



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

ANTONIA DAYANE JENYFFER DE FARIAS MARQUES

**IMPACTO DO EXTRATO DA CASCA DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) NOS PROCESSOS OXIDATIVOS EM
HAMBÚRGUER DE FRANGO**

JOÃO PESSOA-PB

2022

ANTONIA DAYANE JENYFFER DE FARIAS MARQUES

**IMPACTO DO EXTRATO DA CASCA DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) NOS PROCESSOS OXIDATIVOS EM
HAMBÚRGUER DE FRANGO**

JOÃO PESSOA-PB

2022

ANTONIA DAYANE JENYFFER DE FARIAS MARQUES

**IMPACTO DO EXTRATO DA CASCA DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) NOS PROCESSOS OXIDATIVOS EM
HAMBÚRGUER DE FRANGO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFPB em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Taliana Kênia Alencar Bezerra

Coorientadora: Dra. Lorena Lucena de Medeiros

JOÃO PESSOA-PB

2022

M357i Marques, Antonia Dayane Jenyffer de Farias.

Impacto do extrato da casca de café (Coffea arábica L.) nos processos oxidativos em hambúrguer de frango / Antonia Dayane Jenyffer de Farias Marques. - João Pessoa, 2022.

81 f. : il.

Orientação: Taliana Kênia Alencar Bezerra.

Coorientação: Lorena Lucena de Medeiros.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CT.

1. Subprodutos de café. 2. Extratos naturais. 3. Hambúrguer de frango. 4. Oxidação lipídica. 5. Oxidação proteica. I. Bezerra, Taliana Kênia Alencar. II. Medeiros, Lorena Lucena de. III. Título.

UFPB/BC

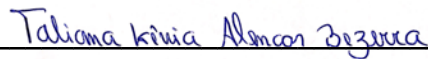
CDU 633.73(043)

ANTONIA DAYANE JENYFFER DE FARIAS MARQUES

**IMPACTO DO EXTRATO DA CASCA DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) NOS PROCESSOS
OXIDATIVOS EM HAMBÚRGUER DE FRANGO**

Dissertação Aprovada em 03/ 03/ 2022.

BANCA EXAMINADORA



Prof.^a Dra. Taliana Kênia Alencar Bezerra – PPGCTA/CT/UFPB
Presidente da Banca Examinadora



Dra. Lorena Lucena de Medeiros – PPGCTA/CT/UFPB
Coorientadora



Dra. Marta Suely Madruga – PPGCTA/CT/UFPB
Examinador Interno



Dra. Leila Moreira de Carvalho – CT/UFPB
Examinador Externo

DEDICATÓRIA

Ao meu Deus pela imerecida graça e
misericórdia que se renovam a cada dia,
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus, por toda a graça derramada em minha vida; por todas as vezes que lembrou ao meu coração que o controle de tudo está em Suas mãos; por ser fonte inesgotável de amor, paz, sabedoria, esperança e força; pelas pessoas que colocou em meu caminho; por ser o motivo de tudo que sou e que estou me tornando. Ao único que é digno de toda honra, glória e gratidão.

À minha família, por acreditar e investir em meus sonhos; por se alegrar e torcer por minhas conquistas; por me apoiar e se fazer presente. Especialmente a minha mãe, por todo o amor, dedicação e sacrifícios ao longo de toda a minha vida; aos meus avós, por todo afeto dedicados a mim; aos meus tios, pelo apoio; aos meus irmãos por toda a união, amor e dedicação em todos os momentos.

À minha orientadora, Prof^a Taliana Kênia Alencar Bezerra, por se mostrar sempre atenciosa, compreensiva e paciente; pela preocupação e cuidado nos momentos difíceis; por tornar essa trajetória leve e possível de lidar; por ser exemplo e espelho para seus orientandos; pela oportunidade, pelo direcionamento, pelo incentivo e por acreditar em mim.

À Leila Moreira de Carvalho, pelo acolhimento desde os primeiros dias que entrei no laboratório; por me ensinar o “caminho das pedras” na pesquisa de bancada e possibilitar que meus “próprios passos” fossem dados; pela paciência, disponibilidade e pelas contribuições na construção dessa pesquisa.

À Prof^a Marta Suely Madruga, pelas contribuições nesse trabalho e por disponibilizar o suporte e equipamentos necessários para a execução da pesquisa.

A equipe do Laboratório de Flavor, Lorena Lucena, Lary Olegário e Mércia Galvão, por todas as contribuições, pela gentileza e pela disponibilidade que foram fundamentais para a execução da pesquisa.

Às amigas da pós-graduação: Flávia, Natália, Rebeka e Thaianaly por todas as alegrias e momentos de tensão compartilhados; pela amizade e por sonharem voos mais altos junto comigo.

A Deyse, Jerfesson, Rita e Vivi pelo apoio e pela disposição em ajudar na execução das análises.

A Mariana Oliveira, por se mostrar sempre solícita e por todo o auxílio, principalmente nas etapas iniciais do mestrado.

A Miriane Santos pela ajuda na execução da estatística da pesquisa.

Aos amigos Lorrane, Ividy, Yanne, Thais, Lais, Alana, Naina, Raquel, Matheus, Brenno, Layane e Carol por vibrarem com minhas alegrias; por todos os “vai dar certo”; pela escuta; pelas palavras de ânimo e por todos os momentos compartilhados.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida que possibilitou a conclusão desta pesquisa. A FAPESQ pelo recurso financeiro para a realização da pesquisa.

À Universidade Federal da Paraíba (UFPB) por todo o suporte desde a minha graduação e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) por possibilitar a realização de um sonho.

Aos profissionais dessa instituição, especialmente aos meus professores, os quais repassaram conhecimentos imprescindíveis para formar quem sou hoje.

A Fazenda Yaguara Ecológica, pela parceria e disponibilização da matéria-prima necessária para a execução do projeto.

A todos que tiveram participação direta ou indireta durante minha vida acadêmica e pessoal, que com palavras e/ou ações contribuíram para esse importante passo.

*“Mas aqueles que esperam no Senhor renovam
as suas forças. Voam bem alto como águias;
correm e não ficam exaustos, andam e não se
cansam”.*

Isaías 40:31

RESUMO

As reações oxidativas consistem em uma série de alterações químicas associadas a efeitos deletérios na qualidade dos alimentos, as quais têm sido consideradas um dos principais fatores relacionados à deterioração de carnes e derivados. A casca de café, resíduo oriundo do processamento do café, contém substâncias químicas bastante cobiçadas, especialmente compostos fenólicos, os quais são metabólitos secundários bastante reconhecidos por suas propriedades antioxidantes, que podem atuar na prevenção e controle das reações oxidativas. Este estudo teve como objetivo avaliar a capacidade antioxidante do extrato da casca de café (*Coffea arabica* L.) adicionado em hambúrguer de frango. Foram elaboradas duas formulações com adição do extrato (100 e 200 ppm CAE/kg), além das formulações controle, sem adição de antioxidante e com adição de antioxidante sintético. Os produtos foram caracterizados mediante análises físicas e químicas e analisados em intervalos de 15 dias, quanto a sua estabilidade oxidativa, durante 45 dias de armazenamento sob congelamento. A adição de extrato na proporção de 200 ppm CAE/kg de hambúrguer demonstrou eficácia equivalente ao tratamento com adição de antioxidante sintético frente a oxidação lipídica. Quanto a oxidação proteica, não houve influência pró ou antioxidante nos tratamentos. A adição de extrato da casca de café orgânico em hambúrguer de frango é indicada, sendo assim considerado como potencial aditivo natural, além do mais, a utilização da casca de café auxilia minimizando a quantidade de subprodutos agroindustriais gerados pela indústria cafeeira, agregando valor ao produto.

