistry**, v.283, p.646-655.

CAPÍTULO 2 – Otimização da extração e avaliação das propriedades bioativas do extrato do resíduo agroindustrial de *Malpighia emarginata*

Extraction Optimization and evaluation of bioactive properties in the agroindustrial waste extract of *Malpighia emarginata*

Edilayane da Nóbrega Santos¹; Deocleciano Cassiano de Santana Neto²;
Ângela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro¹; Bruno Ranieri Lins de
Albuquerque Meireles³; Valquíria Cardoso da Silva Ferreira¹; Fábio Anderson
Pereira da Silva^{1*}

¹Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Agroalimentar, Universidade Federal da Paraíba, Bananeiras, Paraíba, Brasil. ²Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba Paraná, Brasil. ³Unidade Acadêmica de Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, Universidade Federal de Campina Grande. *E-mail do autor correspondente: fabio@ct.ufpb.br

Resumo: Objetivou-se otimizar as condições de extração dos compostos antioxidantes do resíduo da acerola e avaliar a bioatividade do extrato otimizado. Um delineamento central composto rotacional (DCCR) foi utilizado para avaliar o efeito de três variáveis independentes (tempo, temperatura e concentração de etanol) no conteúdo de fenólicos totais, na atividade antioxidante e no rendimento de extração. As condições ótimas foram: 110 min, 20 °C e 34% de etanol. O extrato otimizado apresentou elevado teor de compostos fenólicos totais (4438,58±207,36 mg EAG/100 g) e o perfil fenólico revelou a presença de 16 compostos, destacando-se o ácido genticóico (619,48±4,94 mg/100g). O extrato apresentou elevada atividade antioxidante (140,26±3,03 µM TE/g) e ação antimicrobiana contra as cepas de *Salmonella Typhimurium* e *Listeria monocytogenes*. Diante disto, verifica-se que a otimização das condições de extração dos compostos bioativos do resíduo da acerola é satisfatória, uma vez que o extrato otimizado apresenta potencial antioxidante e ação antimicrobiana, tornando-se uma alternativa promissora para uso na indústria de alimentos, química e farmacêutica.

Palavras-chave: Acerola, antioxidante natural, compostos bioativos, superfície de resposta, resíduos agroindustriais.

Abstract: this study aimed to optimize the extraction conditions of the antioxidant compounds from acerola residue and to evaluate the bioactivity of the optimized extract. A central composite rotational design (DCCR) was used to evaluate the effect of three independent variables (time, temperature, and ethanol concentration) on the total phenolic content, antioxidant activity, and extraction yield. Optimum conditions were achieved as 110 min, 20 °C, and 34% ethanol. The optimized extract showed high content of total phenolic compounds (4438.58 ± 207.36 mg EAG / 100 g) and the phenolic profile revealed the presence of 16 compounds, especially gentisic acid (619.48 ± 4.94 mg / 100g). The extract showed high antioxidant activity (140.26 ± 3.03 μ M TE / g) and antimicrobial action against *Salmonella Typhimurium* and *Listeria monocytogenes* strains. In conclusion, it appears that the optimization of the extraction conditions of the bioactive compounds of acerola residue is satisfactory, since the optimized extract has antioxidant potential and antimicrobial action, making it a promising alternative for use in the food, chemical, and pharmaceutical industry.

Keywords: Acerola, agro-industrial residues, bioactive compounds, natural antioxidant, response surface methodology.

1 INTRODUÇÃO

A Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) estima que a produção global de alimentos deve aumentar em 60% até 2050, o que irá contribuir para uma maior geração de resíduos agroindustriais, tornando-se uma situação agravante para o meio ambiente (Leite et al., 2019). Os subprodutos gerados após o processamento de alimentos de origem vegetal têm sido caracterizados por apresentar considerável potencial antioxidante, em virtude do conteúdo de compostos fenólicos (Rezende et al., 2018; Silva et al., 2019). Desta forma, estratégias para o aproveitamento de resíduos agroindustriais são necessárias, sobretudo como alternativa para substituir os aditivos sintéticos aplicados em alimentos.

As sementes, grãos e bagaços oriundos do processamento de frutas estão sendo cada vez mais estudados em virtude da presença de substâncias com potencial de aplicação na indústria alimentícia (Gullón et al., 2018; Martínez-Patiño et al., 2019; Silva et al., 2019). Os compostos bioativos detectados nessas

partes do fruto e a preocupação por tecnologias ambientalmente corretas justificam o crescente interesse por resíduos oriundos do processamento de frutas (Willersinn et al., 2017).

A acerola (*Malpighia emarginata*) é uma fruta que contém substâncias bioativas importantes, tais como ácido ascórbico, flavonoides e antocianinas. Por ser uma fruta altamente perecível, a acerola é processada e comercializada na forma de polpa e suco clarificado, além de exportada como fruta congelada (Belwal et al., 2018). Após o processamento, o volume de resíduos gerados pode atingir até 40% do peso inicial da fruta. Estes subprodutos são frequentemente descartados ou subutilizados, causando prejuízos ambientais e econômicos (Nogueira et al., 2019).

Os resíduos gerados após o processamento da acerola (sementes e bagaço) podem conter concentrações de bioativos superiores à polpa, como visto em estudos recentes para o conteúdo dos compostos fenólicos e flavonoides totais (Rezende et al., 2018; Silva et al., 2019). Por isso, vários cientistas têm desenvolvido estratégias de aproveitamento dos resíduos agroindustriais da acerola visando a extração de substâncias bioativas (Belwal et al., 2018; Rezende et al., 2018; Silva et al., 2019).

Considerando-se os problemas associados à aplicação e consumo dos antioxidantes sintéticos, o desenvolvimento de extratos a partir do resíduo da acerola com máximo potencial antioxidante configura-se como uma alternativa interessante para a indústria de alimentos. Desta forma, objetivou-se otimizar o processo de extração e avaliar as propriedades bioativas do extrato do resíduo da acerola.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Coleta dos frutos

O resíduo da acerola foi obtido por doação da empresa de polpas de frutas localizada no município de Esperança-PB (coordenadas geográficas: 7°00'38.9" latitude sul, 35°51'17.5" Longitude oeste). Em seguida, as amostras foram transportadas para o Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de

Absorção Atômica (LCEAA) do PPGTA-UFPB e mantidos sob congelamento (-80 °C) até a utilização.

2.2. Obtenção do Extrato do Resíduo da Acerola

O resíduo da acerola foi submetido a secagem em estufa com circulação de ar a 55 °C por 24 horas (Crizel et al., 2015). Posteriormente, o resíduo foi triturado em moinho de facas tipo Willey (SL – 31, Solab, Piracicaba - SP, Brasil) e peneirado em malha de 10 mesh.

O extrato do resíduo da acerola (ERA) foi obtido a partir do processo de otimização de extração dos compostos com potencial antioxidante (Figura 1). Para a realização da otimização, foi utilizado um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) 2^3 com três variáveis independentes (concentração do solvente extrator, temperatura e tempo de extração), como mostrado na Tabela 1, totalizando 8 experimentos + 3 repetições do ponto central + configuração estrela (2x3), realizado em duplicata, totalizando 34 ensaios experimentais. Como variáveis resposta, foram avaliados o conteúdo de fenólicos totais, atividade antioxidante frente ao radical DPPH e rendimento da extração.

Figura 1. Fluxograma do processo de otimização do ERA.

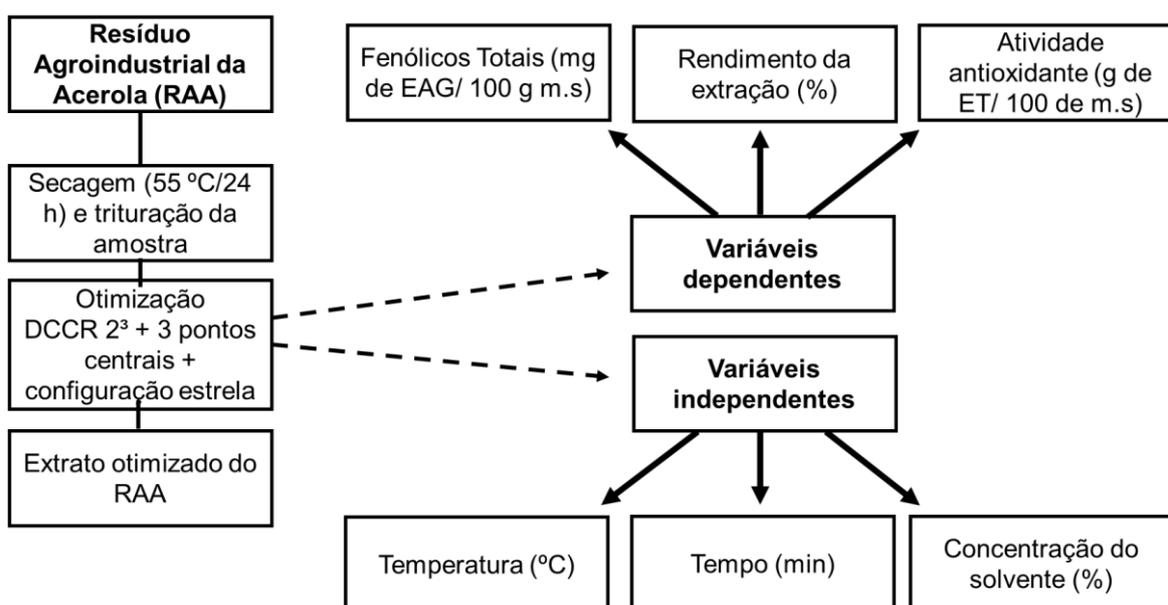


Tabela 1. Variáveis independentes e níveis do planejamento DCCR, para extração de compostos com potencial antioxidante do resíduo da acerola.

Fatores^a	-α	-1	0	+1	+α
Tempo (min)	10	30	60	90	110
Temperatura (°C)	20	30	45	60	70
Concentração do solvente (% v/v)	13	30	55	80	97

^aVariáveis independentes.

O extrato do resíduo da acerola foi obtido de acordo com as condições estabelecidas no delineamento experimental e a partir da mistura do resíduo desidratado e etanol na proporção de 1:10 (m/v). A mistura foi homogeneizada manualmente, centrifugada (8960 x G por 20 min a 10 °C) e filtrada. Após a obtenção do extrato nas condições ótimas, a fração etanólica da mistura foi removida sob pressão (180 mbar) em evaporador rotativo a 45 °C e o extrato foi armazenado em frasco âmbar a -80 °C até o momento das análises.

2.3 Caracterização do Extrato do Resíduo da Acerola (ERA) otimizado

Determinação do Rendimento do processo de extração (%)

O rendimento da extração foi determinado por gravimetria, pesando-se cerca de 5 g do extrato em cadinho de porcelana (tarado), seguido de secagem em estufa a $105,0 \pm 0,5$ °C até peso constante, conforme procedimento descrito por Prado et al. (2009).

Determinação de fenólicos totais

O teor de fenólicos totais foi determinado de acordo com o método descrito por Waterhouse (2006), utilizando-se o reagente Folin-Ciocalteu com leitura em espectrofotômetro digital (Espectrofotômetro digital- Biospectro[®], modelo Espectrofotômetro SP 220, Curitiba, Brasil) no comprimento de onda de 765 nm, utilizando-se o ácido gálico como padrão ($y=28,987x-0,2274$

e $R^2 = 0,9963$). Os resultados foram expressos em mg de ácido/100 g de amostra.

Determinação da atividade antioxidante (DPPH•) do ERA

A atividade antioxidante frente ao radical DPPH• (2,2-difenil-1-picrihidrazil) foi determinada conforme metodologia descrita por Fernandes et al. (2016) com leitura em espectrofotômetro a 515 nm. Os valores da atividade antioxidante foram expressos em equivalentes de Trolox por miligrama da amostra (mg TE/100 g de matéria seca).

Determinação de Antocianinas totais e flavonoides amarelos

O conteúdo de flavonoides amarelos e antocianinas totais foi determinado conforme o método descrito por Francis (1982), onde foi pesado 0,5 g da amostra e adicionado de 25 mL de solução com etanol 95% + HCL 1,5 mol/L (85:15, v/v), sendo mantida na ausência de luz sob refrigeração, por um período de 24 horas. O material foi filtrado e em seguida realizada a leitura em espectrofotômetro digital para antocianinas no comprimento de onda de 535 nm e em 374 nm para flavonoides. Os resultados foram expressos em mg 100 g⁻¹.

Determinação dos taninos totais e taninos condensados

O teor de taninos totais foi determinado de acordo com o método descrito por Makkar et al. (1993), considerando o princípio de determinação de fenólicos totais, segundo metodologia descrita por Waterhouse (2006), utilizando-se o reagente Folin-Ciocalteu com leitura em espectrofotômetro digital (Espectrofotômetro digital- Biospectro®, modelo Espectrofotômetro SP 220, Curitiba, Brasil) no comprimento de onda de 765 nm. Para quantificação dos taninos totais, foram homogeneizados em vortex 200 mg de Albumina Sérica Bovina, 1,0 mL de água destilada e 1,0 mL do extrato. Após agitação, os tubos foram mantidos em repouso a 4 °C por 15 minutos e em seguida centrifugados a 3000 g.min⁻¹ por 10 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi coletado e utilizado

para determinar o teor de fenólicos simples, utilizando-se uma curva padrão de ácido tânico e o conteúdo de taninos totais (mg EAT.100 g⁻¹ da amostra) foi calculado pela diferença entre fenólicos totais e fenólicos simples.

O teor de taninos condensados foi determinado conforme o método descrito por Porter et al. (1986), utilizando-se a mistura butanol-HCl. Alíquotas de 1,0 mL dos extrato foram homogeneizadas juntamente com 6,0 mL da mistura butanol-HCl e 0,2 mL de reagente férrico (NH₄Fe(SO₄)₂.12H₂O 2% em HCl 2 M) em vortex por 30 segundos e mantidos em repouso por 40 minutos em banho Maria a 95 °C. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 550 nm e a porcentagem de taninos condensados foi calculada através da Equação 1 descrita por Barman et al. (2017).

$$\%TC = \frac{A_{550} \times 78,26 \times F}{\%M.S} \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde,

%TC – Percentagem de taninos condensados

A₅₅₀ – Absorbância da amostra a 550 nm

F – Fator de diluição na medição espectrofotométrica

%M.S – Percentagem de matéria seca da amostra

Determinação do perfil de compostos fenólicos do ERA

O perfil de compostos fenólicos do ERA foi determinado em quadruplicada por meio de cromatografia líquida de alta eficiência equipada com coluna módulo de segurança LC-20 AT (Shimadzu Corporation, Japão), seguindo metodologia descrita por Prasad et al. (2009) e adaptada por Meireles (2017). A separação cromatográfica dos compostos foi realizada em uma coluna C18 (SUPELCOSIL™ LC-PAH, 250 mm x 4,6 mm ID, tamanho de partícula de 5 µm) (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA), utilizando uma eluição gradiente de (A) ácido acético a 2% em água (v/v) e (B) acetonitrila:metanol 2:1 (v/v). A taxa de fluxo e a temperatura da coluna foram mantidas em 1,0 mL.min⁻¹ e 40 °C, respectivamente, com volume de injeção de 20 µL e duração de 50 minutos para conclusão da corrida. Os picos dos componentes foram detectados a 280 nm. Realizou-se a calibração injetando os padrões três vezes em cinco diferentes

concentrações (0,05, 0,1, 0,25, 0,5 e 1,0 mg.mL⁻¹). Cada composto fenólico foi identificado por interpretação do espectro UV, tempo de retenção e comparação cromatográfica (co-injeção) com padrões autênticos da Sigma Aldrich®. A quantificação dos fenólicos baseou-se nas áreas de pico de cada composto, detectadas por meio do software LabSolutions versão 5.42 SP4 Copyright (Shimadzu Corporation) versus curvas de calibração pré-determinadas.

Determinação da atividade antimicrobiana do ERA

A atividade antimicrobiana do ERA foi avaliada pelo método de difusão em disco de acordo com a metodologia descrita por Silveira et al. (2009), com modificações. Os inóculos bacterianos foram distribuídos em placas de petri contendo Ágar Mueller-Hinton e discos de 6 mm de diâmetro foram colocados sobre a superfície das placas e embebidos com 10 µL do ERA nas diluições em água de 10, 25, 50, 75 e 100%. Foi utilizado 10 µL do controle positivo (antibiótico Norfloxacino 20 mg.ml⁻¹) e 10 µL do negativo (água esterilizada). Os halos de inibição formados ao redor dos discos foram medidos com auxílio de um paquímetro digital, sendo considerado com potencial antimicrobiano as diluições que apresentaram halo de inibição ≥ 7 mm (sete milímetros) (Araújo et al., 2011). Foram testadas 7 cepas bacterianas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 15000), *Clostridium perfringens* (ATCC 3624), *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serovar *Typhimurium* (ATCC 14028), *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Listeria monocytogenes* (ATCC 19117), *Listeria innocua* (ATCC 33090) e *Escherichia coli* (ATCC 101536), as quais foram obtidas da Coleção de Microrganismos de Referência em Vigilância Sanitária-CMRVS, FIOCRUZ-INCQS (FIOCRUZ, Rio de Janeiro-RJ, Brasil).

2.3. Análise estatística

Para avaliar a otimização do processo de extração do extrato do resíduo da acerola, a análise estatística foi conduzida utilizando-se o Software Statistica, versão 6.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, EUA). As respostas foram avaliadas através da Análise de Variância (ANOVA) a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Otimização da extração dos compostos antioxidantes

Os valores médios das variáveis resposta testados em todas as condições estão expressos na Tabela 2. Verificou-se que os ensaios 2 e 4 apresentaram os maiores valores de atividade antioxidante (3,95 e 3,94 g TE.g⁻¹ ms, respectivamente). Os maiores conteúdos de fenólicos totais (3414,10 e 3368,48 mg EAG.100 g⁻¹ ms) foram notados nos ensaios 3 e 5, respectivamente. O ERA obtido no experimento 14 apresentou a menor atividade antioxidante frente ao radical DPPH (2,42 g TE.g⁻¹ ms), teor de compostos fenólicos totais de 2827,08 mg EAG.100 g⁻¹ ms e rendimento da extração igual a 23,06%. Os ensaios 2 e 5 apresentaram os maiores rendimentos de extração (35,56 e 34,39%, respectivamente).

Tabela 2. Níveis e resultados das variáveis respostas do planejamento fatorial 2³+3 repetições do ponto central configuração estrela (2×3) para obtenção de extrato do resíduo da acerola.