Palavras-chave: Extratos naturais, subprodutos de café, hambúrguer, oxidação lipídica, oxidação proteica.

ABSTRACT

Oxidation reactions are a series of chemical changes that adversely affect food quality and are considered one of the main factors in the spoilage of meat and meat products. Coffee husks, a residue from coffee processing, contain highly desirable chemical substances, especially phenolic compounds, which are secondary metabolites known for their antioxidant properties that can prevent and control oxidative reactions. The aim of this study was to evaluate the antioxidant capacity of coffee husk extract (*Coffea arabica* L.) added to chicken hamburger. Two formulations with addition of the extract (100 and 200 ppm CAE/kg) were prepared, besides the control formulations without addition of antioxidants and with addition of synthetic antioxidants. The products were characterized by physical and chemical analyzes and tested for oxidative stability at 15-day intervals during 45-day storage under freezing conditions. The addition of the extract containing 200 ppm CAE/kg hamburger showed equivalent efficacy to the treatment with synthetic antioxidant against lipid oxidation. As for protein oxidation, there was no effect of pro- or antioxidant in the treatments. The addition of organic coffee husk extract in chicken hamburger is indicated and therefore considered as a potential natural additive. In addition, the use of coffee husks helps to minimize the amount of agro-industrial by-products generated in the coffee industry and adds value to the product.

Key-words: natural extracts, coffee by-products, Burger, lipid oxidation, protein oxidation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

MATERIAL E MÉTODOS

Figura 1. Delineamento experimental.....	27
--	----

ARTIGO - Oxidative stability of chicken burgers with organic coffee husk extract

Figure 1. Result of the instrumental staining of the raw samples.....	79
Figure 2. Result of the oxidation of burgers.....	80
Figure 3. Hierarchical cluster and heat map applied to burgers volatile profile.....	81
Figure 4. Principal Component Analysis.....	82

LISTA DE TABELAS

ARTIGO - Oxidative stability of chicken burgers with organic coffee husk extract

Table 1. Results for antioxidant activity and chemical identification of organic coffee husk extract.....	75
Table 1. Physical and chemical evaluation of chicken burgers with and without the addition of organic coffee husk extract.....	78

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1	INDÚSTRIA CAFEIEIRA: IMPORTÂNCIA GLOBAL E PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL 17	
2.2	APROVEITAMENTO DA CASCA DE CAFÉ NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS	18
2.3	ANTIOXIDANTES	20
2.4	CARNE DE FRANGO E DERIVADOS: IMPORTÂNCIA E LIMITAÇÕES	21
2.5	PERFIL LIPÍDICO DA CARNE DE FRANGO E DERIVADOS	23
2.6	OXIDAÇÕES EM PRODUTOS CÁRNEOS	23
3	MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	27
3.2	MATÉRIA-PRIMA E OBTENÇÃO DO EXTRATO	28
3.3	CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO DE CASCA DE CAFÉ	29
3.3.1	Composição de fenólicos totais	29
3.3.2	Avaliação da capacidade antioxidante do extrato	29
3.4	ELABORAÇÃO DOS HAMBÚRGUERES	31
3.5	ANÁLISES FÍSICAS E QUÍMICAS	31
3.5.1	Atividade de Água e pH	31
3.5.2	Capacidade de Retenção de Água (CRA)	31
3.5.3	Perfil de Textura	32
3.5.4	Composição química parcial	32
3.6	ANÁLISES DE ESTABILIDADE OXIDATIVA	33
3.6.1	Medição das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)	33
3.6.2	Aroma requeimado (WOF)	33
3.6.3	Perfil de voláteis	33
3.6.4	Quantificação de compostos carbonílicos	34
3.6.5	Colorimetria	35
3.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	35
	REFERÊNCIAS	37
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
	ARTIGO	46
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	83

1 INTRODUÇÃO

As reações oxidativas consistem em uma série de alterações químicas associadas a efeitos deletérios na qualidade dos alimentos, as quais têm sido consideradas um dos principais fatores relacionados à deterioração de carnes e derivados (AMARAL; SILVA; LANNES, 2018). A indústria de produtos cárneos tem usado diversas estratégias para minimizar a degradação da qualidade de seus produtos resultantes das reações oxidativas, sendo a aplicação de antioxidantes reconhecida como uma dessas estratégias (ARCANJO et al., 2019).

Os antioxidantes apresentam papel fundamental no aspecto tecnológico, especialmente na manutenção da qualidade de alimentos perecíveis e prolongamento da vida de prateleira, auxiliando na manutenção da qualidade sensorial e nutricional. Por tais propriedades podem ser adicionados a alimentos suscetíveis a alterações oxidativas, dentre eles destacam-se a carne de frango e seus derivados (ESTÉVEZ, 2015; PRETE et al., 2020).

Entre os derivados cárneos, o hambúrguer se sobressai por ter grande aceitação dos consumidores, principalmente em função da praticidade no preparo; porém, trata-se de um produto perecível, sobretudo em decorrência de danos oxidativos favorecidos por sua composição que apresenta alto teor de lipídeos insaturados e proteínas. Esses danos aceleram a deterioração e são associados a alterações sensoriais negativas no produto, rejeição do consumidor, problemas de saúde e perdas econômicas, sendo um problema tanto para quem o produz quanto para quem o consome (CARVALHO; SHIMOKOMAKI; ESTÉVEZ, 2017; ESTÉVEZ, 2015; SOBRAL et al., 2020).

A fim de mitigar esse impasse oxidativo no hambúrguer, geralmente são empregados pela indústria de alimentos os antioxidantes sintéticos, a exemplo do Hidroxitolueno Butilado (BHT), Hidroxianisol Butilado (BHA), Propil Galato (PG) e Terc Butil Hidroquinona (TBHQ) (MARIUTTI; NOGUEIRA; BRAGAGNOLO, 2011). Embora aprovados por órgão de fiscalização e com uso disseminado, a utilização desses aditivos químicos tem sido questionada por ser associado a efeitos deletérios a saúde quando consumidos com frequência (MURAOKA JÚNIOR et al., 2019).

Nesse panorama, a indústria da carne enfrenta o duplo desafio de oferecer produtos processados que sejam estáveis e saudáveis (GULLÓN et al., 2020). Diante disto, estudos sobre a adição de extratos de subprodutos vegetais na redução da

oxidação lipídica e proteica em derivados da carne de frango como alternativa aos sintéticos são de grande interesse, pois além de promover o aproveitamento de subprodutos, possuem potencial como antioxidantes naturais.

O café é um dos produtos vegetais mais consumidos no mundo (MUSSATTO et al., 2011), estima-se que nove milhões de toneladas são produzidas anualmente a nível mundial, tendo o Brasil como maior produtor (USDA, 2020), podendo ser cultivado em sistema convencional ou orgânico, tendo o último, diferencial quanto a potenciais benefícios ambientais e segurança alimentar (CONSONNI; POLLA; CAGLIANI, 2018). Resultante da elevada produção e consumo, são gerados grande volume de resíduos durante as etapas de processamento (CRUZ et al., 2015).

Diante desse cenário, tem-se a preocupação de estabelecer estratégias para atender diligências quanto ao controle de resíduos do café a fim de minimizar impactos ambientais causados pelo descarte (CATALÁN; KOMILIS; SÁNCHEZ, 2019; JIMÉNEZ-ZAMORA; PASTORIZA; RUFÍAN-HENARES, 2015; MUSSATTO et al., 2011).

As cascas representam um dos principais excedentes do processamento do café, considerando que constitui cerca de 50% do grão (SETTER et al., 2020). Esse subproduto contém substâncias químicas bastante cobiçadas, especialmente compostos fenólicos, os quais são metabólitos secundários amplamente distribuídos na natureza e bastante reconhecidos por suas propriedades antioxidantes (ANGELO; JORGE, 2007; BONDESSON, 2015).