Ensaio	X1	X2	X3	Y1	Y2	Y3
1	-1(30)	-1(30)	-1(30)	3292,34	2901,73	33,54
2	-1(30)	-1(30)	+1(80)	3299,49	3947,61	35,56
3	-1(30)	+1(60)	-1(30)	3414,10	2698,33	28,36
4	-1(30)	+1(60)	+1(80)	3173,90	3935,49	28,85
5	+1(90)	-1(30)	-1(30)	3368,48	3003,63	34,39
6	+1(90)	-1(30)	+1(80)	3291,39	3851,95	28,52
7	+1(90)	+1(60)	-1(30)	3192,06	2698,20	32,02
8	+1(90)	+1(60)	+1(80)	3153,82	3594,35	27,72
9	-α(10)	0(45)	0(55)	3261,79	2999,54	31,21
10	+α(110)	0(45)	0(55)	3115,77	2895,97	31,61
11	0(60)	-α(20)	0(55)	3302,51	3397,31	29,10
12	0(60)	+α(70)	0(55)	3265,03	2642,59	32,79
13	0(60)	0(45)	-α(13)	3243,21	3067,16	31,52
14	0(60)	0(45)	+α(97)	2827,08	2420,40	23,06
15	0(60)	0(45)	0(55)	3234,43	2989,71	30,82
16	0(60)	0(45)	0(55)	3212,83	2925,67	31,91

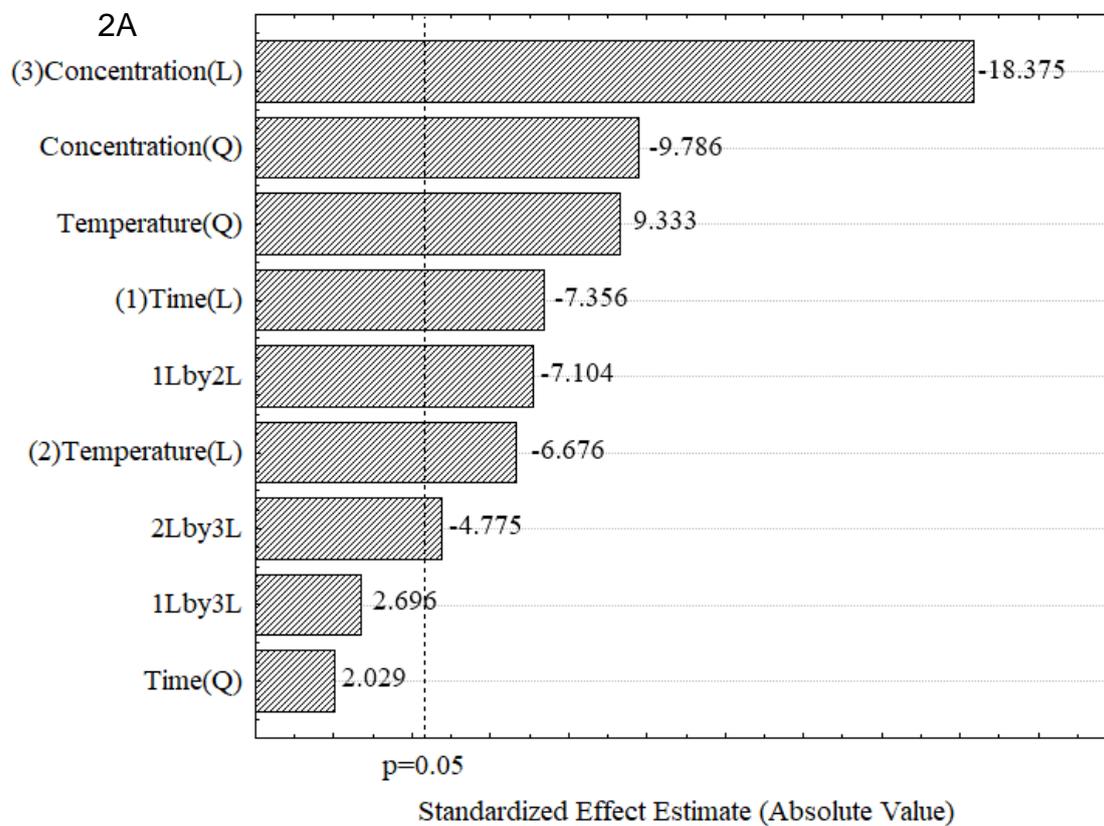
17	0(60)	0(45)	0(55)	3242,73	2904,46	31,08
----	-------	-------	-------	---------	---------	-------

X1: Tempo de extração (min); X2: Temperatura de extração (°C); X3: Concentração do etanol (%v/v); Y1: Compostos Fenólicos (mg EAG/100 g de ms); Y2: Atividade Antioxidante (mg TE/100g ms); Y3: Rendimento de Extração (%).

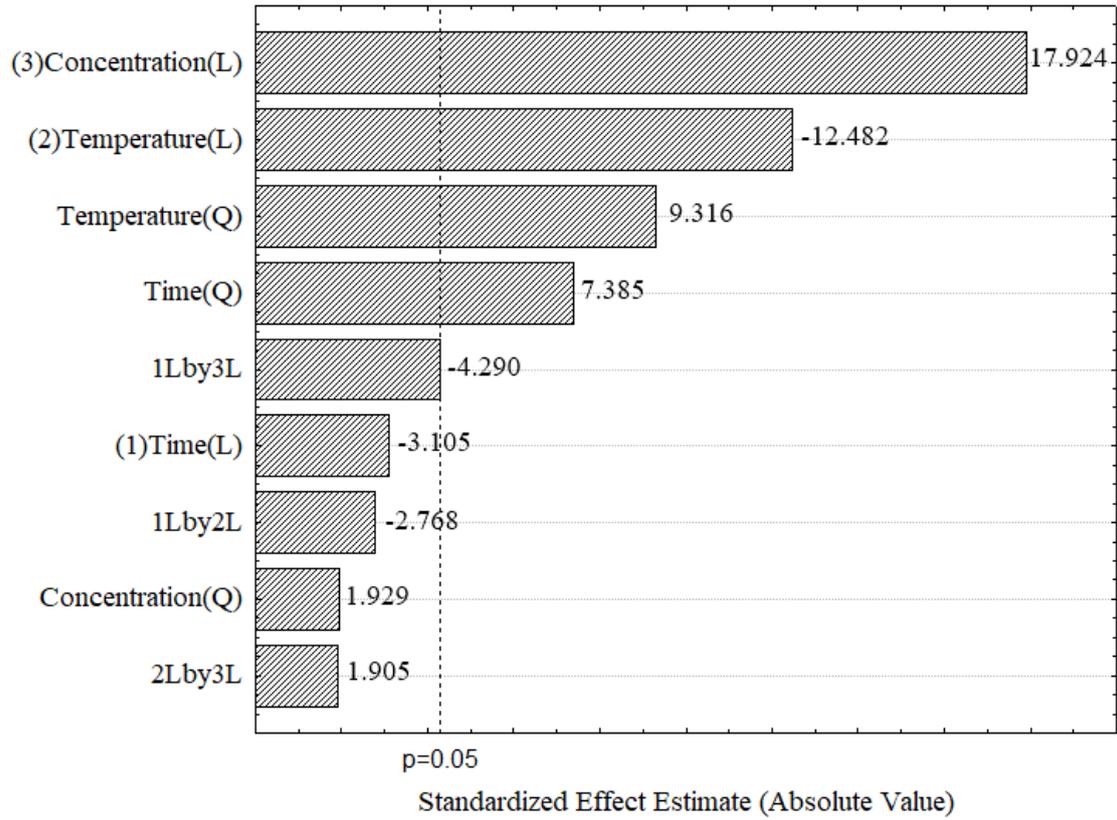
De acordo com os resultados, foi possível observar através do diagrama de Pareto (Figura 2) que os efeitos principais de cada variável testada foram mais importantes do que as interações. A concentração da solução extratora exerceu efeito positivo na atividade antioxidante (Figura 2B) e negativo no conteúdo de compostos fenólicos (Figura 2A) e no rendimento da extração (Figura 2C). A temperatura de extração teve efeito negativo nos valores de fenólicos totais e da atividade antioxidante. O tempo de extração afetou o teor de compostos fenólicos (linear) de modo inversamente proporcional e a atividade antioxidante (quadrática), sendo este diretamente proporcional.

A concentração da solução extratora foi o fator que mais influenciou no conteúdo de compostos fenólicos, atividade antioxidante e rendimento da extração. De acordo com a Figura 2, o aumento da concentração de etanol na solução extratora em níveis próximos de 100% apresentou efeito negativo no conteúdo de fenólicos totais do ERA, sugerindo que a maior parte dos compostos fenólicos do resíduo de acerola apresenta características hidrofílicas. De fato, Vieira et al. (2011) ao avaliar os compostos bioativos de polpas tropicais constataram que a acerola apresentou maior conteúdo de compostos fenólicos quando estes foram extraídos com água do que quando extraídos com solução hidroetanólica. Portanto, a influência da concentração de etanol no rendimento da extração das substâncias bioativas pode ser associada à polaridade dos compostos fenólicos do extrato (Köprü et al., 2019). A temperatura de extração teve influência nas respostas avaliadas, de modo que o aumento da temperatura possibilitou maior conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante. O aumento do tempo de extração proporcionou maior atividade antioxidante, no entanto, conferiu uma redução dos compostos fenólicos do ERA.

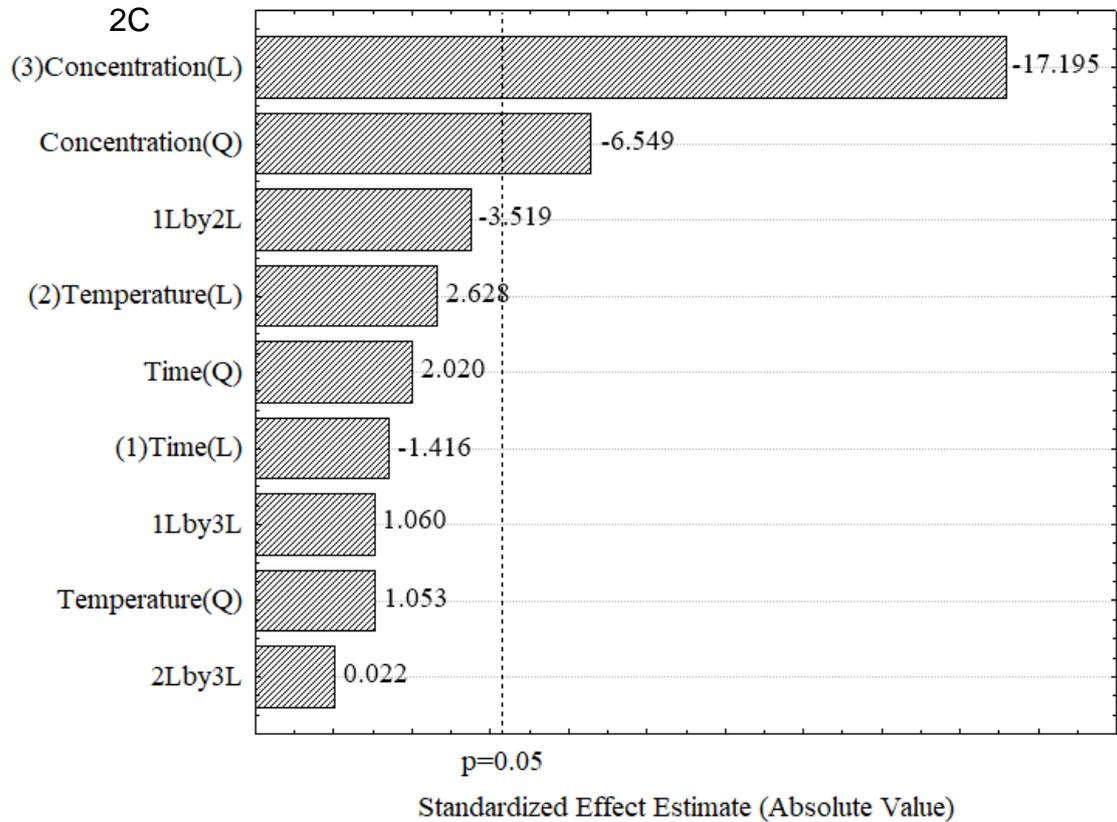
Figura 2. Gráfico de Pareto do teor de Compostos Fenólicos (2A), Atividade Antioxidante (2B) e Rendimento de Extração (2C).



2B



2C



Considerando-se apenas os termos significativos, as regressões propostas do modelo matemático para o conteúdo de compostos fenólicos (Y_1 , $R^2 = 0,7178$), atividade antioxidante (Y_2 , $R^2 = 0,3562$) e rendimento da extração (Y_3 , $R^2 = 0,9032$) são representadas pelas equações 3, 4 e 5:

$$Y_1 = 3223,059 - 30,728X_1 - 27,886X_2 + 42,910X_2^2 - 76,755X_3 - 44,991X_3^2 - 38,770X_1X_2 - 26,062X_2X_3$$

(Eq. 3)

$$Y_2 = 2,912 + 0,098X_1^2 - 0,150X_2 + 0,123X_2^2 + 0,215X_3 \quad (\text{Eq. 4})$$

$$Y_3 = 31,184 - 2,657X_3 - 1,114X_3^2 \quad (\text{Eq. 5})$$

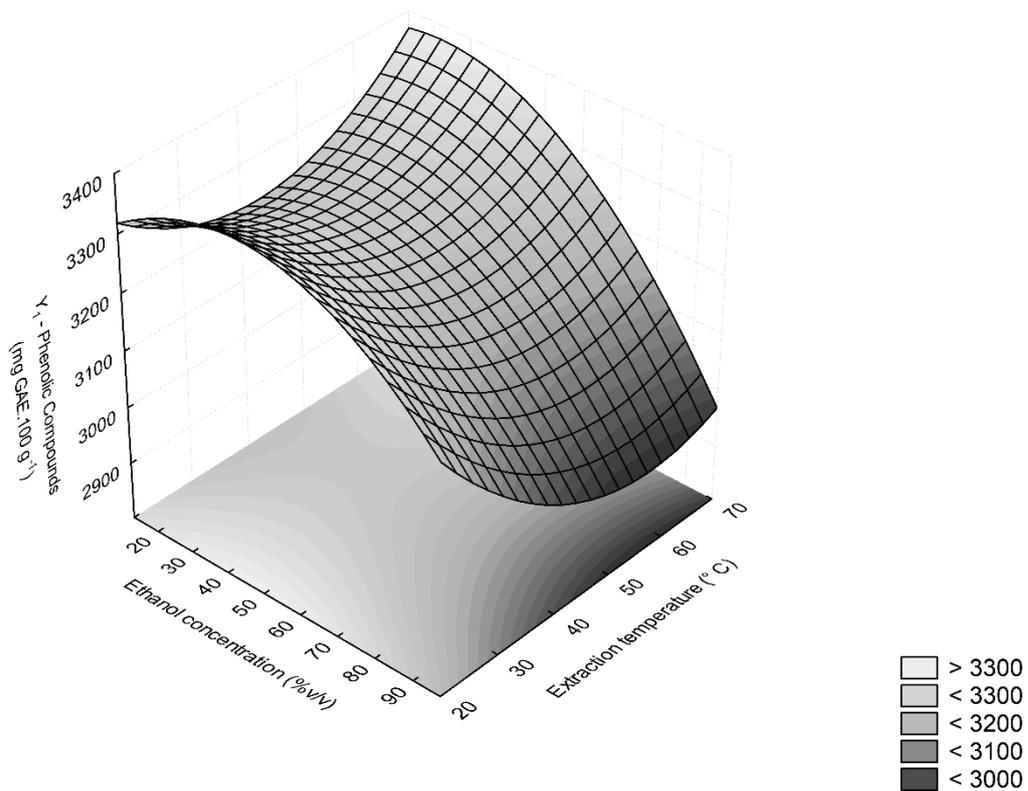
Os gráficos de superfície de resposta (Figura 3), em função de cada uma das variáveis, foram gerados a partir das equações 3, 4 e 5. Observou-se na figura 3A que a temperatura e concentração de etanol foram os fatores mais influentes na extração dos compostos fenólicos. Verificou-se as maiores extrações de compostos fenólicos ocorrerem numa concentração de etanol de 20 a 30% quando a temperatura estava próxima de 20 °C, este mesmo fato foi observado na temperatura entre 60 a 70 °C, na mesma concentração. Rezende et al., (2017) obtiveram menor conteúdo de compostos fenólicos (1068 ± 3 mg EAG/100g) utilizando concentração de etanol de 46,49% (concentração ótima).

Na figura 3B, observou-se que a maior atividade antioxidante foi apresentada pelo tratamento que usou temperatura de extração em torno de 30 °C e concentração de etanol de 80%. Este resultado foi semelhante ao de Rezende et al. (2017) que obtiveram maior atividade antioxidante do resíduo da acerola, frente ao radical DPPH, numa concentração de 79,4% de etanol.

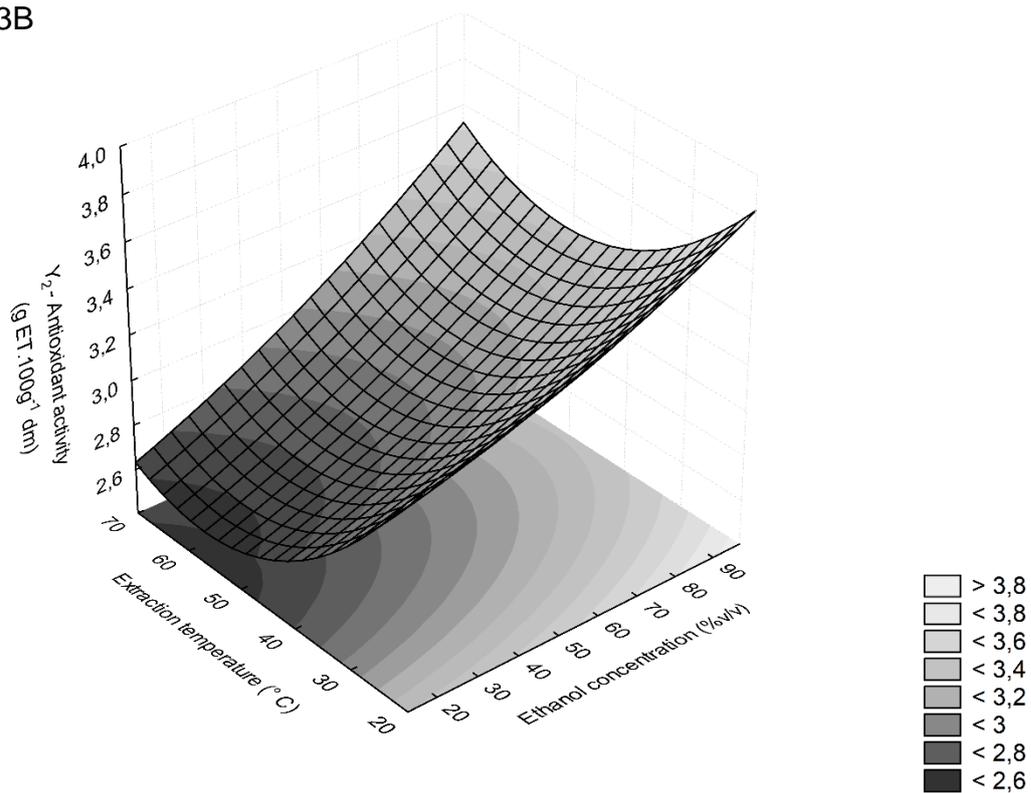
O maior rendimento do extrato foi obtido em temperatura de 50 a 70 °C e na concentração de 30 a 50% de etanol, como mostra a figura 3C. Em pesquisa similar, Rezende et al. (2017) obtiveram maior rendimento do extrato do resíduo da acerola com 46,49% de etanol.

Figura 3. Superfícies de resposta geradas para as variáveis resposta: Compostos Fenólicos (3A), Atividade Antioxidante (3B) e Rendimento de Extração (3C).

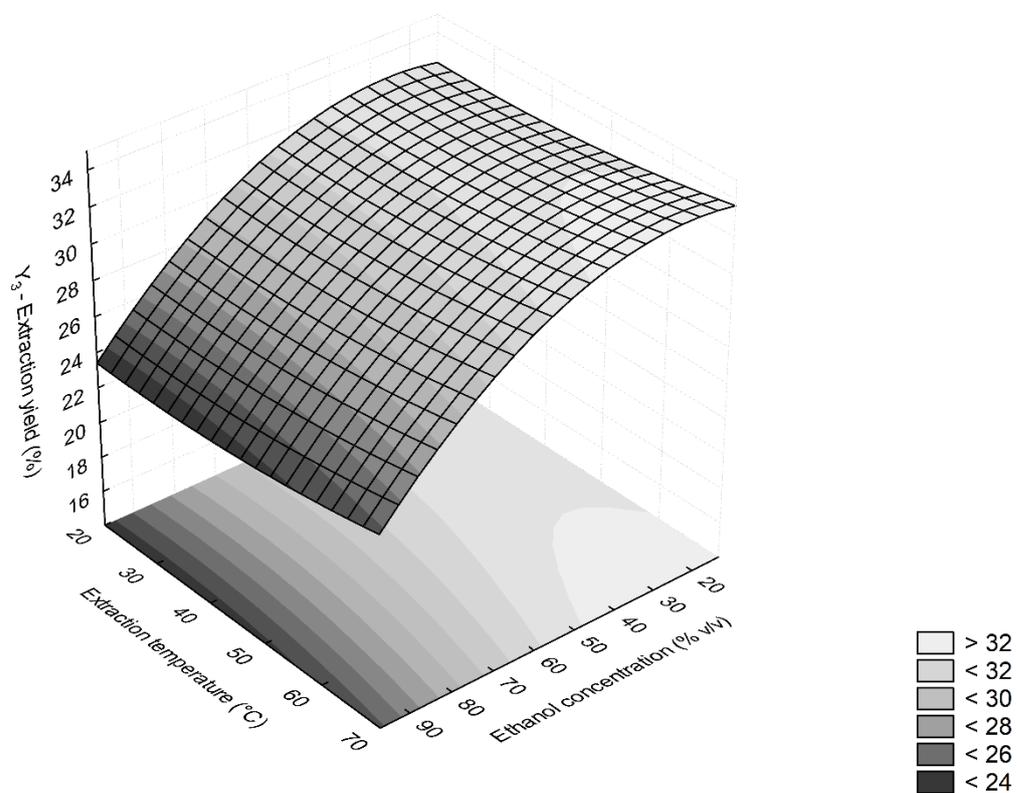
3A



3B



3C

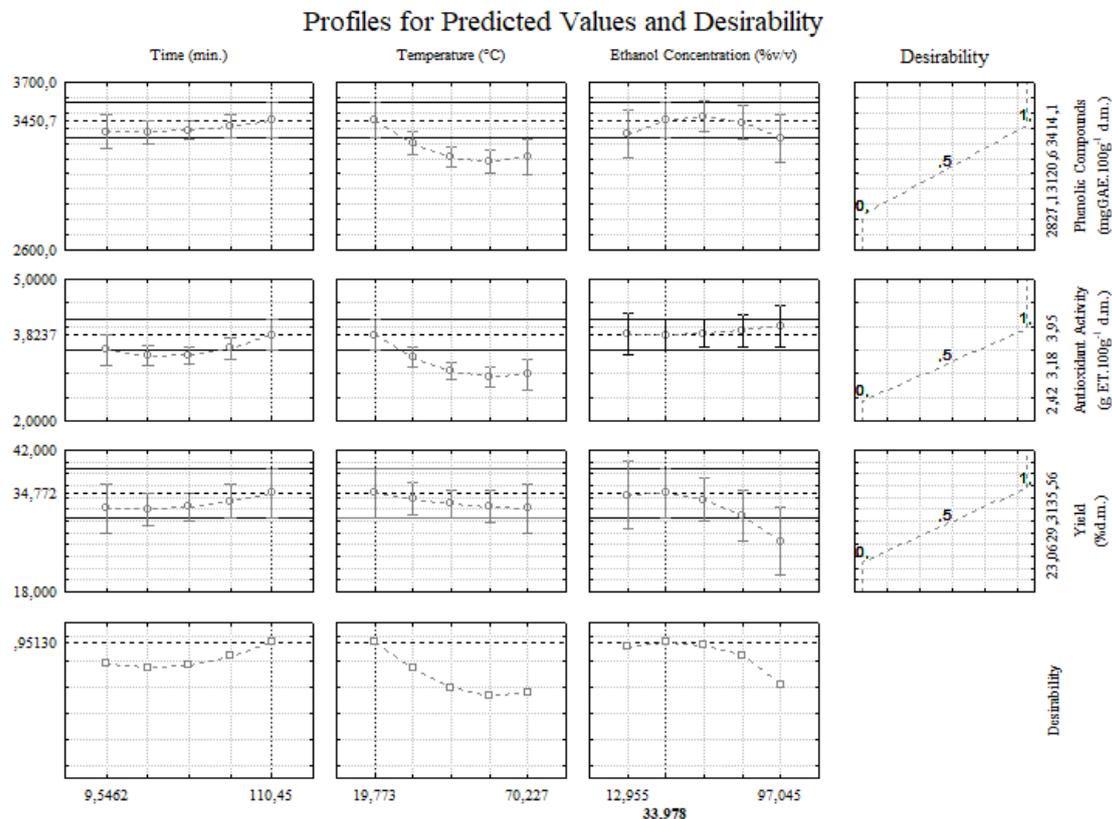


3.2 Validação do modelo matemático

Dentre as variáveis independentes testadas, a concentração da solução e a temperatura de extração foram os fatores mais importantes que tiveram efeito nos resultados das respostas analisadas. No entanto, considerando-se o número de respostas avaliadas, pôde-se notar que a influência das variáveis independentes apresenta elevada variabilidade. Por isso, utilizou-se a ferramenta de desejabilidade (Derringer e Suich, 1980) para determinar as condições ótimas de extração para a obtenção do ERA com melhor rendimento e maiores concentrações de compostos fenólicos e atividade antioxidante.

A partir da função de desejabilidade (Figura 4), utilizou-se as equações 3, 4 e 5, para verificar as condições ótimas de extração dos parâmetros testados, as quais corresponderam a um tempo de 110 min, temperatura de 20 °C e uma concentração de etanol de 34%. Esta função relaciona-se à uma otimização numérica, a partir da observação de várias respostas sobre a qualidade de um produto ou processo, a fim de obter uma única resposta de modo que satisfaça todas as restrições cabíveis ao produto ou processo (Rezende et al., 2017). Diante disto, observou-se que a desejabilidade apresentou valor próximo a 1 (0,95130) o que pode ser considerado como aceitável e excelente, de acordo com a escala de desejabilidade de Akhanazarova e Kafarov (1982).

Figura 4. Resultado dos valores preditos e desejabilidade para o conteúdo de compostos fenólicos, atividade antioxidante e rendimento de extração do extrato do ERA.



O modelo matemático utilizado estimou valores para o teor de compostos fenólicos de 3450,70 mg de EAG/100 g de ms, atividade antioxidante 3,82 g TE/g ms e rendimento de 34,77%. Para validar o modelo, foram realizadas três extrações e procedidas as determinações do teor de compostos fenólicos, atividade antioxidante e rendimento da extração. O resultado médio da atividade antioxidante e rendimento da extração foram de 3,51 g TE/g ms e 30,65%, respectivamente, cujos valores não diferiram dos valores preditos, validando assim o modelo. No entanto, o conteúdo de fenólicos totais foi de 4438,58 mg de EAG/100 g de ms, resultado este que diferiu do predito através do modelo matemático ($p < 0,05$), não concedendo a sua validação. Este resultado comprovou que o modelo foi efetivo para validar as condições ótimas de maior atividade antioxidante e rendimento de extração, no entanto, mostra que o modelo não foi efetivo para validação do conteúdo de compostos fenólicos. É fato que quando se avaliam diferentes variáveis dependentes e independentes no processo de otimização, há grande risco de não haver uma boa compatibilidade dos resultados.

3.3 Compostos bioativos e perfil fenólico do extrato otimizado

Os resultados da quantificação dos compostos bioativos e da atividade antioxidante do extrato do resíduo da acerola obtido nas condições ótimas encontram-se dispostos na Tabela 3.

Tabela 3. Resultado da quantificação dos compostos bioativos do ERA otimizado.

Parâmetro	ERA otimizado
FA (g /100 g)	336,30±14,67
AT (g /100 g)	57,86±0,98
TT (mg EAT/100 g)	34,51±2,71
TC (%)	19,85±3,57
FT (mg EAG/100 g)	4438,58±207,36
AA (mg TE/100 g)	3510±75,95

FA=flavonoides amarelos; AT=antocianinas totais; TT=taninos totais; TC=taninos condensados; FT=fenólicos totais; AA=atividade antioxidante frente ao radical DPPH.

O extrato do resíduo da acerola apresentou quantidades significativas de substâncias biologicamente ativas, com alto teor de flavonoides amarelos e de antocianinas. A presença de flavonoides também foi detectada no perfil fenólico do extrato otimizado (Tabela 4), onde os principais compostos foram a catequina, rutina e miricetina. Tais substâncias são de fundamental interesse para indústria farmacêutica e de alimentos, pois apresentam propriedades benéficas à saúde, como atividade antioxidante e hepatoprotetora (Marques et al., 2018a). Corroborando com estes resultados, Rezende et al. (2018) encontraram quantidades significativas de flavonoides (226,53 a 551,50 mg/100g) e antocianinas (2,00 a 11,16 mg/100g) no extrato do resíduo da acerola, sendo estas concentrações superiores à polpa.

O extrato obtido nas condições otimizadas apresentou considerável concentração de taninos totais (34,51 mg EAT/100g), dos quais 19,85% corresponderam a taninos condensados. Os taninos são classificados em taninos hidrolisáveis, constituídos por moléculas com um poliol (D-glicose, como ácido gálico) e taninos condensados/proantocianidinas (grupo de bioflavonóides polifenólicos de ocorrência natural, como a catequina) (Kumari & Jain, 2012). Estes compostos apresentam atividades biológicas benéficas à saúde, atuando

como antioxidantes, anti-inflamatórios e antimutagênicos, devido a sua capacidade de inibir a ação dos radicais livres e ativar enzimas antioxidantes (Kumari & Jain, 2012). Nóbrega et al. (2015) encontraram valores superiores para o conteúdo de taninos condensados (1382,5 mg EAT/100g) no resíduo fresco da acerola.

O teor de fenólicos totais do extrato do resíduo da acerola obtido nas condições ótimas de extração (utilizando 34% de etanol, por 110 min a 20 °C) foi de 4438,58 mg EAG/100g. Os resultados encontrados em nosso experimento foram menores do que os reportados por Paz et al. (2015) em polpa seca de acerola (12466 mg de EAG/ 100 g), mas foram maiores do que o teor de fenólicos totais encontrado por Nogueira et al. (2019) no resíduo fresco da acerola (1505,21 mg EAG/100g). Estudos mostram que as diferenças no conteúdo de fenólicos está associada a diferentes fatores como cultivar, estação da colheita, maturidade do fruto, método de secagem e de extração desses compostos (Belwal et al., 2018; Nogueira et al., 2019; Silva et al., 2019).

O extrato do resíduo da acerola apresentou elevado potencial antioxidante ($3,51 \pm 0,08$ g TE/ g de matéria seca) frente ao radical DPPH•. Os resultados sugerem que os compostos antioxidantes presentes no ERA foram capazes estabilizar o radical DPPH• através da doação de um átomo de hidrogênio. Este fenômeno pode ser associado a presença de ácidos fenólicos e flavonoides amarelos, os quais são relatados como os principais metabólitos com ação sequestrante de radicais livres em vegetais (Koolen et al., 2013). Segundo Karamac et al. (2005), os ácidos gentísico e gálico apresentam forte capacidade antiradical. De fato, o ácido gentísico foi o composto fenólico encontrado em maior concentração no extrato obtido nas condições otimizadas (Tabela 4). Os resultados de atividade antioxidante frente ao radical DPPH• encontrados em nosso experimento foram próximos aos reportados por Paz et al. (2015) em polpa seca de acerola ($3,99 \pm 15$ g TE/100 g), o que mostra que o resíduo apresenta atividade antioxidante similar à polpa.

O resultado do perfil de fenólicos do ERA identificado por CLAE encontra-se disposto na Tabela 4. A amostra analisada apresentou 1953,63 mg de compostos fenólicos totais por 100 g da matéria seca. Ao total, foram identificados dezesseis (16) compostos fenólicos, sendo representados por ácidos fenólicos (10) e flavonoides (6).

Tabela 4. Perfil fenólico dos principais compostos presentes no ERA.

Composto fenólico	mg/100 g ms*
Ácidos Fenólicos	
<i>Ácidos hidroxibenzoicos</i>	
Ácido Gentístico	619,48±4,94
Ácido Salicílico	447,76±2,12
Ácido Protocatecuico	387,86±4,94
Ácido Gálico	35,94±3,74
Ácido Vanílico	10,65±0,58
Ácido Siríngico	2,50±2,12
<i>Ácidos hidroxicinâmicos</i>	
Ácido Cafeico	22,30±0,58
Ácido Ferúlico	5,99±1,41
Ácido <i>p</i> -Cumárico	2,33±0,57
Ácido trans cinâmico	1,00±0,00
Total de Ácidos Fenólicos	1535,82±235,84
Flavonoides	
Catequina	299,01±20,47
Rutina	96,84±1,41
Miricetina	11,98±0,10
Crisina	5,99±0,00
Quercetina	2,00±0,00
Hespertina	1,10±0,00
Total de Flavonoides	417,81±118,22
Conteúdo de Compostos Fenólicos	1953,63±354,06

*mg/100 g de matéria-seca. Resultado expresso em média ± desvio padrão.

Os ácidos fenólicos encontrados representaram a maior parte dos fenólicos totais do extrato (78,6%), com destaque para os ácidos gentísico (31,7%), salicílico (22,9%) e protocatecuico (19,8%). Outros ácidos como o *p*-cumárico, siríngico, gálico, trans cinâmico, vanílico, ferúlico e caféico foram identificados em menor proporção. Os ácidos fenólicos são sintetizados através do metabolismo secundário das plantas pela via fenilpropanoide, que utiliza o

aminoácido fenilalanina como substrato, convertendo-o em derivados do ácido *p*-hidroxibenzoico (ácido gentísico, salicílico, protocatecuico, gálico, vanílico, siríngico) ou do ácido *p*-cinâmico (ácido cafeico, ferúlico, *p*-cumárico, trans cinâmico) (Spagnol et al., 2019).

O ácido gentísico, composto fenólico majoritário detectado no ERA, tem sido associado com propriedades farmacológicas variadas, apresentando atividade neuroprotetora (Kabra et al., 2014), anticarcinogênica e quimioprotetora (Altinoz et al., 2018), além de antioxidante (Sharma et al., 2004). O ácido salicílico é um composto fenólico que pode agir como molécula mensageira para estimular a síntese de metabólitos secundários (Hadizadeh et al., 2019), e desta forma, tem sido bastante utilizado para induzir a formação de compostos bioativos em plantas (Tajik et al., 2019). O ácido protocatecuico é um composto que apresenta propriedades antinociceptivas (Arslan et al., 2018), antibacterianas (Chai et al., 2019), neuroprotetoras (Gallardo-Fernández et al., 2019; Krzysztoforska et al., 2019) e antidepressivas (Orzelska-Górka et al., 2019). Embora detectados em menor quantidade no ERA, os ácidos cafeico, gálico e *p*-cumárico têm sido relatados como efetivos antioxidantes naturais em sistemas alimentícios (Kannan et al., 2013; Spagnol et al., 2019).

O ERA também apresentou quantidades significativas de flavonoides, correspondendo a 21,4% do total de fenólicos do extrato. Foi possível notar que o extrato apresentou maior concentração de catequina, seguida da rutina. A miricetina, quercetina, hespertina e crisina foram identificados em menor proporção no ERA. Os flavonoides são compostos fenólicos que possuem dois anéis aromáticos ligados por uma ponte de três átomos de carbono, proveniente das duas vias biossintéticas do ácido chiquímico e do acetato via ácido malônico, resultando na formação de grandes classes de flavonóides, como flavonóis, flavonas, flavanonas, flavanóis (catequinas), isoflavonas e antocianidinas (Angelo e Jorge, 2007).

Pesquisas recentes mostram que a catequina tem ação contra a obesidade, capacidade de reduzir gordura (Jiang et al., 2019) e atividade antibacteriana (Ma et al., 2019). A rutina, detectada em alta concentração nas amostras de ERA, apresenta ação hepatoprotetora (Caglayan et al., 2019), atua na prevenção de hipertrigliceridemia e inflamação (Manzoni et al., 2019), além

de melhorar as propriedades físicas de filmes à base de isolados de proteína de soja (Friesen et al., 2015).

Os resultados deste trabalho corroboram com os reportados por Marques et al. (2018b), que também detectaram a presença dos ácidos gálico, siríngico e p-cumárico, além de catequina e quercetina nos extratos aquosos e metanólicos do resíduo da acerola. Do mesmo modo, Nogueira et al. (2019) constataram a presença de ácido gálico, ácido cafeico, ácido p-cumárico e rutina em extrato metanólico do resíduo da acerola.

Os compostos fenólicos presentes no resíduo da acerola também têm sido associados com propriedades relacionadas a ação inibitória sobre enzimas digestivas o que pode auxiliar no tratamento da obesidade, comorbidades associadas e no controle do diabetes tipo 2 (Marques et al., 2016), ação antioxidante e antimicrobiana (Marques et al., 2017), dentre outras. Portanto, o extrato obtido do resíduo da acerola pode ser utilizado por diversos setores econômicos como a indústria farmacêutica, de cosméticos e de alimentos.

Atividade antimicrobiana do ERA

Os resultados da atividade antimicrobiana do ERA encontram-se dispostos na Tabela 5. A concentração testada do ERA mostrou atividade antimicrobiana limitada frente aos microrganismos avaliados. Das cepas testadas, o extrato apresentou zona de inibição para *Salmonella typhimurium*, com halo de 8,15 e 7,04 mm nas concentrações de 25 e 50%, respectivamente. Na concentração de 100%, o extrato formou halo de inibição de 7,85 mm para *Listeria monocytogenes*. O controle positivo (antibiótico norfloxacino) apresentou halo de inibição para todos os microrganismos investigados, com valores que variaram de 24,74 a 38,11 mm.

Tabela 5. Resultado da atividade antimicrobiana pelo teste de difusão em disco do ERA.

	Concentração do extrato (%)						
	10	25	50	75	100	CP	CN
SA	-	-	-	-	-	26,62±3,43	-
ST	-	8,15±0,92	7,04±1,39	-	-	24,74±1,07	-
CP	-	-	-	-	-	38,11±1,15	-
EC	-	-	-	-	-	32,84±2,57	-
LM	-	-	-	-	7,85±0,25	28,25±0,66	-
LI	-	-	-	-	-	31,79±0,88	-
BC	-	-	-	-	-	34,48±1,26	-

SA= *Staphylococcus aureus*; ST= *Salmonella typhimurium*; CP= *Clostridium perfringens*; EC= *Escherichia coli*; LM= *Listeria monocytogenes*; *Listeria innocua*; BC= *Bacillus cereus*; CP = Controle Positivo: Antibiótico Norfloxacino. CN = Controle Negativo: Água destilada estéril. -: não apresentou halo de inibição. Resultado expresso em média ± desvio padrão.

O efeito antimicrobiano dos extratos antioxidantes é influenciado pela composição do extrato e pelo tipo de microrganismo a ser inibido. A elevada concentração de compostos fenólicos do ERA explica a ação antimicrobiana notada em grupos de microrganismos específicos. Neste experimento, a maior proporção de ácidos fenólicos observada no ERA pode estar associada com a formação de maior halo de inibição para *Listeria monocytogenes*. De fato, segundo Wen et al. (2003), os ácidos cinâmicos apresentam forte atividade antilisterial.