Nessa perspectiva, Murthy e Naidu (2012) estudaram subprodutos do café incluindo cascas, quanto a seu conteúdo fenólico e potencial antioxidante, os pesquisadores constataram em seu estudo presença significativa de compostos fenólicos e boa atividade de eliminação de radicais livres, sugerindo ainda a utilização do extrato da casca como antioxidante natural em alimentos. Nesse sentido, este estudo teve como objetivo avaliar a capacidade antioxidante do extrato da casca de café (*Coffea arabica* L.) adicionado em hambúrguer de frango.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 INDÚSTRIA CAFEEIRA: IMPORTÂNCIA GLOBAL E PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL

Classificado comercialmente como uma commodity agrícola, o café é uma das que mais se destacam nas transações internacionais, bem como na oferta doméstica, em termos de quantidade e valor (VEGRO; ALMEIDA, 2020). A produção do café é baseada principalmente em duas espécies de plantas com maior significado comercial, conhecidas como cafés arábica (*C. arabica*) e robusta (*C. canephora*) (USDA, 2020).

O Brasil é responsável por um terço da produção mundial do café, liderando a produção e exportação, além de ocupar o segundo lugar em relação ao consumo. No ano 2020, a previsão de safra de café do Brasil foi avaliada em 59 milhões de sacas. Desse total, 44,5 milhões de sacas referem-se ao produto da espécie arábica (USDA, 2020).

O fruto do café, também chamado de baga ou cereja, é formado pelo epicarpo (casca), mesocarpo (polpa ou mucilagem), endocarpo (pergaminho), prateira e semente (ALVES et al., 2017; ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012; FARAH; DOS SANTOS, 2015).

No Brasil, a maior parte do *Coffea* sp. é cultivada em sistemas convencionais de produção. No entanto, nos últimos anos, a agricultura orgânica surgiu e está criando um novo nicho de mercado para produtos orgânicos, que se sobressaem devido à origem e sabor distintos, produção sustentável e preocupações socioeconômicas para os pequenos cafeicultores (VAN DER VOSSSEN, 2005). A produção é fundamentada na crescente demanda por alimentos e ingredientes livres de fertilizantes químicos ou pesticidas, considerados naturais e mais seguros para o consumo (FALGUERA; ALIGUER; FALGUERA, 2012).

Quanto ao processamento, o café pode ser submetido a dois métodos distintos, via seca ou úmida. No processamento por via seca a secagem é feita diretamente nos grãos, gerando o café em coco que é beneficiado posteriormente. Já o processamento por via úmida consiste na flutuação de bagas danificadas e não maduras na água o que

permite sua separação das maduras, que afundam. Em seguida, a pele e a maior parte da polpa das frutas afundadas são removidas mecanicamente (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012).

Independentemente do método utilizado, resíduos oriundos do processamento são obtidos, constituindo uma fonte de contaminação severa e um sério problema ambiental (ALVES et al., 2017).

A cafeicultura brasileira é uma das mais exigentes do mundo, em relação às questões sociais e ambientais, e há uma preocupação em se garantir a produção de um café sustentável, conforme informações do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2018). Porém, como reflexo à grande produção desse alimento, grandes quantidades de subprodutos são geradas durante a cadeia produtiva, por exemplo, polpa, grãos com defeito, pele de pergaminho e cascas (CRUZ et al., 2015; JIMÉNEZ-ZAMORA; PASTORIZA; RUFIÁN-HENARES, 2015).

Em concordância com a responsabilidade do desenvolvimento sustentável na cadeia cafeeira, pesquisadores têm buscado estratégias para promover um manejo adequado e fomentar o conceito de sustentabilidade a partir da utilização e valorização desses excedentes (MAYANGA-TORRES et al., 2017).

Uma abordagem promissora é o aproveitamento dos resíduos para aplicações inovadoras em matrizes alimentares no intuito de associar o reaproveitamento ao seu potencial tecnológico em alimentos (MARTUSCELLI; ESPOSITO; MASTROCOLA, 2021; RIBEIRO; JORGE, 2017). No entanto, é necessário um sistema integrado por produtores, distribuidores e consumidores, juntamente com organizações e pesquisadores a fim de alcançar tais objetivos (ALVES et al., 2017).

2.2 APROVEITAMENTO DA CASCA DE CAFÉ NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

A casca de café é um dos principais resíduos sólidos obtidos durante o processamento do café (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012), estima-se que para cada tonelada de café produzida, cerca de 1 tonelada de casca é gerada durante o processamento a seco, enquanto no processamento úmido são obtidas mais de 2

toneladas (SAENGER et al., 2001). No entanto, não há projeções lucrativas para esse tipo de subproduto e seu descarte constitui um grande problema (PRATA; OLIVEIRA, 2007).

Pesquisadores têm buscado meios para melhor gerenciamento desse subproduto. Nesse sentido, Tello, Viguera e Calvo (2011) buscaram extrair cafeína de cascas de café da variedade robusta (*C. canephora*) usando dióxido de carbono em condições supercríticas. Os pesquisadores sugeriram as cascas como uma matéria-prima passível de utilização em alimentos no ponto de vista econômico e industrial, por ser um subproduto abundante da indústria cafeeira constituído de compostos de interesse.

A casca de café tem sido investigada principalmente por seu potencial antioxidante a partir da obtenção de extratos. Dessa forma, Andrade et al. (2012) obtiveram extratos de casca e de borra de café (*C. arabica*) e analisaram a composição e a atividade biológica dos extratos. Os extratos de casca de café obtidos apresentaram concentrações relevantes de ácidos clorogênicos e cafeína, além de boa capacidade antioxidante.

De forma semelhante, García e Del Bianchi (2015) estudando a composição fenólica e capacidade antioxidante de resíduos de café (*C. canephora*), tais como polpa, borra e casca, concluíram que dentre os resíduos avaliados, o maior teor de fenóis foi encontrado na casca de café. Ainda atribuíram a presença desses compostos à atividade sequestradora e poder redutor de radicais livres, evidenciando seu potencial antioxidante.

Iriondo-Dehond et al. (2019) objetivaram validar a casca de café, o pergaminho e a pele de prata como novos ingredientes alimentares. Com esse intuito, obtiveram extratos, tendo as cascas como matéria-prima de maior rendimento de extração. Os achados demonstraram a presença de cafeína e compostos fenólicos. Por fim, indicaram a conversão de subprodutos do café em ingredientes alimentares seguros, evitando a geração de resíduos. Inferindo ainda que o processo de fracionamento é um processo sustentável e de baixo custo, que pode ser facilmente realizado pela indústria cafeeira. Já Collazo-Bigliardi, Ortega-Toro e Chiralt (2019) estudaram a aplicação do extrato incorporando-o em embalagens compostas de ácido polilático e amido, a fim de conferir maior potencial de conservação em produtos, as propriedades antioxidantes dos filmes

foram testadas por sua eficácia em preservar o óleo de girassol da oxidação, concluindo que a adição apresentou capacidade antioxidante na conservação do produto.

No que tange a adição direta em alimentos, poucos estudos foram reportados. Dentre eles, Ribeiro e Jorge (2017) adicionaram parcialmente e totalmente o extrato hidroalcoólico de casca de café (*C. arabica*) em óleo de soja com o propósito de avaliar seu efeito antioxidante durante armazenamento e substituir antioxidantes sintéticos. O extrato foi considerado apto para ser utilizado na substituição total ou parcial, apresentando efeito sinérgico quando utilizado juntamente com os sintéticos.