Paz et al. (2015) verificaram a formação de zona de inibição de 13,0 mm contra *Listeria monocytogenes* com o uso de extrato da polpa de acerola como agente antimicrobiano. Do mesmo modo, Marques et al. (2017) verificaram ação antimicrobiana do extrato do bagaço da acerola contra *Listeria monocytogenes* com formação de halo de inibição de 7,5 mm. Motohashi et al. (2004) também reportaram atividade antimicrobiana do extrato da polpa liofilizada de acerola contra *Salmonella epidermidis*.

4 CONCLUSÕES

A otimização do processo de extração dos compostos bioativos do resíduo da acerola pode ser considerada eficiente, uma vez que o extrato otimizado

apresentou elevado conteúdo de substâncias com ação antioxidante e antimicrobiana, como flavonoides e ácidos fenólicos. Para se obter o máximo conteúdo de fenólicos totais e a maior atividade antioxidante e rendimento, a extração deve ser realizada utilizando-se 34% de etanol por 110 minutos a 20 °C. De acordo com os resultados, pode-se concluir que o resíduo agroindustrial da acerola é uma boa fonte para produção de aditivos alimentares, considerando-se a elevada concentração de compostos bioativos.

5 REFERÊNCIAS

Akhanazarova, S., Kafarov, V. (1982). **Experiment optimization in chemistry and chemical engineering**. Moscow: Mir Publishers.

Altinoz, M. A., Elmaci, I., Cengiz, S., Emekli-Alturfan, E., Ozpinar, A. (2018). From epidemiology to treatment: Aspirin's prevention of brain and breast-cancer and cardioprotection may associate with its metabolite gentisic acid. **Chemico-Biological Interactions**, n.291, p.29-39.

Angelo, P. M., Jorge, N. (2007). Compostos fenólicos em alimentos-uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v.66, n.1, p.01-09.

Araújo, Y.L.F.M., Mendonça, L.S., Orellana, S.C., Araujo, E.D. (2011). Comparação entre duas técnicas utilizadas no teste de sensibilidade antibacteriana do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha. **Scientia Plena**, v. 7, n. 4.

Arslan, R., Aydin, S., Samur, D. N., Bektas, N. (2018). The possible mechanisms of protocatechuic acid-induced central analgesia. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v.26, n.4, p.541-545.

Barman, K., Dubey, D. K., Tandon, M., Thirumeignanam, D., Rai, S. N. (2017). **Tannin Estimation**. Disponível em: <<http://pt.scribd.com/doc/43638556/6506867-TanninAssay>>. Acesso em: 17 de setembro de 2019.

Belwal, T., Devkota, H. P., Hassan, H. A., Ahluwalia, S., Ramadan, M. F., Mocan, A., Atanasov, A. G. (2018). Phytopharmacology of Acerola (*Malpighia* spp.) and its potential as functional food. **Trends in Food Science & Technology**, v.74, p.99-106.

Caglayan, C., Kandemir, F. M., Darendelioğlu, E., Yıldırım, S., Kucukler, S., Dortbudak, M. B. (2019). Rutin ameliorates mercuric chloride-induced hepatotoxicity in rats via interfering with oxidative stress, inflammation and apoptosis. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v.56, p.60-68.

Chai, B., Jiang, W., Hu, M., Wu, Y., Si, H. (2019). In vitro synergistic interactions of Protocatechuic acid and Chlorogenic acid in combination with antibiotics against animal pathogens. **Synergy**, p.100055.

Crizel, T. M., Rios, A. O., Thys, R. C. S., & Flôres, S. H. (2015). Effects of orange byproduct fiber incorporation on the functional and technological properties of pasta. **Food Science and Technology**, v.35, n.3, p.546-551.

Derringer, G., Suich, R. (1980). Simultaneous optimization of several response variables. **Journal of Quality Technology**, v.12, p.214–219.

Fernandes, R.P.P., Trindade, M.A., Tonin, F.G., Lima, C.G., Pugine, S. M.P., Munekata, P.E.S., Melo, M.P. (2016). Evaluation of antioxidant capacity of 13 plant extracts by three different methods: cluster analyses applied for selection of the natural extracts with higher antioxidant capacity to replace synthetic antioxidant in lamb burgers. **Journal of food science and technology**, v. 53, n.1, p.451-460.

Francis, F. J. (1982). Analysis of anthocyanins. **Anthocyanins as food colors**, v.1, p. 280.

Friesen, K., Chang, C., Nickerson, M. (2015). Incorporation of phenolic compounds, rutin and epicatechin, into soy protein isolate films: Mechanical, barrier and cross-linking properties. **Food chemistry**, v.172, p.18-23.

Gallardo-Fernández, M., Hornedo-Ortega, R., Cerezo, A. B., Troncoso, A. M., García-Parrilla, M. C. (2019). Melatonin, protocatechuic acid and hydroxytyrosol effects on vitagenes system against alpha-synuclein toxicity. **Food and Chemical Toxicology**, p.110817.

Gullón, B., Gullón, P., Eibes, G., Cara, C., Torres, A., López-Linares, J. C., Castro, E. (2018). Valorisation of olive agro-industrial by-products as a source of bioactive compounds. **Science of the Total Environment**, v.645, p.533-542.

Hadizadeh, M., Ofoghi, H., Kianirad, M., Amidi, Z. (2019). Elicitation of pharmaceutical alkaloids biosynthesis by salicylic acid in marine microalgae *Arthrospira platensis*. **Algal Research**, v.42, p.101597.

Jiang, Y., Ding, S., Li, F., Zhang, C., Sun-Waterhouse, D., Chen, Y., Li, D. (2019). Effects of (+)-catechin on the differentiation and lipid metabolism of 3T3-L1 adipocytes. **Journal of Functional Foods**, v.62, p.103558.

Kabra, M. P., Bhandari, S. S., Sharma, A., Gupta, R. B. (2014). Evaluation of anti-parkinson's activity of gentisic acid in different animal models. **Journal of Acute Disease**, v.3,n.2, p.141-144.

Kannan, R. R. R., Arumugam, R., Thangaradjou, T., Anantharaman, P. (2013). Phytochemical constituents, antioxidant properties and p-coumaric acid analysis in some seagrasses. **Food research international**, v.54, n.1, p.1229-1236.

Koolen, H.H., Da Silva, F.M., Gozzo, F.C., De Souza, A.Q., Souza, A.D. (2013). Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) by UPLC–ESI-MS/MS. **Food Research International**, v.51, n.2, p.467-473.

Köprü, S., Uslu, R., Karaman, K., Yilmaz, M. M., Kaplan, M. (2019). Optimization of processing parameters for the preparation of clove (*Syzygium aromaticum*) hydroalcoholic extract: A response surface methodology approach to characterize the biofunctional performance. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, 100236.

Krzysztoforska, K., Piechal, A., Blecharz-Klin, K., Pyrzanowska, J., Joniec-Maciejak, I., Mirowska-Guzel, D., Widy-Tyszkiewicz, E. (2019). Administration of protocatechuic acid affects memory and restores hippocampal and cortical serotonin turnover in rat model of oral D-galactose-induced memory impairment. **Behavioural brain research**, v.368, p.111896.

Kumari M., e Jain S. (2012). Tannins: An antinutrient with positive effect to manage diabetes. **Research Journal of Recent Sciences**, v.1, n.12, p.1-8.

Leite, P., Silva, C., Salgado, J. M., Belo, I. (2019). Simultaneous production of lignocellulolytic enzymes and extraction of antioxidant compounds by solid-state fermentation of agro-industrial wastes. **Industrial Crops and Products**, v. 137, p. 315-322.

Ma, Y., Ding, S., Fei, Y., Liu, G., Jang, H., Fang, J. (2019). Antimicrobial activity of anthocyanins and catechins against foodborne pathogens *Escherichia coli* and *Salmonella*. **Food Control**, p.106712.

Makkar, H. P. S., Blummel, M., Borowy, N. K., Becker, K. (1993). Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein

precipitation methods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.61, p.161-165.

Malegori, C., Marques, E. J. N., De Freitas, S. T., Pimentel, M. F., Pasquini, C., Casiraghi, E. (2017). Comparing the analytical performances of Micro-NIR and FT-NIR spectrometers in the evaluation of acerola fruit quality, using PLS and SVM regression algorithms. **Talanta**, v.165, p.112-116.

Manzoni, A. G., Passos, D. F., Silva, J. L., Bernardes, V. M., Bremm, J. M., Jantsch, M. H., Mann, R. T., Andrade, C.M., Leal, D. B. (2019). Rutin and curcumin reduce inflammation, triglyceride levels and ADA activity in serum and immune cells in a model of hyperlipidemia. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, v.76, p.13-21.

Marques TR, Caetano AA, Simão AA, Castro FC, Ramos VD, Corrêa AD. (2016). Metanolic extract of *Malpighia emarginata* bagasse: phenolic compounds and inhibitory potential on digestive enzymes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.26, n.2, p.191-6.

Marques, T. R., Caetano, A. A., Henrique S. Cesar, P., Braga, M. A., Henrique A. Machado, G., De Sousa, R. V., & Corrêa, A. D. (2018a.) Antioxidant activity and hepatoprotective potential of lyophilized extract of acerola bagasse against CCl₄-induced hepatotoxicity in Wistar rats. **Journal of Food Biochemistry**, v.42, n.6, p.12670.

Marques, T. R., Caetano, A. A., Rodrigues, L. M. A., Simão, A. A., Machado, G. H. A., Corrêa, A. D. (2017). Characterization of phenolic compounds, antioxidant and antibacterial potential the extract of acerola bagasse flour. **Acta Scientiarum Technology**, v.39, n.2, p.143–148

Marques, T. R., Cesar, P. H. S., Braga, M. A., Marcussi, S., Corrêa, A. D. (2018b). Fruit bagasse phytochemicals from *Malpighia emarginata* rich in enzymatic inhibitor with modulatory action on hemostatic processes. **Journal of Food Science**, v.83, n.11, p.2840-2849.

Martínez-Patiño, J. C., Gullón, B., Romero, I., Ruiz, E., Brnčić, M., Žlabur, J. Š., Castro, E. (2019). Optimization of ultrasound-assisted extraction of biomass from olive trees using response surface methodology. **Ultrasonics Sonochemistry**, v51, p.487-495.

Meireles, B.R.L.A. (2017). **Nutritional and antioxidant potential of the fruit of the catolé (*Syagrus cearensis*)**. Thesis (Doctorate in Food Science and Technology). Federal University of Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil.

Motohashi, N., Wakabayashi, H., Kurihara, T., Fukushima, H., Yamada, T., Kawase, M., Sohara, Y., Tani, S., Shirataki, Y., Sakagami, H., Satoh, K., Nakashima, H., Molnár, A., Spengler, G., Gyémánt, N., Ugocsai, K., Molnár, J. (2004). Biological activity of barbados cherry (acerola fruits, fruit of *Malpighia emarginata* DC) extracts and fractions. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v.18, n.3, p.212-223.

Nóbrega, E. M., Oliveira, E. L., Genovese, M. I., Correia, R. T. (2015). The Impact of Hot Air Drying on the Physical-Chemical Characteristics, Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Acerola (*Malpighia emarginata*) Residue. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.39, n.2, p.131-141.

Nogueira, G. D., Silva, P. B., Duarte, C. R., Barrozo, M. A. (2019). Analysis of a hybrid packed bed dryer assisted by infrared radiation for processing acerola (*Malpighia emarginata* DC) residue. **Food and Bioproducts Processing**, v.114, p.235-244.

Orzelska-Górka, J., Szewczyk, K., Gawrońska-Grzywacz, M., Kędzierska, E., Głowacka, E., Herbet, M., Dudka, J., Biała, G. (2019). Monoaminergic system is implicated in the antidepressant-like effect of hyperoside and protocatechuic acid isolated from *Impatiens glandulifera* Royle in mice. **Neurochemistry International**, v.128, p.206-214.

Paz, M., Gúllon, P., Barroso, M. F., Carvalho, A. P., Domingues, V. F., Gomes, A. M., Becker, H., Longhinotti, E., Delerue-Matos, C. (2015). Brazilian fruit pulps as functional foods and additives: Evaluation of bioactive compounds. **Food Chemistry**, v.172, p.462-468.

Porter, L. J., Hrstich, L. N., Chan, B. G. (1986). The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. **Phytochemistry**, v.25, p.223-230.

Prado, A. C. P., Aragão, A. M., Fett, R. (2009). Compostos fenólicos e atividade antioxidante de extratos da casca de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch]. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, n. 4, p. 323-332.

Prasad, K. N., Yang, B., Yang, S., Chen, Y., Zhao, M., Ashraf, M., Jiang, Y. (2009). Identification of phenolic compounds and appraisal of antioxidant and antityrosinase activities from litchi (*Litchi sinensis* Sonn.) **Food Chemistry**, v.116, p.1-7.

- Rezende, Y. R. R. S., Nogueira, J. P., Narain, N. (2017). Comparison and optimization of conventional and ultrasound assisted extraction for bioactive compounds and antioxidant activity from agro-industrial acerola (*Malpighia emarginata* DC) residue. **LWT-Food Science and Technology**, v.85, p.158-169,
- Rezende, Y. R. R. S., Nogueira, J. P., Narain, N. (2018). Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. **Food Chemistry**, v.254, p.281-291.
- Sharma, S., Khan, N., Sultana, S. (2004). Modulatory effect of gentisic acid on the augmentation of biochemical events of tumor promotion stage by benzoyl peroxide and ultraviolet radiation in Swiss albino mice. **Toxicology Letters**, v.153, n.3, p.293-302.
- Silva, P. B., Duarte, C. R., Barrozo, M. A. S. (2019). A novel system for drying of agro-industrial acerola (*Malpighia emarginata* DC) waste for use as bioactive compound source. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, V.52, p.350-357.
- Silveira, L.M.S., Olea, R.S.G., Mesquita, J.S., Cruz, A.L.N., Mendes, J.C. (2009). Metodologias de atividade antibacteriana aplicadas a extratos de plantas: comparação entre duas técnicas de ágar difusão. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 90, n. 2, p. 124-128.
- Spagnol, C. M., Assis, R. P., Brunetti, I. L., Isaac, V. L. B., Salgado, H. R. N., Corrêa, M. A. (2019). In vitro methods to determine the antioxidant activity of caffeic acid. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v.219, p.358-366.
- Vieira, L. M., Sousa, M. S. B., Mancini-Filho, J., Lima, A. D. (2011). Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de polpas de frutos tropicais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.3, p.888-897.
- Waterhouse, A. (2006). Folin-ciocalteau micro, ethod for total phenol in wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, p. 3-5.
- Wen, A., Delaquis, P., Stanich, K., Toivonen, P. (2003). Antilisterial activity of selected phenolic acids. **Food Microbiology**, v.20, n.3, p.305-311.
- Willersinn, C., Mouron, P., Mack, G., Siegrist, M. (2017). Food loss reduction from an environmental, socio-economic and consumer perspective–The case of the Swiss potato market. **Waste Management**, v.59, p.451-464.

CAPÍTULO 3 – Filme ativo à base de gelatina e extrato do resíduo de *Malpighia emarginata* para inibir a oxidação lipídica e proteica em hambúrguer bovino

Edible and active film based on gelatin and *Malpighia emarginata* waste extract to inhibit lipid and protein oxidation in beef patties

Edilayane da Nóbrega Santos¹; Thamyres Cesar de Albuquerque Sousa¹; Deocleciano Cassiano de Santana Neto²; Cristiani Viegas Brandão Grisi¹; Valquíria Cardoso da Silva Ferreira¹; Fábio Anderson Pereira da Silva^{1*}

¹Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Agroalimentar, Universidade Federal da Paraíba, Bananeiras-PB. ²Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR.

*E-mail do autor correspondente: fabio@ct.ufpb.br

Resumo: filmes ativos à base de gelatina e extrato do resíduo da acerola (ERA) foram utilizados para inibir as alterações na qualidade de hambúrgueres bovinos durante o armazenamento. Foram elaborados quatro tratamentos: EF (filme de gelatina sem ERA), AF2 (filme de gelatina com 2% de ERA), AF4 (filme de gelatina com 4% de ERA) e AF6 (filme de gelatina com 6% de ERA). O filme plástico comercial de PVC foi utilizado como controle (PF). Os filmes ativos apresentaram boas propriedades físicas e de barreira, sendo efetivos no controle das alterações de cor e das reações de oxidação lipídica e proteica das amostras avaliadas. A adição do ERA no filme de gelatina demonstrou efeito positivo até a concentração de 4%, de modo que o tratamento AF4 reduziu a formação de malonaldeído e de compostos carbonílicos totais em 23,58 e 60,14%, respectivamente. Portanto, o uso filme ativo à base de gelatina e ERA parece ser uma boa estratégia para prolongar a vida de prateleira de hambúrgueres armazenados sob congelamento.

Palavras-chave: Aditivo natural, filme comestível, hambúrguer, oxidação lipídica, oxidação proteica.

Abstract: Active gelatin-based films and acerola residue extract (ERA) were used to inhibit changes in the quality of beef burgers during storage. Four

treatments were developed: EF (gelatin film without ERA), AF2 (gelatin film with 2% ERA), AF4 (gelatin film with 4% ERA) and AF6 (gelatin film with 6% ERA). The commercial PVC plastic film was used as a control (PF). The active films showed good physical and barrier properties, being effective in controlling color changes and the lipid and protein oxidation reactions of the evaluated samples. The addition of ERA to the gelatin film demonstrated a positive effect up to a concentration of 4%, so that the AF4 treatment reduced the formation of malonaldehyde and total carbonyl compounds by 23.58 and 60.14%, respectively. Therefore, the use of active gelatin-based film and ERA appears to be a good strategy for prolonging the shelf life of hamburgers stored under freezing.

Keywords: Burger, biodegradable film, lipid oxidation, natural additive, protein oxidation.

1 INTRODUÇÃO

As embalagens ativas consistem em um sistema complexo onde o produto e a embalagem interagem para conferir características positivas à preservação do alimento (Mcmillin, 2017). As embalagens ativas antioxidantes têm a capacidade de prolongar a vida de prateleira do alimento e atender a demanda dos consumidores por produtos de qualidade (Kalem et al., 2018; Zhang et al., 2018).

Os materiais plásticos derivados do petróleo são altamente poluentes para o meio ambiente (Mir et al., 2018) e a produção de embalagens biodegradáveis, produzidas a partir de polímeros naturais, como polissacarídeos, proteínas e lipídeos tem sido uma alternativa viável para minimizar este problema (Bermúdez-Oria et al., 2018; Soncu et al., 2018; Suderman et al., 2018).

A gelatina é um biopolímero que tem sido bastante estudado para produção de filmes biodegradáveis como alternativa aos plásticos de origem petroquímica devido às suas boas propriedades de formação de filme, proteção do produto contra luz e oxigênio, capacidade de liberar compostos ativos, baixo ponto de fusão, facilidade de obtenção e abundância, além de não poluir o meio ambiente (Wu et al., 2015; Shankar et al., 2019). Desta forma, estudos têm

relatado o efeito de filmes biodegradáveis à base de gelatina incorporados com extratos antioxidantes na preservação da carne e derivados (Kaewprachu et al., 2018; Jridi et al., 2018; Bermúdez-Oria et al., 2019).

A acerola (*Malpighia emarginata*) é uma fruta pertencente à família *Malpighiaceae*, originária da América Central e do Sul, sendo bastante cultivada no Brasil (Malegori et al., 2017). Devido a elevada perecibilidade, a acerola é processada e comercializada principalmente na forma de polpa e suco clarificado, o que gera grande quantidade de resíduos que na maioria das vezes não são aproveitados ou são descartados de forma inadequada no ambiente (Belwal et al., 2018). No entanto, pesquisas têm apontado que o resíduo agroindustrial da acerola possui elevada concentração de compostos bioativos (antocianinas, flavonoides, carotenoides) em relação à polpa, e a extração desses compostos poderia aumentar o valor comercial da matéria-prima, além de contribuir para preservação do meio ambiente (Rezende et al., 2017; Nogueira et al., 2019).

Várias pesquisas relacionadas com o desenvolvimento de filmes comestíveis incorporados com extratos naturais com ação antioxidante estão disponíveis na literatura (Medina-Jaramillo et al., 2017; Turgut et al., 2017; Kalem et al., 2018; Yong et al., 2019). Contudo, há uma escassez de dados que reportem o efeito de filmes comestíveis incorporados com extratos do resíduo do despulpamento da acerola em produtos cárneos. Nesse contexto, objetivou-se verificar o efeito da aplicação de filme comestível à base de gelatina incorporado com extrato do resíduo de acerola no controle da oxidação lipídica e proteica em hambúrguer bovino durante o armazenamento.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material e reagentes

Os reagentes de grau analítico PA foram adquiridos da Vetec Química Ltda e Sigma Aldrich (St. Louis, MO, EUA). A gelatina bovina em pó sem sabor (Mix Indústria de Produtos Alimentícios Ltda) e o material utilizados para

elaboração dos hambúrgueres foram obtidos em estabelecimentos comerciais localizados no município de Solânea-PB.

2.2 Obtenção do resíduo e preparo do extrato

Inicialmente, o resíduo foi submetido a secagem em estufa com circulação de ar a 55 °C por 24 horas (Crizel et al., 2015). Após a secagem, o resíduo foi triturado em moinho de facas tipo Willey41 (SL – 31, Solab, Piracicaba - SP, Brasil) peneirado (10 mesh).

A obtenção do extrato do resíduo da acerola (ERA) foi realizada após o processo de otimização das condições de extração dos compostos com potencial antioxidante através de estudos preliminares. Desta forma, o ERA foi elaborado utilizando-se a mistura entre o resíduo desidratado e a solução hidroetanólica a 34% na proporção de 1:10 (m/v), respectivamente. Em seguida, a mistura foi homogeneizada manualmente por 110 minutos (com agitação durante 5 minutos a cada 15 minutos) a 20 °C, seguido de centrifugação (8960 x G por 20 min a 10 °C) e filtração. Ao final da extração, a fração etanólica da mistura foi removida sob pressão (180 mbar) em evaporador rotativo a 45 °C e o extrato foi ressuspenso com água destilada e armazenado em frasco âmbar a -80 °C até a incorporação nas embalagens.

2.3 Preparação do filme ativo à base de gelatina incorporado com ERA

A obtenção do filme foi realizada conforme metodologia descrita por Akcan et al. (2017), com adaptações, pelo método de *casting*. A gelatina bovina (5% m/vol) foi dissolvida em água destilada e glicerol (5% vol/vol). O pH foi ajustado para 8,0 com NaOH 2 N e a solução foi aquecida a 50 ± 2 °C sob agitação por 30 minutos e em seguida resfriada até temperatura ambiente ($25 \text{ °C} \pm 2$). O ERA foi adicionado na solução (v/v) após o resfriamento conforme os tratamentos: EF (filme de gelatina sem ERA), AF2 (filme de gelatina com 2% de ERA), AF4 (filme de gelatina com 4% de ERA) e AF6 (filme de gelatina com 6% de ERA). O filme plástico comercial de PVC foi utilizado como controle (PF). Após o preparo, 30 mL das soluções filmogênicas foram dispersos em placas de Petri (15 cm de diâmetro) e submetidas a secagem em estufa com circulação de ar a 35 °C por

24 horas. Por fim, as placas foram colocadas em dessecador por 48 horas e os filmes foram removidos com auxílio de espátula.

2.4 Caracterização dos filmes

2.4.1 Espessura

A espessura do filme foi medida utilizando-se um micrômetro digital (Mitutoyo-Co, Japão) com precisão de 0,001 mm. A espessura média dos filmes foi determinada a partir de medições em 10 pontos aleatórios (Beigomi et al., 2017).

2.4.2 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas como tensão e elasticidade na ruptura dos filmes ativos foram analisadas em instrumento de ensaios estáticos (SHIMADZU, Japão) operando conforme as especificações da ASTM D882-12 (ASTM, 2012). Os filmes foram acondicionados durante 72 horas em estufa com umidade relativa de 75% a 25 °C. Os corpos de prova foram cortados em formato de tiras de 100 mm x 15 mm de largura, com posição inicial das garras de 50 mm e a velocidade de separação das garras de 12,5 mm/min. As análises foram realizadas com 5 (cinco) repetições para cada tratamento. Os resultados foram expressos em porcentagem de alongamento (PA, %) e resistência a tração (RT, MPa).

2.4.3 Solubilidade em água

A determinação da solubilidade dos filmes foi realizada de acordo com o método descrito por Ge et al. (2018), expresso como a porcentagem de matéria seca do filme solubilizado após 24 h de imersão em água. Inicialmente, as amostras de filmes medindo 2 x 2 cm foram pesadas (mi) e secas em estufa a 105 °C por 24 horas. Em seguida os filmes secos foram imersos em 30 ml de água destilada a 25 °C e mantidos por 24 horas. Posteriormente, as amostras foram coletadas e secas novamente em estufa a 105 °C por 24 horas e o peso

final (mf) foi obtido. A solubilidade em água dos filmes foi calculada de a partir da equação 1

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

2.4.4 Permeabilidade ao vapor de água – PVA

A determinação da PVA foi realizada conforme descrito por Costa et al. (2017), pelo método padrão da norma E96-95 ASTM (1995). Amostras de filme com 9 cm de diâmetro foram fixadas na superfície do Erlenmeyer de 125 mL contendo 50 mL de água destilada. As extremidades do Erlenmeyer foram vedadas com fita adesiva. A massa inicial do sistema (Becker + água + filme + fita adesiva) foi medida e, na sequência, o sistema foi acondicionado em dessecador a 25 °C e pesado a cada 24 horas, durante 7 dias. O resultado de PVA foi obtido pela quantidade de massa permeada em função da área. O fluxo de vapor de água (J) foi calculado com o auxílio da equação 2.

$$J = \frac{\left(\frac{\Delta m}{\Delta t}\right) \times X}{A \times \Delta p} \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde, Δm = Variação de massa (g); Δt = Variação do tempo (min); X = Espessura do filme; A é a área da abertura do Erlenmeyer (2,6 cm²) e Δp = Variação de pressão de vapor parcial que passa pelo filme.

2.4.5 Determinação da cor e opacidade

A determinação da cor e opacidade dos filmes foi realizada usando colorímetro digital (CR-400, Konika Minolta, Osaka, Japão) conforme metodologia de Medina e Jaramillo et al. (2015). Os valores de L^* , a^* e b^* foram obtidos através de leitura direta no colorímetro sobrepondo-os sobre um padrão branco. A determinação da opacidade foi obtida com leitura em espectrofotômetro a 600 nm (Siripatrawan e Harte, 2010). A opacidade foi calculada conforme a equação 3.

$$\text{Opacidade: } \frac{A_y}{X} \quad (\text{Eq. 3})$$

Onde, A_y = Absorbância no comprimento de onda; X = espessura do filme.

2.4.6 Análise de espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR dos filmes à base de gelatina foram registrados utilizando o método de refletância atenuada (ATR), na faixa de frequências de 4000 a 600 cm^{-1} em resoluções de 4 cm^{-1} e 40 varreduras, conforme o método descrito pela ASTM D5477-11 (ASTM, 2011), adaptado por Feng et al. (2018).

2.5 Processamento dos hambúrgueres e aplicação dos filmes

Para elaboração dos hambúrgueres, foram utilizados 80% de paleta bovina, 8% de toucinho, 10% de água gelada, 2% de sal e 30 g de farinha de trigo para cada quilo da massa final. A carne e o toucinho foram submetidos ao corte e moagem em moinho industrial (Braesi/BMC-05 Geração 2) com disco de 5 mm. Após a moagem, foram adicionados sal e água gelada até a formação de uma massa homogênea e em seguida foi adicionada a farinha de trigo. Após este procedimento, os hambúrgueres foram moldados (\cong 50 g) em forma de 8 cm de diâmetro e aproximadamente 1 cm de altura (M.I.B, Brasiaço Indústria e Comércio Ltda, Juatuba, Brasil). Os hambúrgueres foram dispostos individualmente em bandejas de isopor e os filmes (FP, EF, AF2, AF4 e AF6) foram aplicados na superfície de cada amostra. Os hambúrgueres foram armazenados sob congelamento a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 60 dias e as análises foram realizadas a cada 15 dias de armazenamento. Todas as análises foram realizadas nas amostras de hambúrguer após a remoção dos filmes.

2.6 Determinação da cor instrumental dos hambúrgueres

Os hambúrgueres foram submetidos a análise de cor instrumental com leitura direta de 5 pontos distintos das amostras em colorímetro digital (Konica Minolta, CR-10, Osaka, Japão), empregando a escala de cor CIELAB, com iluminante C, ângulo de visão 8° , ângulo padrão do observador 10° , conforme as especificações da Commission Internationale L'éclairage (CIE, 2004). As variáveis de cor estudadas foram L^* , a^* , b^* e o ângulo hue, onde L^* representa a luminosidade, a^* (grau de verde/vermelho) e b^* (grau de azul/amarelo). A

diferença colorimétrica total foi calculada nos tempos 15, 30, 45 e 60 em relação ao primeiro dia de armazenamento, conforme a equação 3:

$$\Delta E = [(L^* \text{último dia de armazenamento} - L^* \text{primeiro dia de armazenamento})^2 + (a^* \text{último dia de armazenamento} - a^* \text{primeiro dia de armazenamento})^2 + (b^* \text{último dia de armazenamento} - b^* \text{primeiro dia de armazenamento})^2]^{1/2}. \quad (\text{Eq. 3})$$

2.7 Determinação de perda de peso por centrifugação

A perda de peso após a centrifugação foi quantificada pelo método descrito por de Herrero et al. (2005). Dois gramas da amostra foram embrulhados com papel de filtro, inseridos em tubos Falcon de 50 mL e centrifugados a 1500 x G por 5 minutos a 4 °C. A perda de peso por centrifugação foi medida conforme equação 4:

$$\text{Perda de peso (\%)} = \frac{\text{Peso}_{\text{inicial}} - \text{Peso}_{\text{final}}}{\text{Peso}_{\text{inicial}}} \times 100 \quad (\text{Eq. 4})$$

2.8 Determinação do pH dos hambúrgueres

Os valores de pH foram medidos por leitura direta em pHmetro digital (iON, PHS-3E-BI, São Paulo, Brasil), conforme indicações da AOAC (2005).

2.9 Medição das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS) dos hambúrgueres

A determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS) das amostras de hambúrguer foi obtida segundo o método descrito por Ganhão et al. (2011). As amostras (2,5 g) foram homogeneizadas com 7,5 mL de ácido perclórico (3,86%) em vórtex por 3 minutos, para facilitar a extração das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico. Em seguida, a mistura foi centrifugada (1372 x G por 3 minutos a 4 °C) e filtrada. O extrato obtido foi utilizado para quantificação do teor de TBA-RS. A medição da absorbância foi realizada a 532 nm e uma curva padrão de tetraetoxipropano (TEP) foi utilizada para quantificação. O resultado final foi expresso em mg de malonaldeído/kg de amostra.

2.10 Determinação dos dienos conjugados dos hambúrgueres

A determinação do valor de dienos conjugados foi obtida com o auxílio da metodologia da IUPAC (1992), a partir da dissolução de 0,5 g da fração lipídica da amostra (obtida pelo método de Folch e evaporada em evaporador rotativo a 45 °C e 180 mbar) em 25 mL de isooctano. A leitura foi realizada a 234 nm, utilizando o isooctano como branco.

2.11 Quantificação dos compostos carbonílicos totais dos hambúrgueres

O teor de compostos carbonílicos totais foi determinado após derivatização com 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH), conforme metodologia descrita por Ganhão et al. (2010). Homogeneizou-se cerca de 1 g da amostra em 10 mL de tampão (pH 6,5) Na₃PO₄ 20 mM e NaCl 0,6 M em *ultra-turrax* (T 25 Digital, IKA, Alemanha) por 1 minuto. Posteriormente, foi utilizada uma alíquota de 150 µL para determinar a concentração de proteínas e o conteúdo de compostos carbonílicos. Para determinar o conteúdo de proteínas foi adicionado 1 mL de HCl 2 M e para a determinação dos compostos carbonílicos foi adicionado 1 mL de DNPH 0,2% em HCl 2 M, seguido de homogeneização em vórtex e incubação em temperatura ambiente por 1 h no escuro. A concentração de proteínas foi obtida a partir da leitura das absorbâncias a 280 nm utilizando uma curva padrão de albumina sérica bovina (BSA) e o conteúdo de carbonílicos a partir de leituras a 370 nm, usando um coeficiente de extinção molar de hidrazonas (21,0 nM⁻¹. cm⁻¹). O resultado foi expresso em nmoles de carbonílicos por mg de proteína.

2.12 Análise estatística

Os resultados foram avaliados através de análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, usando programa estatístico SAS® System (2012) Versão 9.0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização dos filmes

Os resultados das propriedades físicas e mecânicas dos filmes ativos de gelatina estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1. Resultado das análises físicas e mecânicas dos filmes de gelatina.

Filmes	ESP	PA	RT	SA	PVA
EF	0,155bc	147,76	2,17a	40,45a	2,47b
AF2	0,181a	132,34	1,47bc	37,35ab	3,54a
AF4	0,173ab	105,60	1,33c	36,38ab	2,70b
AF6	0,148c	120,46	1,75b	32,77b	2,51b
EPM	0,020	14,74	0,13	2,32	0,06

EF: Filme de gelatina (FG); AF2: FG + 2% de extrato do resíduo da acerola; AF4: FG + 4% de extrato do resíduo da acerola; AF6: FG + 6% de extrato do resíduo da acerola. EPM: Erro Padrão da Média. ESP: Espessura (mm), PA: Porcentagem de Alongamento (%), RT: Resistência à Tração (Mpa), SA: Solubilidade em Água (%) e PVA: Permeabilidade ao Vapor de Água (10^{-3} gH₂O.mm/m².h Pa).

A espessura dos filmes variou de 0,148 a 0,181 mm. Houve aumento da espessura dos filmes com a adição de 2% do extrato em relação à amostra EF, no entanto, a adição de 4% e 6% do extrato no filme não alterou a espessura em relação ao tratamento controle. Os resultados sugerem que ao aumentar a concentração do extrato na solução filmogênica acima de 2%, a espessura do filme é reduzida. As propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor de água e opacidade dos filmes de gelatina podem ser afetadas pelo aumento da espessura, devido à forte interação peptídeo-polifenol (gelatina-extrato) em sua matriz polimérica (Adilah et al., 2018).

A porcentagem de alongamento dos filmes não apresentou diferença entre os tratamentos. No entanto, os filmes tiveram uma alta porcentagem de alongamento, variando de 105,60 a 147,76%. Este fato pode ser associado a

concentração de glicerol utilizada (5%) na elaboração dos filmes, pois o glicerol pode se dispersar no sistema proteína-polifenol e adsorver mais moléculas de água, proporcionando o aumento da elasticidade dos filmes (Zhang et al., 2019). Ge et al. (2018) obtiveram valores do percentual de alongamento do filme de gelatina (117,06%) próximos aos encontrados no presente estudo.

Os filmes aditivados apresentaram menor resistência à tração em relação ao tratamento controle. De acordo com os resultados, há indícios de que a concentração do extrato de ERA teve impacto significativo na interação proteína-proteína que estabiliza a rede proteica dos filmes, levando a redução da resistência à tração a medida em que se aumenta a concentração do extrato na solução filmogênica (Staroszczyk et al., 2020). Da mesma forma, a presença do glicerol (na concentração usada) pode ter impedido a ligação intermolecular entre os grupos fenólicos do extrato e a gelatina, reduzindo a resistência mecânica dos filmes (Hanani et al., 2019; Zhang et al., 2019). Os resultados do presente estudo foram menores do que os encontrados por Rasid et al. (2018) em filme de gelatina.

Nenhuma diferença significativa ($p > 0,05$) na solubilidade em água foi notada entre os tratamentos AF2, AF4 e EF. Entretanto, o filme de gelatina incorporado com 6% do ERA mostrou diminuição significativa ($p < 0,05$) da solubilidade de 40,45% (controle) para 32,77% (AF6). O decréscimo da solubilidade dos filmes aditivados com o nível mais elevado do extrato pode estar relacionado à maior formação de linhas cruzadas na matriz polimérica que contribuiu para redução do caráter hidrofílico e de grupos polares no filme (Choi et al., 2018). Comportamento semelhante ao observado neste experimento foi reportado por Adilah et al. (2018) em filmes de gelatina de peixe incorporados com extrato da casca de manga quando em relação ao tratamento controle (filme de gelatina sem adição de extrato).

A incorporação de 2% do extrato na solução filmogênica proporcionou aumento da permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes em relação ao tratamento controle (EF). No entanto, o aumento da concentração do extrato no filme resultou em redução na PVA, com diminuição significativa dos valores analisados para este parâmetro nos tratamentos AF4 e AF6 em relação a amostra AF2. Este fato pode ser relacionado aos compostos fenólicos presentes no extrato que, ao aumentar a concentração, se dispersaram na matriz

polimérica, dificultando a permeação da água através dos filmes (Adilah et al., 2018) ou pela estabilização da matriz polimérica através da interação de ligações cruzadas entre a gelatina e os compostos fenólicos do ERA (Rasid et al., 2018). Rasid et al. (2018) verificaram redução da PVA em filmes ativos de gelatina com o aumento da concentração do extrato de *Centella asiatica* (L.) em relação ao tratamento controle.

Na Tabela 2 estão dispostos os resultados da avaliação colorimétrica dos filmes de gelatina aditivados com ERA. Os filmes incorporados com 2% do ERA mostraram redução significativa da luminosidade (L^*) em relação ao tratamento controle. A medida em que se aumentou a concentração do extrato na solução filmogênica, houve incremento nos valores de L^* , que foi maior na amostra AF6.

Tabela 2. Resultado da análise colorimétrica dos filmes de gelatina.