Sob uma visão geral, os pesquisadores indicam as cascas de café como matéria-prima conveniente para ser transformada em ingrediente alimentar. Essa perspectiva é fomentada pela obtenção de extratos constituídos de compostos funcionais, sendo de interesse principalmente pelo seu potencial antioxidante, mostrando vantagem de ser sustentável, eficiente e viável (BONDESSON, 2015; RIBEIRO; JORGE, 2017). Ademais os compostos encontrados na casca de café podem ser elencados como compostos bioativos, os quais, no caso do café, vêm sendo associado a efeitos benéficos contra várias patologias, entre elas doenças neurológicas, câncer, distúrbios metabólicos e disfunções hepáticas (MESSINA et al., 2015).

Entre os compostos bioativos presentes no fruto do café, os compostos fenólicos se destacam por sua ação antioxidante (PEREIRA et al., 2020). Os ácidos clorogênicos são a principal classe responsável pela atividade antioxidante, pois apresentam propriedades de eliminação de radicais livres *in vitro* e minimizam a propagação de processos oxidativos (CASTRO et al., 2018).

2.3 ANTIOXIDANTES

Halliwell (1995) definiu antioxidantes como "qualquer substância que atrasa, impede ou remove dano oxidativo a uma molécula alvo". Portanto são substâncias adicionadas aos alimentos capazes de retardar os processos oxidativos, doar ou remover elétrons, neutralizar os radicais livres, sequestrar o oxigênio, alterar o potencial redox do sistema e/ou reduzir as oxidações indesejáveis dos produtos (APAK et al., 2016).

Os antioxidantes podem ter origem natural (BOEIRA et al., 2020) ou sintética (SERRA; MACIA; ESTÉVEZ, 2016). Os antioxidantes sintéticos Hidroxitolueno Butilado (BHT), Hidroxianisol Butilado (BHA), Propil Galato (PG) e Terc Butil Hidroquinona (TBHQ) são os mais utilizados (MARIUTTI; NOGUEIRA; BRAGAGNOLO, 2011), porém estão sendo associados a efeitos negativos ligados a implicações a saúde (MURAOKA JÚNIOR et al., 2019). Em relação aos antioxidantes oriundos de fontes naturais, ainda não existem relatos sobre a adição do extrato de cascas de café em carne ou derivados, porém há um crescimento na utilização de extratos naturais de outras plantas constituídas de compostos bioativos adicionados em produtos a base de carne de frango (CANDAN; BAĞDATLI, 2017).

Estudos recentes confirmam a eficácia de antioxidantes naturais de origem vegetal atuando como alternativa segura, a fim de controlar a oxidação de produtos cárneos avícolas (MENEGALI et al., 2020; PEREIRA et al., 2017).

Ao analisar o efeito de extratos naturais (*Salvia rosmarinus* e *Camellia sinensis*) no armazenamento congelado de hambúrgueres de frango comparando-os com os efeitos do antioxidante sintético BHA, Pires et al. (2017) constataram que o extrato comercial de alecrim pode substituir o antioxidante sintético BHA na proporção de 20 mg/kg para alecrim a 480 mg/kg em hambúrgueres de frango, garantindo sua estabilidade durante quatro meses de armazenamento congelado.

Já Longato et. al. (2019) estudaram o efeito antioxidante do extrato de pele de avelã em hambúrgueres de frango durante armazenamento refrigerado. Os resultados foram positivos quanto à aceitação sensorial e ao poder antioxidante desse extrato. Em contrapartida, concluíram que grandes concentrações afetaram negativamente a estabilidade lipídica dos hambúrgueres. O uso direto do extrato de capim-limão em linguiça de frango em condições refrigeradas foi investigado por Boeira et al. (2020) e constataram a eficácia do extrato frente ao poder de inibição microbiana e de oxidação aumentando o prazo de validade do produto e quanto à aceitação sensorial pelo consumidor.

2.4 CARNE DE FRANGO E DERIVADOS: IMPORTÂNCIA E LIMITAÇÕES

Um estudo divulgado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) sobre as perspectivas da agropecuária brasileira para a próxima década revelou que a produção da carne de frango no Brasil é a que mais deverá crescer em relação a outros tipos de carne, atingindo uma taxa de crescimento de 33,4% (2,8% ao ano), ou seja, passando de 13.440 mil toneladas em 2017, para 17.930 mil toneladas em 2027. O estudo também projetou um crescimento de 29,5% no consumo da carne de frango nos próximos dez anos (BRASIL, 2017).

A popularidade da carne de frango industrial está atribuída a sua disponibilização com custo inferior a outras carnes e por ser uma fonte de proteína acessível. Fatores como a falta de limitação cultural para o seu consumo, facilidade de utilização para a elaboração de produtos cárneos e o perfil mais saudável, por ter baixo teor de gordura, concentração de ácidos graxos poliinsaturados, conteúdo de proteínas e aminoácidos essenciais necessários ao ser humano, influenciam em uma maior aceitação pelo consumidor em relação a outras carnes (ÖZÜNLÜ; ERGEZER; GÖKÇE, 2018; ZHANG; WU; GUO, 2016).

Paralelamente ao aumento da produção e consumo de carne de frango com características mais saudáveis, a demanda por praticidade e variedade de alimentos tem crescido continuamente, pois o perfil de preferência dos consumidores vem se modificando ao longo do tempo, decorrente das mudanças ocorridas no estilo de vida da sociedade (MENEGALI et al., 2020).

O hambúrguer de frango é um derivado cárneo que atende as expectativas de consumidores que procuram um produto de fácil e rápido preparo, além de ser um alimento popular, sendo bastante consumido mundialmente (RODRÍGUEZ-CARPENA; MORCUENDE; ESTÉVEZ, 2011). Segundo o Regulamento Técnico para produção de hambúrguer (BRASIL, 2000), o mesmo é definido como sendo o “produto cárneo industrializado obtido da carne moída dos animais de açougue, adicionado ou não de tecido adiposo e ingredientes, moldado e submetido a processo tecnológico adequado”. A legislação brasileira menciona, ainda, como critério de identidade e qualidade para hambúrguer o valor máximo de 23% de lipídeos e mínimo de 15% de proteína (BRASIL, 2000).

Apesar das vantagens apresentadas, limitações relacionadas à qualidade de produtos a base de carne em decorrência da composição química e das etapas de

processamento são reportadas com frequência, e representam um problema para a indústria processadora como, por exemplo, as reações de oxidação (CARVALHO; SHIMOKOMAKI; ESTÉVEZ, 2017; ROCHA et al., 2020; UTRERA; ESTÉVEZ, 2012).

2.5 PERFIL LIPÍDICO DA CARNE DE FRANGO E DERIVADOS

Os lipídios desempenham um papel importante na qualidade dos produtos alimentícios, influenciando positivamente nas qualidades sensoriais e tecnológicas, tornando-os mais atrativos para o consumo. Além disso, conferem valor nutritivo ao produto, constituindo fonte de energia metabólica, ácidos graxos essenciais e vitaminas lipossolúveis (BAGGIO; BRAGAGNOLO, 2006). Os lipídios em produtos cárneos são compostos por acilglicerídeos e colesterol, fosfolipídios, glicolipídios, glicerídeos parciais e ácidos graxos livres (MEDINA et al., 2015).

As carnes de aves são ricas em lipídios, destacando-se os ácidos graxos insaturados (AGI), que são encontrados em abundância em carne de frango e seus derivados (NKUKWANA et al., 2014). Santos et al. (2020) constataram teor total de ácidos graxos insaturados superior a 65% na fração lipídica de frangos que, ao ser adicionada em hambúrguer emulsionado de frango, foram identificados principalmente ácido oleico (C18:1) e linoleico (C18:2). Em concordância e evidenciando a presença desses compostos em produtos de frango, Lima et al. (2021) identificaram os mesmos ácidos graxos como principais AGI em linguças de frango. No entanto, altas taxas de ácidos graxos insaturados associados a condições favoráveis podem promover alta oxidação de proteínas e lipídios em produtos cárneos.