Filmes	L^*	a^*	b^*	Opacidade (%)
EF	66,92±0,43b	0,50±0,08c	6,92±0,38c	0,74±0,00b
AF2	58,45±2,22c	0,32±0,12c	13,80±2,97a	0,87±0,06ab
AF4	65,48±2,06b	0,70±0,08b	12,10±1,48ab	0,91±0,04ab
AF6	72,02±2,21a	1,20±0,08a	9,75±1,62bc	1,07±0,17a

EF: Filme de gelatina (FG); AF2: FG + 2% de extrato do resíduo da acerola; AF4: FG + 4% de extrato do resíduo da acerola; AF6: FG + 6% de extrato do resíduo da acerola. Resultado expresso em média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

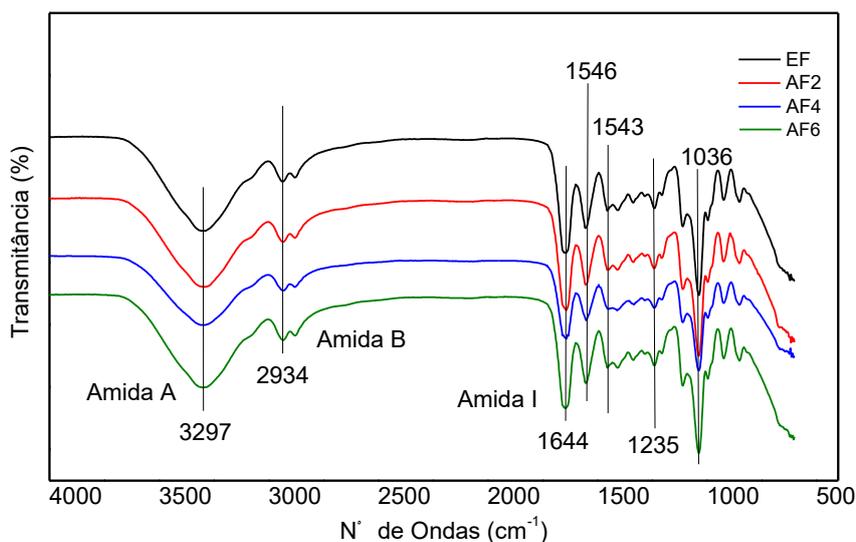
Da mesma forma, a cor vermelha (a^*) foi mais intensa nos filmes com maior concentração do ERA. Este fenômeno pode estar relacionado com a presença de pigmentos amarelo-alaranjados, principalmente flavonoides, no extrato do resíduo da acerola. De fato, o perfil fenólico do ERA revelou elevado conteúdo de flavonoides, com destaque para catequina e rutina (dados não mostrados). O aumento da concentração do extrato também teve efeito significativo na coloração amarela (b^*). Foi possível notar um aumento na intensidade de b^* até a incorporação de 4% do extrato na solução filmogênica. Semelhante a estes resultados, Hanani et al. (2019) obtiveram maiores valores de L^* , a^* e b^* para os filmes de gelatina contendo extrato do pó da casca de romã (*Punica granatum* L.) em relação ao tratamento controle.

A adição de 2% e 4% do ERA não mostrou efeito significativo ($p>0,05$) na opacidade dos filmes de gelatina em relação à amostra controle. No entanto,

houve aumento significativo da opacidade dos filmes com a incorporação de 6% do ERA, variando de 0,74% (controle) para 1,07% (AF6). Este aumento pode estar relacionado com a interação entre a gelatina e os compostos fenólicos na matriz do filme que dificultaram a passagem da luz (Adilah et al., 2018). Neste sentido, é razoável a hipótese de que níveis mais elevados do extrato interferem com maior intensidade na interação entre gelatina e fenólicos, afetando os valores de opacidade. Semelhante a este trabalho, Adilah et al. (2018) observaram aumento da opacidade de filmes de gelatina incorporados com extrato da casca de manga, quando comparado com o filme de gelatina controle.

O resultado da análise de espectroscopia vibracional na região do infravermelho médio por transformada de Fourier (FTIR) está apresentado na figura 1.

Figura 1. Espectros de FTIR dos filmes à base de gelatina sem e incorporado com extrato do resíduo de acerola.



Os filmes de gelatina apresentaram espectros semelhantes, mesmo após o incremento do extrato, com bandas que variaram entre 1036 e 3297 cm^{-1} . A amida A (3297 cm^{-1}) foi atribuída ao estiramento do grupo O-H que pode ser proveniente de compostos fenólicos, água, glicerol ou da própria gelatina ou N-H acoplado a ligações de hidrogênio, e a amida B (2934 cm^{-1}) foi atribuída ao alongamento do C-H (Liu et al., 2019). A amida I resulta de um pequeno deslocamento que pode ser atribuído ao alongamento carbono-carbono (C-C) do

anel aromático (Rasid et al., 2018). De acordo com os resultados, a presença do extrato nos filmes de gelatina não teve influência perceptível nos espectros de FTIR. A similaridade entre os grupos funcionais presentes na gelatina e no ERA pode explicar a ausência de alterações nos espectros FTIR.

O efeito do filme ativo de gelatina e extrato do resíduo da acerola sobre a qualidade dos hambúrgueres de carne bovina armazenados durante 60 dias sob congelamento (-18 °C), são apresentados a seguir:

3.2 Efeito do armazenamento sobre os parâmetros de cor dos hambúrgueres

Os resultados da análise dos parâmetros colorimétricos (L^* , a^* , b^* , ângulo hue e a^*/b^*) das amostras avaliadas estão dispostos na Tabela 3.

Tabela 3. Efeito do armazenamento congelado sobre as coordenadas de cor (L^* , a^* , b^* , hue* e razão de a^*/b^*) dos hambúrgueres com filme comercial (PF), filme de gelatina sem extrato (EF) e filme adicionado de 2 (AF2), 4 (AF4) e 6% (AF6) de ERA.

	0	15	30	45	60	MSE
T^*						
			L^*			
PF	39,82B	42,20A	44,22bA	42,78cA	43,64cA	1,42
EF	40,82C	41,04C	49,48aB	49,72bB	54,94aA	1,54
AF2	39,68C	42,94BC	44,38bB	49,32bA	51,14abA	1,45
AF4	41,30B	42,86AB	45,38bA	46,22bcA	46,00bcA	1,70
AF6	42,40C	42,50C	44,84bBC	51,26aA	47,84bAB	1,58
			a^*			
PF	7,02	8,46ab	8,06	7,48b	8,40ab	0,48
EF	6,32B	8,56abA	9,16A	9,42aA	9,46aA	0,51
AF2	7,02C	9,10aAB	8,16BC	7,98abBC	9,80aA	0,53
AF4	7,64	7,64ab	8,56	7,5b	7,46b	0,66
AF6	7,54B	7,20bB	9,34A	9,48aA	8,36abA	0,58
			b^*			
PF	8,48B	10,74AB	11,16bA	10,80bAB	12,08cA	0,93
EF	8,74C	10,58C	13,90aB	16,12aA	17,64aA	1,07
AF2	9,56B	10,80B	11,70abB	14,96abA	17,10aA	0,76
AF4	9,28B	10,52AB	12,48abA	12,90bA	12,46bcA	0,95
AF6	9,48C	9,98C	12,48abB	16,68aA	14,54bAB	1,01

Hue*						
PF	50,40	51,66	54,07	55,20	55,16	2,28
EF	53,78BC	50,98C	56,49AB	59,77AB	61,76A	2,89
AF2	53,75B	49,86C	54,98AB	61,89A	60,18A	2,32
AF4	50,69B	54,03AB	55,43AB	59,72A	59,04A	3,30
AF6	51,49B	54,25AB	52,88B	60,35A	60,07A	2,80

a*/b*						
PF	0,83	0,79	0,73	0,70	0,70	0,07
EF	0,74A	0,81A	0,66AB	0,58B	0,54B	0,07
AF2	0,74A	0,84A	0,70AB	0,54B	0,57B	0,06
AF4	0,83A	0,73AB	0,69AB	0,58B	0,60B	0,09
AF6	0,80A	0,72AB	0,76AB	0,57C	0,58BC	0,07

T*: tratamento. MSE= Erro Padrão da Média. PF= filme controle de PVC; EF= Filme de gelatina sem ERA; AF2=Filme de gelatina com 2% de ERA; AF4= Filme de gelatina com 4% de ERA e AF5=Filme de gelatina com 6% de ERA. Letras minúsculas diferentes na coluna denotam diferença significativa entre os tratamentos e letras maiúsculas na linha denotam diferença dos tratamentos entre os períodos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Houve efeito do tratamento, tempo de armazenamento e da interação entre os fatores ($p < 0,05$) para as variáveis L^* , a^* e b^* das amostras avaliadas. Entretanto, a aplicação dos filmes ativos não modificou os parâmetros de cor dos produtos finais (tempo 0). Trata-se de um resultado positivo, uma vez que alterações na cor natural dos hambúrgueres poderia reduzir a aceitabilidade pelos consumidores.

Para a luminosidade (L^*), ocorreu diferença entre os tratamentos a partir do 30º dia de armazenamento, onde a amostra EF apresentou o maior valor. Aos 60 dias, a amostra EF manteve o maior nível de L^* e os menores valores foram observados para as amostras PF e AF4. Verificou-se um aumento significativo para a luminosidade dos hambúrgueres durante o armazenamento congelado a partir do dia 15, com exceção da amostra da amostra AF6 que apresentou diferença no valor de L^* a partir do 30º dia, evidenciando um efeito protetor na manutenção da luminosidade dos hambúrgueres até 30 dias de armazenamento congelado.

Estes resultados foram semelhantes aos encontrados por Jridi et al. (2018) que observaram um aumento nos valores de L^* em carne bovina revestida com filme controle e com extrato de hena (*Lawsonia inermis*) durante armazenamento refrigerado. Do mesmo modo, Lorenzo et al. (2014) relataram aumento nos valores de L^* para todas as amostras (filme controle sem

antioxidante, filme com 2% de óleo essencial de orégano e filme com 1% de extrato de chá verde) submetidas à diferentes sistemas de embalagens durante o armazenamento refrigerado de carne de porco.

Não houve efeito do tipo de filme na intensidade da cor vermelha (a^*) das amostras até os 30 dias de estocagem. Aos 60 dias, os menores valores de a^* foram observados para as amostras PF, AF4 e AF6. As únicas amostras que não tiveram a cor vermelha afetada pelo armazenamento foram PF e AF4. A manutenção da cor vermelha observada no tratamento PF ao longo dos 60 dias de armazenamento pode estar associada a baixa permeabilidade ao oxigênio dos filmes comerciais de PVC (Turan et al., 2017), que protegeram o produto de reações com o oxigênio atmosférico e consequente oxidação da mioglobina. A incorporação de 4% do ERA no filme de gelatina parece ter controlado a oxidação dos pigmentos da carne em virtude da presença de compostos fenólicos do extrato. Este fato é positivo para manutenção da cor vermelha da carne, mostrando que o filme ativo foi capaz de inibir a degradação da mioglobina. Resultados similares foram reportados por Akcan et al. (2017) em almôndegas bovinas revestidas com filme à base de proteína do soro de leite e extrato de *Laurus nobilis*.

Com relação a intensidade da cor amarela (b^*) dos hambúrgueres, não houve diferença entre os tratamentos até o 15º dia de armazenamento. Aos 60 dias, os menores valores de b^* foram observados nas amostras PF e AF4. Os valores de b^* dos hambúrgueres aumentaram durante o armazenamento, com diferença a partir do dia 30, em relação ao tempo 0, exceto para o tratamento AF2 que mostrou aumento a partir do 45º dia. Este aumento da coloração amarela (b^*) pode estar associado com a oxidação lipídica durante o armazenamento do produto, o que corrobora com o resultado da oxidação lipídica, uma vez que os tratamentos PF e AF4 mostraram-se efetivos no controle das reações de oxidação. Estes resultados estão de acordo com os dados reportados por Kaewprachu et al. (2018) em carne de porco picada armazenada sob refrigeração com filme ativo de gelatina incorporadas com nisina e catequina.

Não foi observada influência do tratamento nos resultados de hue^* . Entretanto, houve efeito do armazenamento sobre a variável hue^* a depender do tipo de filme aplicado nas amostras. Percebeu-se aumento significativo do ângulo hue^* para todos os tratamentos, com exceção da amostra PF que não foi

afetada pelo armazenamento ($p > 0,05$). Os tratamentos EF e AF2 apresentaram aumento de hue^* a partir dos 15 dias, enquanto as amostras AF4 e AF6 só mostraram diferenças no ângulo hue a partir do 45º dia. O aumento nos valores de hue^* está associado a coloração mais escura do produto, ocasionada pela oxidação da mioglobina (Zamuz et al., 2018). Desta forma, a não alteração de hue^* notada em PF pode estar relacionada à baixa permeabilidade ao oxigênio do filme comercial de PVC, contribuindo para a menor oxidação da mioglobina (Turan et al., 2017).

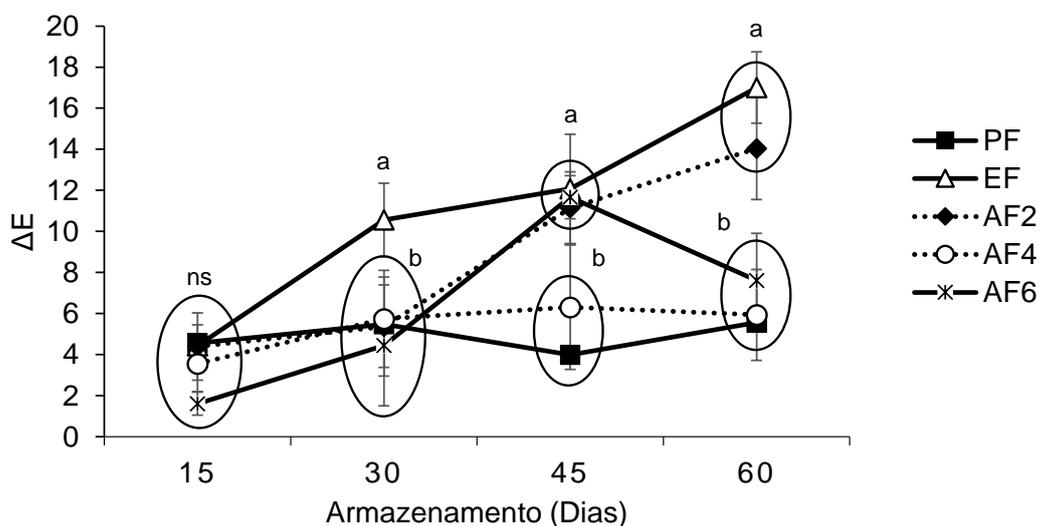
Os filmes com maiores concentrações de extrato protegeram o produto contra a degradação da cor até o 30º dia de armazenamento e isso pode ser associado à ação antioxidante dos ácidos fenólicos e flavonoides presentes no ERA (Kannan et al., 2013; Spagnol et al., 2019). Inai et al. (2014) verificaram que alguns polifenóis, tais como ácido ferúlico, catequina e a quercetina, foram efetivos contra a oxidação da mioglobina em metamioglobina em carnes. Resultados similares ao obtido nesta pesquisa foram relatados por Turgut et al. (2017) em almôndegas de carne bovina contendo extrato de casca de romã armazenadas sob congelamento.

Com relação a razão a^*/b^* , houve efeito apenas do armazenamento ($p < 0,05$). Os valores de a^*/b^* das amostras sofreram redução durante o armazenamento, com exceção do tratamento PF que não foi afetado ($p > 0,05$). As amostras revestidas com filmes de gelatina (com e sem ERA) apresentaram redução nos valores de a^*/b^* a partir do tempo 30. A diminuição da razão a^*/b^* indica oxidação da mioglobina com formação da metamioglobina (MetMb) e aumento da oxidação lipídica (Inai et al., 2014). Diante dos resultados, observou-se que a manutenção dos valores de a^*/b^* durante o armazenamento para o tratamento PF pode estar relacionado à baixa permeabilidade ao oxigênio do filme comercial de PVC (Turan et al., 2017) e que a proteção dos filmes de gelatina com ou sem adição do extrato até o 30º dia pode estar associada a capacidade antioxidante dos polifenóis do extrato e dos peptídeos bioativos da própria gelatina (Zheng et al., 2018).

A variação total de cor (ΔE) dos hambúrgueres em relação ao início do armazenamento foi afetada pelo tipo de filme e tempo de armazenamento, com efeito da interação ($p < 0,05$), cujo resultado encontra-se na Figura 2.

Houve diferença entre os tratamentos a partir do 30º dia, onde a amostra EF apresentou maior variação de cor em relação ao início do armazenamento comparado aos demais tratamentos, mantendo-se com os maiores valores até o 60º dia. Aos 60 dias de armazenamento, os menores valores de ΔE foram observados nas amostras PF, AF4 e AF6. Houve aumento nos valores de ΔE dos hambúrgueres no decorrer do armazenamento, onde as amostras apresentaram valores acima de 2 a partir do 15º dia.

Figura 2. Efeito do armazenamento congelado sobre a variação total de cor (ΔE) dos hambúrgueres com filme comercial (PF), filme de gelatina sem extrato (EF) e filme adicionado de 2 (AF2), 4 (AF4) e 6% (AF6) de extrato do resíduo de *Malpighia emarginata*.



Letras diferentes mostram diferença significativa entre os tratamentos dentro de cada período de armazenamento e os círculos agrupam os tratamentos que não diferiram pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns: não significativo.

De acordo com Choi et al. (2002), valores de ΔE acima de 2 são perceptíveis sensorialmente, o que mostra que apenas a amostra com maior concentração de extrato (AF6) foi efetiva até o 15º dia na variação de cor dos hambúrgueres. Possivelmente este fato está associado à ação antioxidante dos ácidos fenólicos e flavonoides (ácido gálico, p-cumárico, cafeico, catequina) presentes no ERA. Kaewprachu et al. (2018) verificaram que amostras de carne suína picada, revestida com filme de gelatina incorporada com nisina e catequina, apresentaram menores alterações nos atributos de cor (ΔE) em

relação à amostra controle (filme de gelatina), durante o armazenamento refrigerado.

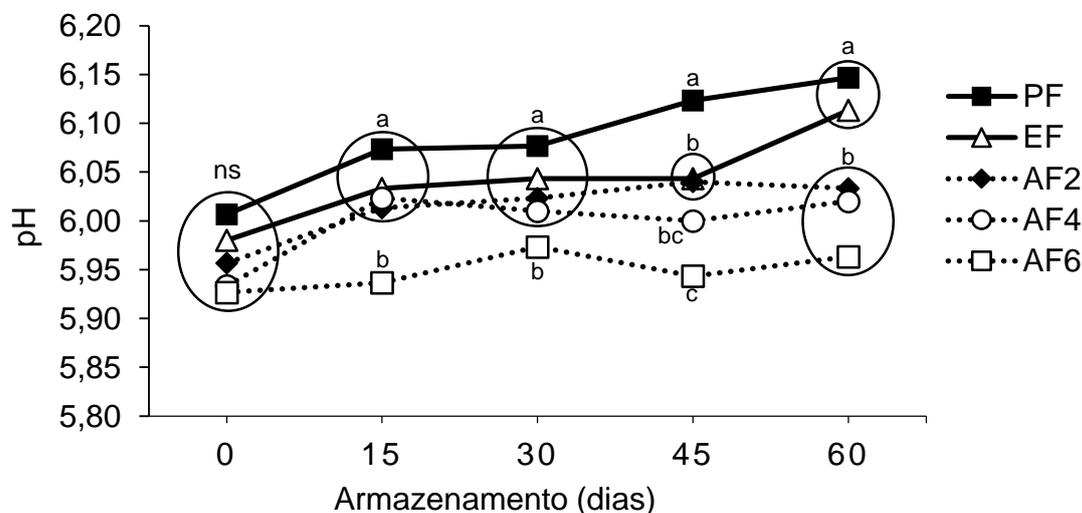
3.3 Efeito do armazenamento sobre o pH dos hambúrgueres

O efeito do filme ativo sobre o pH dos hambúrgueres é mostrado na Figura 3. A análise estatística revelou efeito significativo do tratamento, do tempo de armazenamento e da interação entre os fatores ($p < 0,05$). Os valores iniciais de pH dos hambúrgueres variaram entre 5,93 a 6,01. Não houve diferença nos valores de pH entre os tratamentos no primeiro dia de armazenamento. Até o 30º dia, a amostra AF6 apresentou os menores valores de pH. Com o avanço do armazenamento, foi possível notar que as amostras tratadas com ERA apresentaram os menores valores de pH em relação aos tratamentos controle (PF e EF). Houve aumento significativo no pH dos tratamentos PF, EF, AF2 e AF4 durante o armazenamento, enquanto que o pH da amostra AF6 manteve-se constante, apresentando valores que variaram de 5,93 a 5,97.