2.6 OXIDAÇÕES EM PRODUTOS CÁRNEOS

As reações de oxidação são limitantes na qualidade e aceitabilidade de produtos à base de carne, pois podem interferir negativamente em atributos como cor, textura,

sabor, valor nutricional e formação de compostos tóxicos. Os iniciadores das reações oxidativas em cadeia habitualmente são radicais livres associados à integração do oxigênio com lipídios, proteínas, pigmentos e vitaminas, sendo os principais alvos nos produtos cárneos (RIBEIRO et al., 2019).

Entre os alimentos de origem animal, a carne de frango e derivados têm sido reconhecidos como altamente sensíveis aos processos oxidativos (ESTÉVEZ, 2015). Alguns indutores da oxidação, chamados pró-oxidantes são componentes naturais do músculo pós-morte, como metais de transição (ferro, zinco), mioglobina e peróxido de hidrogênio. Essas espécies químicas promovem a oxidação lipídica e proteica facilitando a formação de radicais livres por meio de mecanismos variados (CARVALHO; SHIMOKOMAKI; ESTÉVEZ, 2017).

A oxidação lipídica é, após a deterioração microbiana, um dos principais problemas relacionados à conservação de produtos susceptíveis (SHAH; BOSCO; MIR, 2014). Essa reação vem sendo bastante documentada e elucidada ao longo dos anos quanto a sua ocorrência em produtos cárneos avícolas (LADIKOS; LOUGOVOIS, 1990; XIONG et al., 2019).

Trata-se de um processo bastante complexo no qual os ácidos graxos insaturados reagem com o oxigênio molecular resultando em peróxidos formadores de radicais livres (AMARAL; SILVA; LANNES, 2018). Os fatores que influenciam a oxidação lipídica incluem métodos de cocção, tipos de ingredientes usados durante o processo, embalagem e condições de armazenamento (DAS et al., 2020).

Esse processo provoca o desenvolvimento de sabores e odores desagradáveis, alterações na cor, produção de substâncias potencialmente tóxicas como malondialdeído e óxidos de colesterol, além da redução do valor nutricional devido à decomposição de vitaminas lipossolúveis, ácidos graxos essenciais e antioxidantes, fatores que levam os consumidores a rejeitar o produto (AMARAL; SILVA; LANNES, 2018; RIBEIRO et al., 2019). Os compostos gerados incluem hidrocarbonetos, aldeídos, cetonas, álcoois, ésteres e ácidos, que causam o aparecimento de sabores e odores estranhos na carne (DOMÍNGUEZ et al., 2019).

Outra alteração oxidativa que acomete carne de frango e derivados é a oxidação proteica, a qual recentemente vem ganhando espaço em pesquisas relacionadas aos seus mecanismos e causas, bem como os efeitos negativos e formas de mitigar

(ARMENTEROS et al., 2013; ESTÉVEZ, 2011). A oxidação de proteínas é uma modificação covalente de uma proteína induzida diretamente por espécies reativas de oxigênio ou indiretamente por reação com produtos secundários de estresse oxidativo, como também da interação entre proteínas, especialmente os centros de nitrogênio ou enxofre dos resíduos de aminoácidos reativos da proteína (FALOWO; FAYEMI; MUCHENJE, 2014; TRAORE et al., 2012). As principais alterações oxidativas são a formação de carbonilas e tióis de oxidação em cadeias laterais de aminoácidos de proteínas (ESTÉVEZ, 2011).

O impacto da oxidação de proteínas na qualidade da carne ainda é objeto de vários estudos, mas geralmente envolve a perda de aminoácidos essenciais, alterações na textura, alteração na funcionalidade das proteínas e digestibilidade prejudicada (LUND et al., 2011). Utrera e Estevez (2013) reportaram uma variedade de alterações químicas sofridas por proteínas durante o armazenamento congelado de rissóis de frango, incluindo carbonilação, carboxilação e formação de ligações cruzadas.

Além disso, a oxidação dos pigmentos também é reconhecida como uma das principais causas da deterioração da qualidade da carne fresca e processada durante a cadeia produtiva (FERREIRA et al., 2017), pois um fator importante na qualidade da carne de aves é o aspecto da cor da carne crua ou processada, tendo sua importância atribuída a associação que consumidores fazem entre coloração e qualidade (DROVAL et al., 2012).

O principal pigmento que corresponde a coloração característica da carne é a mioglobina, uma proteína intracelular solúvel em água que pode ser encontrada na forma de mioglobina, oximioglobina e metamioglobina. Sabe-se que o processo de oxidação dos pigmentos ocorre pela concentração de oxigênio que leva a oxidação do íon ferro presente na molécula de mioglobina. Quando há exposição dessa molécula ao ar, esta é oxigenada resultando na redução do íon ferro (Fe^{++}), gerando a oximioglobina (coloração vermelho-púrpura). Com o prolongamento dessa exposição, o íon férrico é convertido na sua forma oxidada (Fe^{+++}), originando a metamioglobina (coloração marrom), tornando a carne pouco atrativa para o consumidor (RIBEIRO et al., 2019).

Além da mioglobina, a cor da carne de aves depende da concentração e do estado químico dos pigmentos da carne como hemoglobina, citocromo C e seus derivados, e presença de ligantes complexos com pigmentos heme (FLETCHER, 2002),

e é afetada por fatores, como idade das aves, gênero, origem genética, dieta, gordura intramuscular e variáveis de processamento (TOTOSAUS; PÉREZ-CHABELA; GUERRERO, 2007).

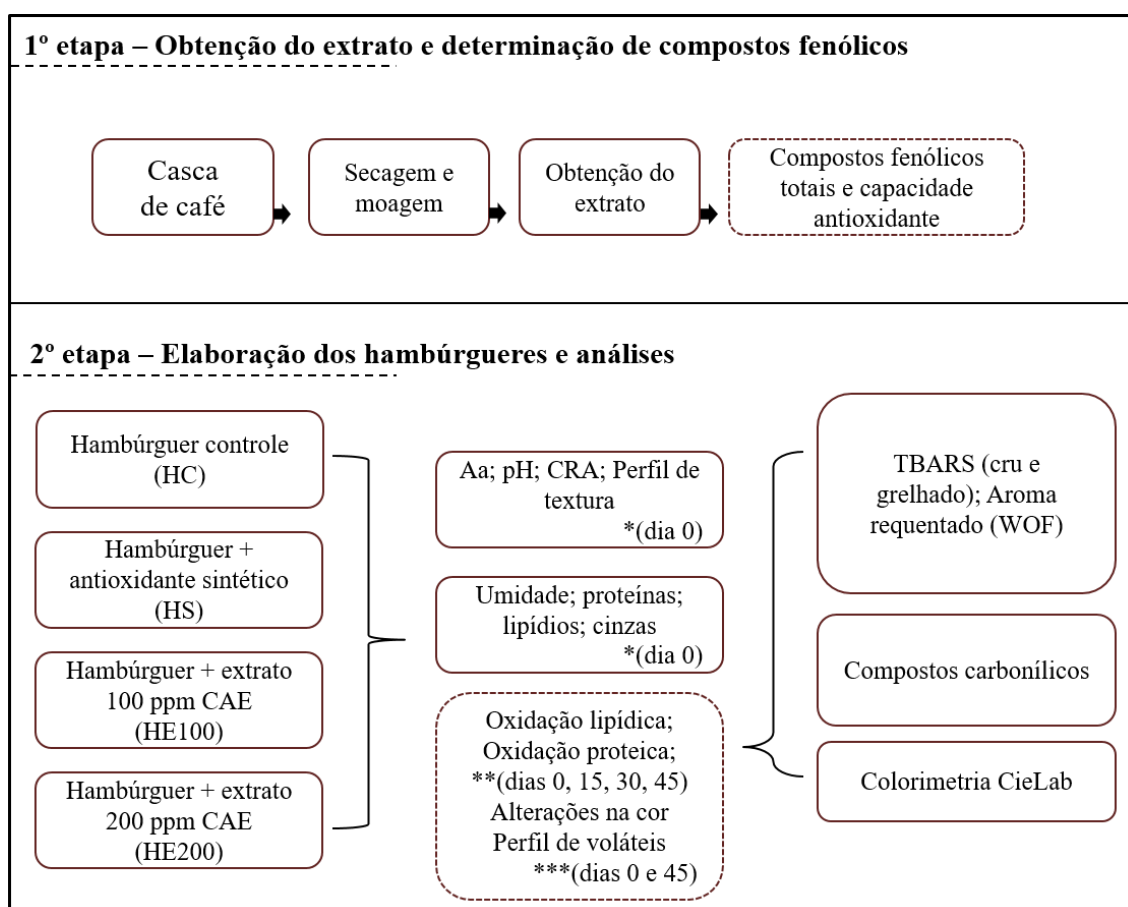
Enquanto essas modificações químicas são grandes ameaças à qualidade da carne de aves e de produtos derivados, o conhecimento e o controle dos fatores como estresse, taxa de declínio do pH, temperatura das carcaças e de armazenamento, composição da gordura, exposição à luz e oxigênio, grau de dispersão dos lipídeos, natureza do material usado para acondicionamento, Atividade de água (Aa) e presença de agentes pró e antioxidantes tornam-se necessários para manter a estabilidade da carne e dos produtos derivados (DAS et al., 2020; ESTÉVEZ, 2015).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

A pesquisa foi executada em duas etapas, conforme Figura 1. As análises foram realizadas no Laboratório de Análises Químicas – LAQA e no Laboratório de Flavor-LAF, ambos pertencentes ao Departamento de Engenharia de Alimentos do Centro de Tecnologia da UFPB.

Figura 2. Delineamento Experimental



FONTE: Autor (2022)

A partir das cascas de café obteve-se o extrato que foi caracterizado de acordo com seu conteúdo fenólico total e capacidade antioxidante, pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP.

A segunda etapa compreendeu a elaboração de quatro formulações de hambúrguer: i) hambúrguer de frango, sem antioxidante – controle negativo (HC); ii) hambúrguer de frango adicionado de antioxidante sintético – controle positivo (HS); iii) HE100 (Hambúrguer de frango com extrato da casca de café a 100ppm equivalente a ácido clorogênico); iv) HE200 (Hambúrguer de frango com extrato da casca de café a 200ppm equivalente a ácido clorogênico). Em seguida os produtos elaborados foram caracterizados mediante análises físicas e químicas e quanto a sua estabilidade oxidativa. Para as análises de oxidação lipídica e proteica foi designado o interstício de 15 dias partindo do tempo zero e finalizando no quadragésimo quinto dia, totalizando quatro tempos de análise durante armazenamento sob congelamento (-18 °C), para análise de cor e compostos voláteis, as amostras foram analisadas no início (dia 0) e ao final (dia 45) do tempo de armazenamento.

3.2 MATÉRIA-PRIMA E OBTENÇÃO DO EXTRATO

Foram utilizadas cascas de café da espécie *Coffea arabica* L., fornecidas pela Fazenda Yaguara Ecológica localizada na cidade de Taquaritinga do Norte, Pernambuco. Nesta fazenda são produzidos café 100% arábica e typica, seu processamento é realizado pela via úmida, tendo a casca como resíduo gerado.

A obtenção do extrato da casca de café foi realizada segundo a metodologia proposta por Silva et al. (2020). Inicialmente as cascas do café foram secas em uma estufa com circulação de ar forçada a 40 °C por 48 horas e logo após foram moídas em *mixer*. Em seguida, a matéria-prima (casca desidratada) foi homogeneizada manualmente por 5 minutos com a solução extratora (água:etanol 1:1) 1:10 (p:v), sendo submetida a incubação em banho-maria a 60 °C por 60 min. Depois a mistura foi centrifugada a 3.500 x g por 20 min a 10 °C em centrífuga universal refrigerada e o sobrenadante recolhido e filtrado em papel de filtro.

3.3 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO DE CASCA DE CAFÉ

3.3.1 Composição de fenólicos totais

O teor fenólico total (TPC) do extrato foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu com adaptações de Andrade et al. (2012). Alíquotas de 100 μL do extrato foram homogeneizadas com 7.900 μL de água destilada, 500 μL do reagente Folin Ciocalteu (2 M) e 1.500 μL de carbonato de sódio à 20%. Em seguida, os frascos foram agitados e mantidos em repouso, no escuro, por 2 horas, seguidos de leitura em espectrofotômetro UV-VIS (Quimis, Q798U, São Paulo, Brasil), a 765 nm. Os resultados foram calculados com o auxílio de uma curva padrão de ácido clorogênico (10 à 50 $\mu\text{g. mL}^{-1}$) e expressos em miligramas de ácido clorogênico equivalente (CAE) por grama do extrato (mg CAE g^{-1}).

3.3.2 Avaliação da capacidade antioxidante do extrato

3.3.2.1 Atividade Sequestradora do Radical 2,2-difenil-1picrilhidrazila (DPPH)

A capacidade sequestradora do radical DPPH do extrato avaliado foi determinada seguindo a metodologia descrita por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Uma alíquota de 100 μL do extrato foi adicionada a 3,9 mL do radical DPPH (%) em metanol. Após homogeneização, foi realizada a leitura no tempo zero apenas do ensaio branco, contendo radical livre e solvente e todos os ensaios foram mantidos a 25 °C por 30 minutos. Em seguida a atividade de eliminação do radical de acordo com a capacidade antioxidante dos extratos foi verificada a 515 nm em espectrofotômetro UV-VIS (Quimis, Q798U, São Paulo, Brasil) e a capacidade de sequestrar radicais livres foi calculada de acordo com a equação adequada. A curva de calibração foi preparada com o padrão de Trolox (50-1000 μM) e os resultados foram expressos em μmol de equivalente Trolox (TE) por grama de amostra ($\mu\text{mol TE/g}$).

3.3.2.2 Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox (TEAC)

A capacidade sequestradora do radical ABTS⁺ foi determinada seguindo a metodologia proposta por Re et al. (1999). Uma alíquota de 30 µL da amostra foi adicionada à 3000 µL do radical ABTS⁺ (%) em metanol. Após homogeneização, foi realizada a leitura no tempo zero apenas do ensaio branco, contendo radical livre e solvente, e todos os ensaios em triplicata foram mantidos a 25 °C por 6 minutos. Em seguida, a atividade de eliminação do radical de acordo com a capacidade antioxidante dos extratos foi verificada a 734 nm em espectrofotômetro UV-VIS (Quimis, Q798U, São Paulo, Brasil), zerando-se o equipamento com etanol. A curva de calibração foi preparada com padrão Trolox (100-2000 µM), e os resultados foram expressos em µmol de equivalentes de Trolox (TE) por grama de amostra (µmol TE/g).

3.3.2.3 Poder Antioxidante de Redução do Ferro (FRAP)

A capacidade das amostras em reduzir o íon ferro foi avaliada utilizando a metodologia descrita por Benzie e Strain (1999), com adaptações. O reagente FRAP foi preparado pela mistura de tampão acetato (300 mmol/L - pH 3,6) e uma solução de TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina) 10 mmol/L em HCl 40 mmol/L e 20 mmol/L de FeCl₃ a 10:1:1 (v:v:v). Uma alíquota de 90 µL do extrato foi adicionada a 270 µL de água destilada e 2,7 mL do reagente FRAP, seguida de homogeneização e incubação em banho-maria à 37°C por 30 minutos. Posteriormente, de acordo com o potencial antioxidante, a atividade de redução do ferro (Fe³⁺) para a forma ferrosa (Fe²⁺) do extrato foi verificada a 595 nm em espectrofotômetro UV-VIS (Quimis, Q798U, São Paulo, Brasil), utilizando-se solvente e reagente FRAP como branco. Com base na curva de calibração preparada com diferentes concentrações de Trolox (50-1000 µM), os resultados foram expressos como mg de equivalente Trolox (TE) por grama de amostra (mg TE/g).