O aumento nos valores de pH das amostras ao longo do tempo pode ter ocorrido em consequência da decomposição de compostos alcalinos, como resultado da deterioração do produto, com formação de amônia e aminas durante a produção de aminoácidos livres (Jridi et al., 2018). No entanto, os valores mais baixos de pH das amostras tratadas com ERA podem ser associados a estabilidade do produto devido à ação dos ácidos fenólicos presentes no extrato.

Os resultados de pH estão condizentes com os encontrados por Jridi et al. (2018) em carne bovina revestida com filme ativo incorporado com extratos aquosos de *Lawsonia inermis*. Da mesma forma, Takma e Korel (2019) observaram aumento do pH durante o armazenamento refrigerado de carne de peito de frango em relação a amostra tratada com a embalagem ativa.

Figura 3. Efeito do armazenamento congelado sobre o pH dos hambúrgueres com filme comercial (PF), filme de gelatina sem extrato (EF) e filme adicionado de 2 (AF2), 4 (AF4) e 6% (AF6) de extrato do resíduo de *Malpighia emarginata*.



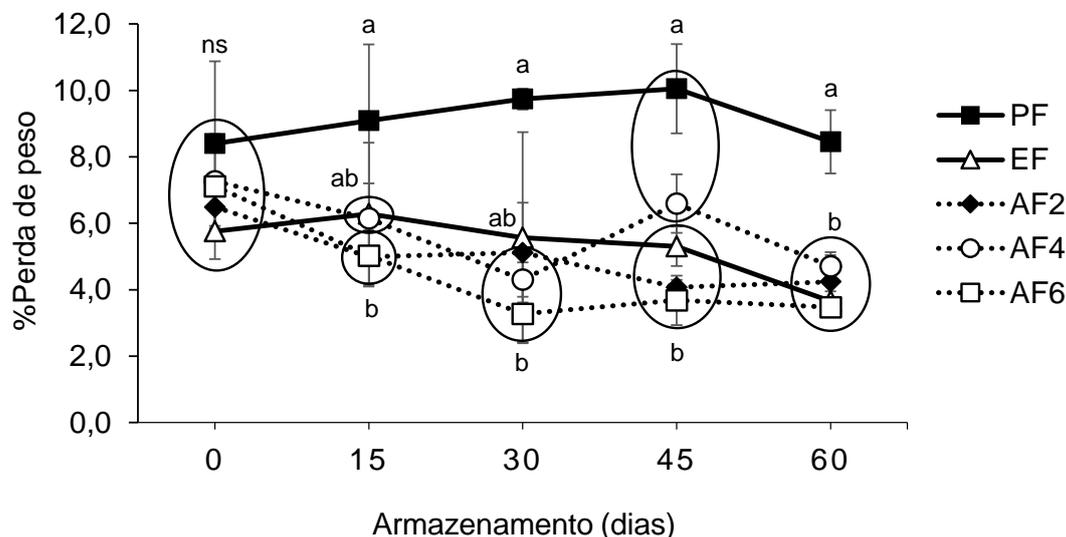
Letras diferentes mostram diferença significativa entre os tratamentos dentro de cada período de armazenamento e os círculos agrupam os tratamentos que não diferiram pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns: não significativo.

3.4 Perda de peso dos hambúrgueres por centrifugação

Os resultados da análise de perda de peso dos hambúrgueres durante o armazenamento congelado encontram-se dispostos na Figura 4.

Houve efeito do tratamento, do armazenamento e da interação entre os fatores ($p < 0,05$). No primeiro dia de armazenamento, não foi verificada diferença nas perdas de peso entre os tratamentos avaliados. No entanto, ao final dos 60 dias, as amostras tratadas com filme à base de gelatina com e sem adição do ERA (EF, AF2, AF4 e AF6) apresentaram as menores perdas de peso, indicando que o filme a base de gelatina foi eficiente em preservar a capacidade das proteínas em reter a água mediante a aplicação de forças externas. Houve efeito do armazenamento apenas para amostra AF6 que apresentou valores mais baixos de perda de peso a partir do tempo 30. Esta menor perda para os hambúrgueres envolvidos com gelatina pode estar associada a presença de aminoácidos hidrofílicos em sua constituição, como Glicina, Serina, Treonina, Ácido aspártico, os quais têm a capacidade de reter água, implicando em menor perda de peso ao produto (Jridi et al., 2018).

Figura 4. Efeito do armazenamento congelado sobre a perda de peso dos hambúrgueres com filme comercial (PF), filme de gelatina sem extrato (EF) e filme adicionado de 2 (AF2), 4 (AF4) e 6% (AF6) de extrato do resíduo de *Malpighia emarginata*.



Letras diferentes mostram diferença significativa entre os tratamentos dentro de cada período de armazenamento e os círculos agrupam os tratamentos que não diferiram pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns: não significativo.

Kaewprachu et al. (2015) verificaram que a perda de peso da carne de porco picada envolvida com filme de gelatina incorporada com catequina-lisoizima foi menor do que a envolvida com filme controle de PVC durante o armazenamento refrigerado, associando este fato aos grupos hidrofílicos presentes na gelatina. Semelhante aos resultados observados no presente trabalho, Jridi et al. (2018) obtiveram os menores percentuais de perda de peso para amostras de carne bovina tratadas com filme de gelatina com e sem a incorporação de extrato de henna (*L. inermis*) ao final do armazenamento refrigerado em relação à amostra controle.

3.5 Estabilidade oxidativa dos hambúrgueres durante o armazenamento congelado (-18 °C)

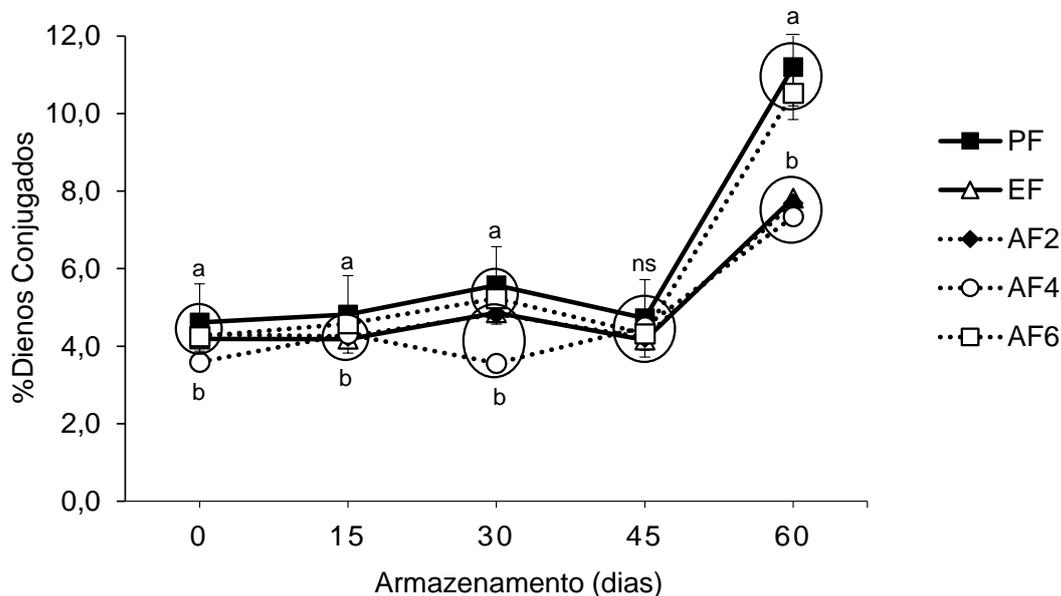
Os resultados obtidos para a avaliação dos dienos conjugados (DC) estão dispostos na Figura 5. Houve efeito do tipo de filme, do armazenamento e da interação entre os fatores ($p < 0,05$). No início do armazenamento, a amostra AF4 apresentou os menores valores de dienos conjugados. O tratamento EF não

diferiu das amostras AF2 e AF4 nas análises realizadas a partir do 15º dia de armazenamento. Aos 60 dias, os maiores valores de dienos conjugados foram encontrados no hambúrguer revestido com filme plástico comercial (PF) e com o filme a base de gelatina com maior concentração de ERA (6%, v/v), variando de 4,61% a 11,20% para PF e de 4,25% a 10,53% para AF6. Durante o armazenamento congelado, houve aumento significativo da formação de dienos conjugados para todas amostras a partir do tempo 15, com exceção da amostra AF4 que foi afetada pelo armazenamento somente a partir do tempo 30. A concentração de 4% de extrato (v/v) foi mais efetiva para retardar a produção de dienos conjugados, variando de 3,59 a 7,34 com redução de 34,46% na formação destes compostos sobre a amostra PF no final do armazenamento.

Os maiores valores de dienos conjugados observados para a amostra PF podem ser atribuídos a ausência de compostos antioxidantes no filme comercial de PVC, enquanto que o filme com maior concentração de extrato da acerola (AF6) provavelmente apresentou-se como agente pró-oxidante, intensificando a ação dos radicais livres, uma vez que foi observado valores menores de dienos conjugados para as amostras AF2 e AF4 que continham concentrações menores de ERA.

Os dienos conjugados são produtos do estágio inicial da oxidação lipídica (Guyon et al., 2016; Wang et al., 2019a). No decorrer da oxidação, os hidroperóxidos de DC se decompõem em compostos secundários, impossibilitando a capacidade de absorver a luz UV, ocasionando redução nos valores de DC (Akcan et al., 2017). Com isso, verifica-se que a concentração de extrato usada no tratamento AF4 foi capaz de inibir as reações de oxidação primária dos hambúrgueres durante o armazenamento. Corroborando com estes resultados, Fang et al. (2018) verificaram que o revestimento de quitosana incorporado com 2% de ácido gálico foi mais efetivo contra a oxidação lipídica em lombo suíno (armazenada sob refrigeração em embalagem de atmosfera modificada) do que o revestimento contendo 4% do ácido gálico. Akcan et al. (2017) verificaram menores valores de dienos conjugados para amostras tratadas com filmes de proteína de soro de leite contendo fitoquímicos de *Laurus nobilis* L. e *Salvia officinalis*, em relação à amostra controle durante o armazenamento congelado.

Figura 5. Resultado de dienos conjugados dos hambúrgueres com filme comercial (PF), filme de gelatina sem extrato (EF) e filme adicionado de 2 (AF2), 4 (AF4) e 6% (AF6) de extrato do resíduo de *Malpighia emarginata* durante o armazenamento congelado.



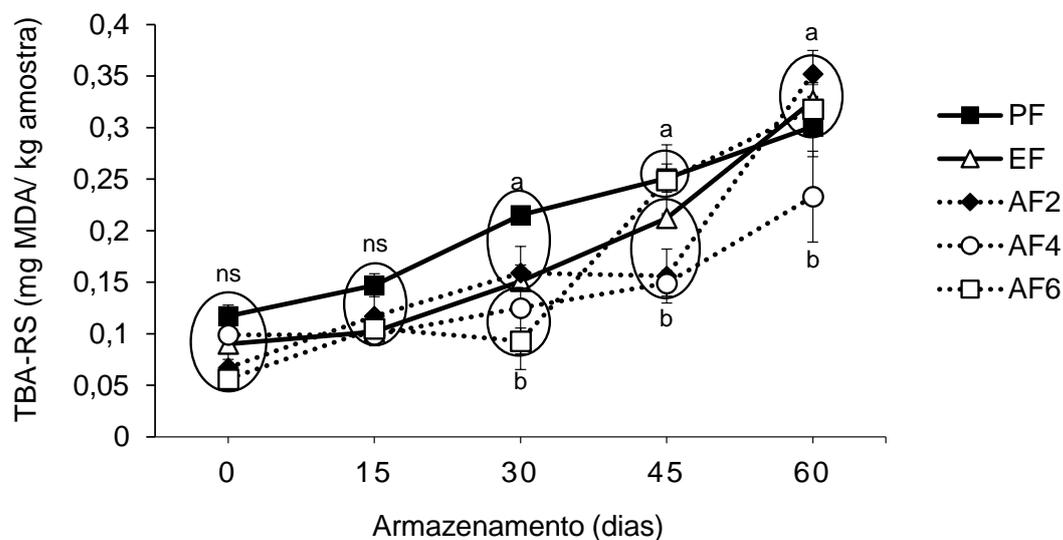
Letras diferentes mostram diferença significativa entre os tratamentos dentro de cada período de armazenamento e os círculos agrupam os tratamentos que não diferiram pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns: não significativo.

As amostras de hambúrgueres foram submetidas a quantificação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS), cujo resultado encontra-se disposto na Figura 6. Verificou-se efeito do tipo de filme, do tempo de armazenamento e da interação entre os fatores ($p < 0,05$). Não houve diferença entre os hambúrgueres até o 15º dia. Aos trinta dias, as amostras AF4 e AF6 apresentaram menor conteúdo de TBA-RS, diferindo das amostras controle (PF e EF) e do tratamento AF2. No tempo 60, a amostra AF4 mostrou os menores valores de TBA-RS, diferindo dos demais tratamentos.

Os valores de TBA-RS aumentaram ao longo do armazenamento congelado para todos os tratamentos. Houve aumento para todas as amostras a partir do dia 15, com exceção do tratamento AF6, que se manteve constante até o 30º dia. Ao final do armazenamento, o revestimento do hambúrguer bovino com filme de gelatina incorporado com 4% do ERA (AF4) mostrou-se mais efetivo para o controle da formação de compostos secundários da oxidação lipídica, com redução de 23,58% em relação a amostra embalada com filme

plástico (PF) ao final dos 60 dias de armazenamento sob congelamento. Este resultado é condizente com a análise colorimétrica, onde o tratamento AF4 mostrou efetividade na manutenção da cor vermelha da carne durante o armazenamento dos hambúrgueres.

Figura 6. Resultado de TBA-RS dos hambúrgueres com filme comercial (PF), filme de gelatina sem extrato (EF) e filme adicionado de 2 (AF2), 4 (AF4) e 6% (AF6) de extrato do resíduo de *Malpighia emarginata* durante o armazenamento congelado.



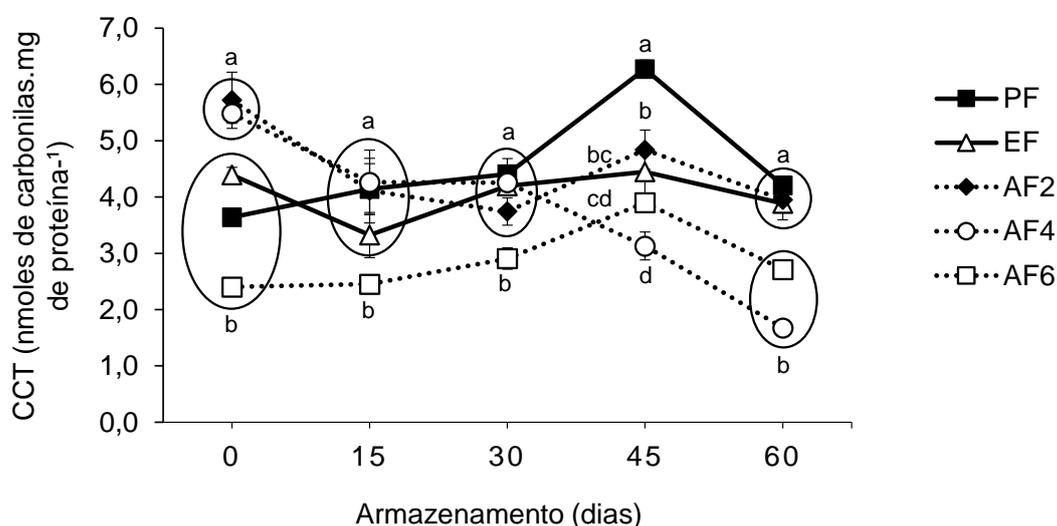
Letras diferentes mostram diferença significativa entre os tratamentos dentro de cada período de armazenamento e os círculos agrupam os tratamentos que não diferiram pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns: não significativo.

O aumento nos valores de TBA-RS das amostras armazenadas sob congelamento pode ser associado à instabilidade dos hidroperóxidos e sua decomposição em malonaldeído (Li et al., 2019). Semelhante a este trabalho, Jridi et al. (2018) verificaram redução da formação de TBA-RS em amostras de carne bovina tratadas com filme de gelatina incorporado com extrato de hena (*L. inermis*) em relação a amostra controle sob armazenamento refrigerado. Battisti et al. (2017) também obtiveram valores de TBA-RS menores para amostras de carne bovina revestida com filme à base de gelatina e ácido cítrico em relação a amostra controle durante o armazenamento refrigerado. Em outro estudo, Bermúdez-Oria et al. (2019) verificaram menores valores de TBA-RS para amostras de carne bovina revestidas com películas comestíveis de gelatina de

peixe e pectina incorporadas de antioxidantes de azeitona (hidroxitirosol e 3,4-di-hidroxifenilglicol) em relação à amostra controle, durante armazenamento refrigerado.

A oxidação proteica dos hambúrgueres foi avaliada através da determinação dos compostos carbonílicos totais e o resultado encontra-se disposto na Figura 7.

Figura 7. Resultado de compostos carbonílicos totais (CCT) dos hambúrgueres com filme comercial (PF), filme de gelatina sem extrato (EF) e filme adicionado de 2 (AF2), 4 (AF4) e 6% (AF6) de extrato do resíduo de *Malpighia emarginata* durante o armazenamento congelado.



Letras diferentes mostram diferença significativa entre os tratamentos dentro de cada período de armazenamento e os círculos agrupam os tratamentos que não diferiram pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns: não significativo.

Houve efeito significativo do tratamento, do tempo de armazenamento congelado sobre a oxidação das proteínas e da interação entre os fatores ($p > 0,05$). O hambúrguer revestido com filme comercial (PF) apresentou concentração de compostos carbonílicos totais que variaram de 3,64 a 4,21 ao longo do armazenamento. Os hambúrgueres tratados com filmes contendo extrato do resíduo da acerola apresentaram valores mais elevados de compostos carbonílicos no início do armazenamento, com posterior redução até o 60º dia, com exceção da amostra AF6 que só foi afetada pelo armazenamento aos 45 dias, onde apresentou um aumento na produção de compostos

carbonílicos. No entanto, as amostras AF4 e AF6 apresentaram os menores valores de carbonílicos totais ao final do armazenamento.

As maiores concentrações do ERA (4 e 6%, v/v) foram efetivas na proteção contra a oxidação proteica dos hambúrgueres, onde os tratamentos AF4 e AF6 mostraram uma redução de 60,14 e 35,50%, respectivamente, na produção de compostos carbonílicos, comparado à amostra controle no final do armazenamento. Considerando-se as diferenças entre os mecanismos de oxidação lipídica e proteica, o fato do tratamento AF6 ter apresentado efeito pró-oxidante para a oxidação lipídica e antioxidante para oxidação proteica nas amostras avaliadas pode estar relacionado ao tipo de ação antioxidante (doador de elétron, quelante de metais) dos compostos fenólicos do extrato, que provavelmente apresentaram maior atividade como quelante de metais, quelando o Fe^{3+} , por exemplo, fornecendo uma intensa proteção contra oxidação proteica (Lorenzo et al., 2018).

De fato, os compostos fenólicos presentes no ERA, principalmente os flavonoides catequina e quercetina, têm efeito positivo contra a oxidação proteica (Tabassum et al., 2007; Sohaib et al., 2017). Os compostos carbonílicos são formados a partir de reações oxidativas irreversíveis e não enzimáticas das proteínas, principalmente por oxidação direta de cadeias laterais de aminoácidos suscetíveis (lisina, treonina, arginina e prolina) (Estévez, 2011).