3.4 ELABORAÇÃO DOS HAMBÚRGUERES

Os hambúrgueres foram elaborados no Laboratório de Tecnologia de Carnes do Centro de Tecnologia da UFPB. Foram produzidos: i) hambúrguer de frango, sem antioxidante – controle negativo (HC); ii) hambúrguer de frango adicionado de antioxidante sintético – controle positivo (HS); iii) HE100 (Hambúrguer de frango com extrato da casca de café a 100ppm equivalente a ácido clorogênico); iv) HE200 (Hambúrguer de frango com extrato da casca de café a 200ppm equivalente a ácido clorogênico).

3.5 ANÁLISES FÍSICAS E QUÍMICAS

Os hambúrgueres foram avaliados quanto aos parâmetros de Atividade de Água, pH, capacidade de retenção de água (CRA), Perfil de textura (TPA) e composição química (umidade, proteínas e lipídios).

3.5.1 Atividade de Água e pH

A atividade de água das amostras foi obtida utilizando AQUALAB. O pH foi determinado segundo a metodologia descrita pela AOAC (2000), procedimento nº 981.12, em pHmetro Modelo Q400 AS (Quimis Aparelhos Científicos Ltda., Diadema, SP, Brasil).

3.5.2 Capacidade de Retenção de Água (CRA)

A análise foi realizada acordo com a metodologia de Hamm (1960). Em uma folha de papel de filtro, foram pesados 2 g da amostra que posteriormente foi sobreposta por outra folha de papel de filtro. O conjunto foi colocado entre duas placas de acrílico, sob um peso de 10 kg por um período de 5 minutos. Por fim, foi retirada a amostra do papel de filtro e pesada novamente. A porcentagem do CRA foi calculada de acordo com a Equação (2):

$$\%CRA = 100 - \left[\frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100 \right]$$

Equação 1. Cálculo para determinação do CRA

Pi = Peso da amostra antes da prensagem;

Pf = Peso da amostra após a prensagem.

3.5.3 Perfil de Textura

Os hambúrgueres foram submetidos à análise de perfil de textura, utilizando um texturômetro TA-XT plus (Stable Micro Systems, Survey, UK) acoplado a uma probe cilíndrica de aço inoxidável (P/2”), de 50 mm. Os hambúrgueres foram grelhados por 3 minutos de cada lado, com controle da temperatura interna de 75 °C. Logo após, foram cortados em cilindros de 30 milímetros de comprimento x 5 milímetros de altura e analisadas em triplicata para cada tratamento. As condições para a análise de textura foram as seguintes: velocidade de 2,0 mm/s no pré-teste e no teste e velocidade de 2,0 mm/s no pós-teste, força de 5,0 g e tempo de 5s entre ciclos. Os parâmetros de textura de dureza, coesividade, adesividade, resiliência, gomosidade e mastigabilidade foram analisados utilizando o software Texture Expert for Windows 1.20 (Stable Micro Systems\TE32L\versão 6.1.4.0 Inglaterra).

3.5.4 Composição química parcial

Foram realizadas as análises químicas de umidade e proteínas de acordo com a metodologia proposta pela AOAC (2000). Os lipídeos foram dosados conforme foi proposto por Folch, Lees e Stanley (1956).

3.6 ANÁLISES DE ESTABILIDADE OXIDATIVA

3.6.1 Medição das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A determinação do número de TBARS das amostras foi realizada conforme método de Rosmini et al. (1996). As amostras foram pesadas (2,5 g para amostras cruas e 1 g para amostras grelhadas) e foram homogeneizadas em 1 mL de sulfanilamida 0,5%, 10 mL de ácido tricloroacético (TCA) 10% e 5 mL de água destilada com o auxílio de um Ultra Turrax a 8000g por 30 segundos. Em seguida, os tubos foram agitados por 5 minutos para favorecer a extração das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e centrifugados por mais 5 minutos a 3500 RPM e 4 °C. O sobrenadante foi filtrado para tubos de ensaio de 15 mL. Adicionando-se ao filtrado 5 mL de ácido tiobarbitúrico (TBAR) 0,02 M, a mistura foi submetida a aquecimento em banho-maria a 100 °C por 35 minutos. Posteriormente, os tubos foram resfriados em banho de gelo e a absorbância foi lida a 532 nm contra um branco contendo 5 mL de TCA 10%, 5 mL de água destilada e 5 mL de TBA 0,02 M. O número de TBARS foi quantificado com o auxílio de uma curva padrão de 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP), variando de 0,06 a 1,0 µg/mL.

3.6.2 Aroma requeentado (WOF)

Os hambúrgueres foram grelhados em ambos os lados em chapa aquecida por indução até atingir temperatura interna de 75 °C. Posteriormente, foram armazenados sob refrigeração (4 °C) sob a incidência de luz fluorescente pelo período de 48 horas. Após esse período, as amostras foram então reaquecidas em micro-ondas por 1 minuto e 30 segundos (IGENE; PEARSON, 1979) com modificações. Por fim, seguiu-se com a determinação do número de TBARS, realizada conforme método de Rosmini et al. (1996), usando 0,7 g de amostra.

3.6.3 Perfil de voláteis

O perfil volátil das amostras foi quantificado nos tempos 0 e 45 dias de armazenamento em triplicata usando a técnica de microextração em fase sólida (SPME) e um dispositivo SPME (Supelco) contendo uma fibra de 65 μm de polidimetilsiloxano / divinilbenzeno (PDMS / DVB), que foi ativado de acordo com as recomendações do fabricante (250 °C / 30 min). Dois gramas de amostra previamente preparadas em grelha foram transferidos para um frasco de vidro de 20 mL selado com uma tampa de rosca contendo um septo revestido de Teflon (Supelco). O frasco de vidro foi deixado por 5 min a 60 °C para equilíbrio, e a fibra foi exposta ao headspace por 60 min a 60 °C. Os voláteis absorvidos foram dessorvidos da fibra SPME na porta do injetor (sem divisão) do equipamento de cromatografia gasosa-espectrometria de massa (GC-MS) (Agilent Technologies, Little Falls, DE, EUA). A separação cromatográfica foi realizada em VF-5MS (30 m $\times$ 0. Coluna de 25 mm $\times$ 0,25 μm). A temperatura inicial do forno foi mantida a 40 °C por 2 min e gradualmente aumentada a 4 °C min.⁻¹ até atingir 280 °C, permanecendo nesta temperatura por 10 min. O hélio foi usado como gás de arraste (taxa de fluxo de 1,2 mL min⁻¹). Os compostos voláteis foram identificados no espectrômetro de massa (impacto eletrônico de 70 eV), e os espectros de massa foram confirmados por comparação com aqueles presentes no banco de dados NIST (National Institute of Standards & Technology, EUA) e pela comparação de seus índices de retenção linear (LRI) com os de compostos conhecidos. O LRI de cada composto foi calculado usando os tempos de retenção de uma série homóloga de n-alcanos C6-C25. Os resultados são expressos como porcentagens relativas (SOUTO et al., 2021).