As principais consequências da oxidação proteica em carnes e derivados consiste na destruição de proteínas como a mioglobina e proteínas miofibrilares (implicando na redução das propriedades funcionais das proteínas), alterações na cor e na textura do produto (Wang et al., 2019b), além de afetar negativamente o valor nutricional da carne e seus produtos, devido à modificação de aminoácidos essenciais (La Pomélie et al., 2018).

Em estudo recente, Chauhan et al. (2019) reportaram menores valores de compostos carbonílicos em amostras de carne suína tratadas com extrato de *Terminalia arjuna* ao final do armazenamento refrigerado, comparado à amostra controle. Lorenzo et al. (2014) obtiveram menores teores de carbonilas para amostras de carne de potro revestidas com filme ativo contendo 2% de óleo essencial de orégano e filme ativo contendo 1% de extrato de chá verde durante o armazenamento refrigerado em relação ao controle. Da mesma forma, Mohan et al. (2019) encontraram diferença significativa entre amostras de frango

armazenadas em diferentes embalagens sob refrigeração, onde a carne revestida com o filme contendo as especiarias cravo (*Syzygium aromaticum*) e canela (*Cinnamomum cassia*) apresentaram redução na formação de compostos carbonílicos em comparação a amostra controle.

4 CONCLUSÕES

É possível afirmar que o filme à base de gelatina incorporado com extrato do resíduo da acerola possui características favoráveis para redução da oxidação lipídica e proteica em hambúrguer, estabilizando a coloração vermelha e reduzindo as perdas de peso dos hambúrgueres armazenados sob congelamento. O incremento de 4% do extrato no filme apresenta maior efetividade contra a oxidação lipídica e proteica dos hambúrgueres de carne, estendendo a vida de prateleira do produto durante o armazenamento sob congelamento. Desta forma, o uso de extratos de resíduos de frutas, tais como a acerola, como substância antioxidante em embalagens biodegradáveis parece ser uma estratégia sustentável para agregar valor aos subprodutos vegetais, configurando-se como uma alternativa para a substituição de filmes plásticos e de antioxidantes sintéticos, visando a conservação do produto e do meio ambiente, além da saúde do consumidor. Contudo, estudos futuros devem ser realizados para avaliar o efeito do armazenamento nas características sensoriais dos produtos revestidos com filmes à base de gelatina incorporados com extrato de resíduos da acerola.

5 REFERÊNCIAS

Adilah, A.N., Jamilah, B., Noranizan, M.A., Hanani, Z.N. (2018). Utilization of mango peel extracts on the biodegradable films for active packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 16, p. 1-7.

Akcan, T., Estévez, M., Serdaroğlu, M. (2017). Antioxidant protection of cooked meatballs during frozen storage by whey protein edible films with phytochemicals from *Laurus nobilis* L. and *Salvia officinalis*. **LWT-Food Science and Technology**, v. 77, p. 323-331.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. (2005). **Official Methods of analysis of Association of Official Chemists** (13^a ed.). Washington, USA: AOAC.

ASTM (2011). AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM D5477-11. Standard Practice for Identification of Polymer Layers or Inclusions by Fourier Transform Infrared Microspectroscopy (FT-IR)**.

ASTM (2012). AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM D882-12. Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting**, Philadelphia.

ASTM (2016). AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM E96/E96M-16. Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials**.

Battisti, R., Fronza, N., Júnior, Á. V., Da Silveira, S. M., Damas, M. S. P., Quadri, M. G. N. (2017). Gelatin-coated paper with antimicrobial and antioxidant effect for beef packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v.11, p.115-124.

Beigomi, M., Mohsenzadeh, M., Salari, A. (2018). Characterization of a novel biodegradable edible film obtained from *Dracocephalum moldavica* seed mucilage. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.108, p.874-883.

Belwal, T., Devkota, H. P., Hassan, H. A., Ahluwalia, S., Ramadan, M. F., Mocan, A., Atanasov, A. G. (2018). Phytopharmacology of Acerola (*Malpighia* spp.) and its potential as functional food. **Trends in Food Science & Technology**, v.74, p.99-106.

Bermúdez-Oria, A., Rodríguez-Gutiérrez, G., Rubio-Senent, F., Fernández-Prior, Á., Fernández-Bolaños, J. (2018). Effect of edible pectin-fish gelatin films containing the olive antioxidants hydroxytyrosol and 3, 4-dihydroxyphenylglycol on beef meat during refrigerated storage. **Meat Science**, v. 148, p. 213-218.

Chauhan, P., Pradhan, S. R., Das, A., Nanda, P. K., Bandyopadhyay, S., Das, A. K. (2019). Inhibition of lipid and protein oxidation in raw ground pork by *Terminalia arjuna* fruit extract during refrigerated storage. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.32, n.2, p.265-273.

Choi, M.H., Kim, H.S., Lee, H.S. (2002). Effects of ascorbic acid retention on juice color and pigment stability in blood orange (*Citrus sinensis*) juice during refrigerated storage. **Food Research International**, v.35, p.753-759.

Costa, D.M.A., Santos, A.F., Silva, E.D., Silva, I. A. (2017). Desenvolvimento e caracterização de filmes à base de amido de feijão macáçar (*Vigna unguiculata* (L.) Wap). **Holos**, v.7, p.2-16.

Crizel, T. M., Rios, A. O., Thys, R. C. S., Flôres, S. H. (2015). Effects of orange byproduct fiber incorporation on the functional and technological properties of pasta. **Food Science and Technology**, v.35, n.3, p.546-551.

Estévez, M. (2011). Protein carbonyls in meat systems: A review. **Meat Science**, v.89, n.3, p.259-279.

Fang, Z., Lin, D., Warner, R. D., Ha, M. (2018). Effect of gallic acid/chitosan coating on fresh pork quality in modified atmosphere packaging. **Food Chemistry**, v.260, p.90-96.

Feng, M., Yu, L., Zhu, P., Zhou, X., Liu, H., Yang, Y., Chen, P. (2018). Development and preparation of active starch films carrying tea polyphenol. **Carbohydrate Polymers**, v.196, p.162-167.

Ganhão, R., Estévez, M., Morcuende, D. (2011). Suitability of the TBA method for assessing lipid oxidation in a meat system with added phenolic-rich materials. **Food Chemistry**, v.126, n.2, p.772-778.

Ganhão, R., Morcuende, D., Estévez, M. (2010). Protein oxidation in emulsified cooked burger patties with added fruit extracts: Influence on colour and texture deterioration during chill storage. **Meat Science**, v. 85, n.3, 402-409.

- Ge, L., Zhu, M., Li, X., Xu, Y., Ma, X., Shi, R & Mu, C. (2018). Development of active rosmarinic acid-gelatin biodegradable films with antioxidant and long-term antibacterial activities. **Food Hydrocolloids**, v.83, p.308-316.
- Guyon, C., Meynier, A., de Lamballerie, M. (2016). Protein and lipid oxidation in meat: A review with emphasis on high-pressure treatments. **Trends in Food Science & Technology**, v.50, p.131-143.
- Hanani, Z. N., Yee, F. C., Nor-Khaizura, M. A. R. (2019). Effect of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel powder on the antioxidant and antimicrobial properties of fish gelatin films as active packaging. **Food Hydrocolloids**, v.89, p.253-259.
- Herrero, A. M., Carmona, P., García, M. L., Solas, M. T., Careche, M. (2005). Ultrastructural changes and structure and mobility of myowater in frozen-stored hake (*Merluccius merluccius* L.) muscle: relationship with functionality and texture. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.7, p.2558-2566.
- Inai, M., Miura, Y., Honda, S., Masuda, A., Masuda, T. (2014). Metmyoglobin reduction by polyphenols and mechanism of the conversion of metmyoglobin to oxymyoglobin by quercetin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.62, n.4, p.893-901.
- IUPAC. (1992). Evidence of purity and deterioration from ultraviolet spectrophotometry standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives (7th ed.). **Oxford, UK: Pergamon Press**, 1992.
- Jridi, M., Mora, L., Souissi, N., Aristoy, M. C., Nasri, M., Toldrá, F. (2018). Effects of active gelatin coated with henna (*L. inermis*) extract on beef meat quality during chilled storage. **Food Control**, v.84, p.238-245.
- Kaewprachu, P., Amara, C. B., Oulahal, N., Gharsallaoui, A., Joly, C., Tongdeesoontorn, W., Saroat, Degraeve, P. (2018). Gelatin films with nisin and catechin for minced pork preservation. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 18, p. 173-183.
- Kaewprachu, P., Osako, K., Benjakul, S., Rawdkuen, S. (2015). Quality attributes of minced pork wrapped with catechin-lysozyme incorporated gelatin film. **Food Packaging and Shelf Life**, v.3, p.88-96.
- Kalem, I.K., Bhat, Z.F., Kumar, S., Noor, S., Desai, A. (2018). The effects of bioactive edible film containing *Terminalia arjuna* on the stability of some quality attributes of chevon sausages. **Meat Science**, v.140, p. 38-43.

Kannan, R. R. R., Arumugam, R., Thangaradjou, T., Anantharaman, P. (2013). Phytochemical constituents, antioxidant properties and p-coumaric acid analysis in some seagrasses. **Food Research International**, v.54, n.1, p.1229-1236.

La Pomélie, D., Santé-Lhoutellier, V., Sayd, T., Gatellier, P. (2018). Oxidation and nitrosation of meat proteins under gastro-intestinal conditions: Consequences in terms of nutritional and health values of meat. **Food Chemistry**, v.243, p.295-304.

Li, B., Xu, Y., Li, J., Niu, S., Wang, C., Zhang, N., Zhang, M., Yang K., Zhou S., Chen S., Ele L., Liu S., Yin S., Yang Y. (2019). Effect of oxidized lipids stored under different temperatures on muscle protein oxidation in Sichuan-style sausages during ripening. **Meat Science**, v.147, p.144-154.

Liu, J., Yong, H., Liu, Y., Qin, Y., Kan, J., Liu, J. (2019). Preparation and characterization of active and intelligent films based on fish gelatin and haskap berries (*Lonicera caerulea* L.) extract. **Food Packaging and Shelf Life**, v.22, p.100417.

Lorenzo, J. M., Pateiro, M., Domínguez, R., Barba, F. J., Putnik, P., Kovačević, D. B. Shpigelman, A. Granato, D. Franco, D. (2018). Berries extracts as natural antioxidants in meat products: A review. **Food Research International**, v.106, p.1095-1104.

Lorenzo, J. M., Batlle, R., Gómez, M. (2014). Extension of the shelf-life of foal meat with two antioxidant active packaging systems. **LWT-Food Science and Technology**, v.59, n.1, p.181-188.

Malegori, C., Marques, E. J. N., De Freitas, S. T., Pimentel, M. F., Pasquini, C., Casiraghi, E. (2017). Comparing the analytical performances of Micro-NIR and FT-NIR spectrometers in the evaluation of acerola fruit quality, using PLS and SVM regression algorithms. **Talanta**, v.165, p.112-116.

Mcmillan, K.W. (2017). Advancements in meat packaging. **Meat Science**, v.132, p.153-162.

Medina-Jaramillo, C., Ochoa-Yepes, O., Bernal, C., Famá, L. (2017). Active and smart biodegradable packaging based on starch and natural extracts. **Carbohydrate Polymers**, v.176, n.187-194.

Mir, S.A., Dar, B.N., Wani, A. A., Shah, M.A. (2018). Effect of plant extracts on the techno-functional properties of biodegradable packaging films. **Trends in Food Science & Technology**, v.80, p.141-154.

Mohan, C. C., Harini, K., Sudharsan, K., Krishnan, K. R., Sukumar, M. (2019). Quorum quenching effect and kinetics of active compound from *S. aromaticum* and *C. cassia* fused packaging films in shelf life of chicken meat. **LWT-Food Science and Technology**, v.105, p.87-102.

Nogueira, G. D., Silva, P. B., Duarte, C. R., Barrozo, M. A. (2019). Analysis of a hybrid packed bed dryer assisted by infrared radiation for processing acerola (*Malpighia emarginata* DC) residue. **Food and Bioproducts Processing**, v.114, p.235-244.

Noor, S., Bhat, Z. F., Kumar, S., Mudiyanse, R. J. (2018). Preservative effect of *Asparagus racemosus*: A novel additive for bioactive edible films for improved lipid oxidative stability and storage quality of meat products. **Meat Science**, n.139, p.207-212.

Rasid, N. A. M., Nazmi, N. N. M., Isa, M. I. N., & Sarbon, N. M. (2018). Rheological, functional and antioxidant properties of films forming solution and active gelatin films incorporated with *Centella asiatica* (L.) urban extract. **Food Packaging and Shelf Life**, v.18, p.115-124.

Rezende, Y.R.R.S., Nogueira, J.P., Narain, N. (2017). Comparison and optimization of conventional and ultrasound assisted extraction for bioactive compounds and antioxidant activity from agro-industrial acerola (*Malpighia emarginata* DC) residue. **LWT-Food Science and Technology**, v.85, p.158-169.

Shankar, S., Wang, L. F., Rhim, J. W. (2019). Effect of melanin nanoparticles on the mechanical, water vapor barrier, and antioxidant properties of gelatin-based films for food packaging application. **Food Packaging and Shelf Life**, v.21, p.100363.

Siripatrawan, U., Harte, B.R. (2010). Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. **Food Hydrocolloids**, v.24, n.8, p.770–775.

Sohaib, M., Anjum, F. M., Arshad, M. S., Imran, M., Imran, A., Hussain, S. (2017). Oxidative stability and lipid oxidation flavoring volatiles in antioxidants treated chicken meat patties during storage. **Lipids in health and disease**, v.16, n.1, p. 27.

Soncu, E.D., Arslan, B., Ertürk, D., Küçükaya, S., Özdemir, N., Soyer, A. (2018). Microbiological, physicochemical and sensory characteristics of Turkish fermented sausages (sucuk) coated with chitosan-essential oils. **LWT-Food Science and Technology**, v. 97, p. 198-204.

- Spagnol, C. M., Assis, R. P., Brunetti, I. L., Isaac, V. L. B., Salgado, H. R. N., Corrêa, M. A. (2019). In vitro methods to determine the antioxidant activity of caffeic acid. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v.219, p.358-366.
- Staroszczyk, H., Kusznierevicz, B., Malinowska-Pańczyk, E., Sinkiewicz, I., Gottfried, K., Kołodziejaska, I. (2020). Fish gelatin films containing aqueous extracts from phenolic-rich fruit pomace. **LWT-Food Science and Technology**, v.117, p.108613.
- Suderman, N., Isa, M.I.N., Sarbon, N.M. (2018). The effect of plasticizers on the functional properties of biodegradable gelatin-based film: A review. **Food Bioscience**, v. 24, p. 111-119.
- Tabassum, H., Parvez, S., Rehman, H., Banerjee, B. D., Raisuddin, S. (2007). Catechin as an antioxidant in liver mitochondrial toxicity: Inhibition of tamoxifen-Induced protein oxidation and lipid peroxidation. **Journal of Biochemical And Molecular Toxicology**, v.21, n.3, p.110-117.
- Tajik, S., Zarinkamar, F., Soltani, B. M., Nazari, M. (2019). Induction of phenolic and flavonoid compounds in leaves of saffron (*Crocus sativus* L.) by salicylic acid. **Scientia Horticulturae**, v.257, p.108751.
- Takma, D. K., Korel, F. (2019). Active packaging films as a carrier of black cumin essential oil: Development and effect on quality and shelf-life of chicken breast meat. **Food Packaging and Shelf Life**, v.19, p.210-217.
- Turan, D., Sänglerlaub, S., Stramm, C., Gunes, G. (2017). Gas permeabilities of polyurethane films for fresh produce packaging: response of O₂ permeability to temperature and relative humidity. **Polymer Testing**, v.59, p.237-244.
- Turgut, S.S., Işikçi, F., Soyer, A. (2017). Antioxidant activity of pomegranate peel extract on lipid and protein oxidation in beef meatballs during frozen storage. **Meat Science**, v.129, p. 111-119.
- Wang, Y. Z., Wang, S. Y., Fu, S. G., Yang, D. J., Yu, Y. S., Chen, J. W., Chen, Y. C. (2019a). Effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extracts and dry ice on the physicochemical stability of omega-3 fatty-acid-fortified surimi-like meat products. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.99, n.8, p.3843-3851.
- Wang, Z., He, Z., Emara, A. M., Gan, X., Li, H. (2019b). Effects of malondialdehyde as a byproduct of lipid oxidation on protein oxidation in rabbit meat. **Food Chemistry**, v.288, p.405-412.

Wu, J., Liu, H., Ge, S., Wang, S., Qin, Z., Chen, L., Zheng, Q., Liu, Q., Zhang, Q. (2015). The preparation, characterization, antimicrobial stability and in vitro release evaluation of fish gelatin films incorporated with cinnamon essential oil nanoliposomes. **Food Hydrocolloids**, v.43, p.427-435.

Yong, H., Wang, X., Bai, R., Miao, Z., Zhang, X., Liu, J. (2019). Development of antioxidant and intelligent pH-sensing packaging films by incorporating purple-fleshed sweet potato extract into chitosan matrix. **Food Hydrocolloids**, v.90, p.216-224.

Zamuz, S., López-Pedrouso, M., Barba, F. J., Lorenzo, J. M., Domínguez, H., Franco, D. (2018). Application of hull, bur and leaf chestnut extracts on the shelf-life of beef patties stored under MAP: Evaluation of their impact on physicochemical properties, lipid oxidation, antioxidant, and antimicrobial potential. **Food Research International**, v.112, p.263-273.

Zhang, H., He, P., Kang, H., Li, X. (2018). Antioxidant and antimicrobial effects of edible coating based on chitosan and bamboo vinegar in ready to cook pork chops. **LWT-Food Science and Technology**, v. 93, p. 470-476.

Zhang, X., Ma, L., Yu, Y., Zhou, H., Guo, T., Dai, H., Zhang, Y. (2019). Physico-mechanical and antioxidant properties of gelatin film from rabbit skin incorporated with rosemary acid. **Food Packaging and Shelf Life**, v.19, p.121-130.

Zheng, L., Yu, H., Wei, H., Xing, Q., Zou, Y., Zhou, Y., Peng, J. (2018). Antioxidative peptides of hydrolysate prepared from fish skin gelatin using ginger protease activate antioxidant response element-mediated gene transcription in IPEC-J2 cells. **Journal of Functional Foods**, v.51, p.104-112.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O resíduo do despolpamento da acerola apresenta características interessantes em termos de compostos com propriedades biológicas para utilização no segmento industrial. O modelo matemático desenvolvido para determinar as condições ótimas de extração das substâncias com potencial bioativo mostra-se efetivo para prever o rendimento do extrato e atividade antioxidante. Além disso, o extrato otimizado apresentou elevado conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante.

O filme ativo à base de gelatina e extrato do resíduo da acerola apresenta boas propriedades físicas e de barreira e sua aplicação em hambúrguer bovino é efetiva no controle das reações de oxidação lipídica e proteica, prolongando a vida útil do produto.

Diante disto, é possível afirmar que o filme ativo de gelatina incorporado com extrato do resíduo da acerola pode ser utilizado na indústria de alimentos para o armazenamento congelado de carne e derivados como substituto do filme de origem petroquímica e de antioxidante sintéticos. Todavia, estudos futuros voltados para otimização do processo de obtenção dos filmes, bem como avaliação sensorial do produto revestido com os filmes ativos podem fornecer respostas que afirmem qual a concentração ideal do extrato e aceitável pelo consumidor para aplicação a nível industrial.