3.6.4 Quantificação de compostos carbonílicos

A oxidação das proteínas foi avaliada a partir da quantificação de compostos carbonílicos totais das amostras após derivatização com 2,4 dinitrofenilhidrazina (DNPH) segundo a metodologia de Ganhão, Morcuende e Estévez (2010). Onde cerca de 1 g da amostra foi homogeneizada com tampão Na₃PO₄ 20mM pH 6,5 e NaCl 0,6 M. Deste homogeneizado, cerca de 150 μL foram utilizados para determinar a concentração de proteínas e o conteúdo de compostos carbonílicos. Para os dois casos, foi adicionado 1 mL de ácido tricloroacético (TCA) 10% e a mistura foi centrifugada a

frio (4 °C) por 5 minutos a 5000 rpm para precipitação das proteínas. Para a determinação dos compostos carbonílicos, foi adicionado 1 mL de HCl 2M e DNPH 0,2%, enquanto para a determinação das proteínas foi adicionado 1 mL apenas de HCl 2M. Em seguida, as proteínas e compostos carbonílicos foram mantidos em repouso durante 1 hora, a temperatura ambiente. Após este período, as proteínas foram precipitadas novamente com 1 mL de TCA 10% e centrifugadas a 10000 rpm por 10 min. Foram lavadas duas vezes com etanol/acetato de etila (1:1 v/v) seguidas de centrifugações a 10000 rpm por 5 min, entre cada lavagem. As proteínas precipitadas foram dissolvidas em 1,5 mL de tampão Na₃PO₄ 20mM pH 6,5 e cloridrato de guanidina 6M. A concentração de proteínas das amostras foi calculada a partir da leitura das absorbâncias a 280 nm com auxílio de uma curva padrão de albumina. A quantidade de compostos carbonílicos foi expressa em nmol de carbonílicos por mg de proteína, usando um coeficiente de extinção molar de hidrazonas (21,0 nM⁻¹ cm⁻¹) com leituras da absorbância a 370 nm.

3.6.5 Colorimetria

As características de cor foram avaliadas pela escala CIE L* a* b* por meio de colorímetro Konica Minolta (Modelo CR-400, Osaka, Japão). Para leitura dos parâmetros L* (luminosidade) a* (intensidade de vermelho/verde) e b* (intensidade de amarelo/azul), foram fixadas as seguintes condições: iluminante C, ângulo de visão 8°, ângulo padrão do observador 10°, especular incluída, conforme especificações da Comissão Internationale de L'éclairage (CIE, 1986). O instrumento, antes da realização das leituras, foi calibrado colocando o cabeçal do medidor verticalmente sobre o centro da placa de calibração branca (Iluminante C: Y=92,84 X=0,3136 Y=0,3201).

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram avaliados por análise de variância (ANOVA), baseada níveis de significância de 5%, seguida pelo teste de Tukey, para comparação das medias. Foi utilizado o software IBM SPSS versão 21 para análise de compostos voláteis e Minitab[®] 19 Statistical software para as demais análises. A Análise de

Componentes Principais (ACP) foi gerada a partir do auto-escalamento dos dados das análises de cor instrumental, oxidação e de compostos voláteis (aldeídos). Os dados foram analisados utilizando o software XLSTAT (versão 2014.5.03, Addinsoft, New York, USA) e o pré-tratamento dos dados (auto-escalamento) foi realizado no software MATLAB (The Mathworks, Inc., versão 7.10.0.499, Natick, MA, R2010a).

REFERÊNCIAS

- ALVES, R. C. et al. **State of the art in coffee processing by-products**. [s.l.] Elsevier Inc., 2017.
- AMARAL, A. B.; SILVA, M. V. DA; LANNES, S. C. DA S. Lipid oxidation in meat: mechanisms and protective factors – a review. **Food Science and Technology**, v. 38, p. 1–15, dez. 2018.
- ANDRADE, K. S. et al. Supercritical fluid extraction from spent coffee grounds and coffee husks: Antioxidant activity and effect of operational variables on extract composition. **Talanta**, v. 88, p. 544–552, 2012.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Phenolic compounds in foods – A brief review. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1–9, 2007.
- APAK, R. et al. Antioxidant Activity/Capacity Measurement. 1. Classification, Physicochemical Principles, Mechanisms, and Electron Transfer (ET)-Based Assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 5, p. 997–1027, 10 fev. 2016.
- ARCANJO, N. M. O. et al. Bioactivities of wine components on marinated beef during aging. **Journal of Functional Foods**, v. 57, p. 19–30, jun. 2019.
- ARMENTEROS, M. et al. Application of natural antioxidants from strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) and dog rose (*Rosa canina* L.) to Frankfurters subjected to refrigerated storage. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 12, n. 11, p. 1972–1981, 2013.
- BAGGIO, S. R.; BRAGAGNOLO, N. The effect of heat treatment on the cholesterol oxides, cholesterol, total lipid and fatty acid contents of processed meat products. **Food Chemistry**, v. 95, n. 4, p. 611–619, 2006.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. **Methods in Enzymology**, v. 299, n. 1995, p. 15–27, 1999.
- BOEIRA, C. P. et al. Phytochemical characterization and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* extract for application as natural antioxidant in fresh sausage. **Food Chemistry**, v. 319, n. February, p. 126553, 2020.
- BONDESSON, E. A Nutritional Analysis on Tea By- Product Coffee Husk and Its Potential Utilization in food Production. **Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences**, n. 415, p. 1–25, 2015.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

- CANDAN, T.; BAĞDATLI, A. Use of Natural Antioxidants in Poultry Meat. **Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi**, v. 13, n. 2, p. 279–291, 2017.
- CARVALHO, R.; SHIMOKOMAKI, M.; ESTÉVEZ, M. Poultry meat color and oxidation. **Poultry Quality Evaluation: Quality Attributes and Consumer Values**, p. 133–157, 2017.
- CASTRO, A. C. C. M. et al. Green coffee seed residue: A sustainable source of antioxidant compounds. **Food Chemistry**, v. 246, n. October 2017, p. 48–57, 2018.
- CATALÁN, E.; KOMILIS, D.; SÁNCHEZ, A. Environmental impact of cellulase production from coffee husks by solid-state fermentation: A life-cycle assessment. **Journal of Cleaner Production**, v. 233, p. 954–962, 2019.
- COLLAZO-BIGLIARDI, S.; ORTEGA-TORO, R.; CHIRALT, A. Improving properties of thermoplastic starch films by incorporating active extracts and cellulose fibres isolated from rice or coffee husk. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 22, n. August, 2019.
- CONSONNI, R.; POLLA, D.; CAGLIANI, L. R. Organic and conventional coffee differentiation by NMR spectroscopy. **Food Control**, v. 94, n. July, p. 284–288, dez. 2018.
- CRUZ, R. et al. Revalorization of spent coffee residues by a direct agronomic approach. **Food Research International**, v. 73, p. 190–196, 2015.
- DAS, A. K. et al. Trends in Food Science & Technology A comprehensive review on antioxidant dietary fibre enriched meat-based functional foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 99, n. September 2019, p. 323–336, 2020.
- DOMÍNGUEZ, R. et al. A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. **Antioxidants**, v. 8, n. 10, p. 1–31, 2019.
- DROVAL, A. A. et al. Consumer attitudes and preferences regarding pale, soft, and exudative broiler breast meat. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 21, n. 3, p. 502–507, 2012.
- ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M. Functional properties of coffee and coffee by-products. **Food Research International**, v. 46, n. 2, p. 488–495, 2012.
- ESTÉVEZ, M. Protein carbonyls in meat systems: A review. **Meat Science**, v. 89, n. 3, p. 259–279, 2011.
- ESTÉVEZ, M. Oxidative damage to poultry: From farm to fork. **Poultry Science**, v. 94, n. 6, p. 1368–1378, 2015.
- FALGUERA, V.; ALIGUER, N.; FALGUERA, M. An integrated approach to current trends in food consumption: Moving toward functional and organic products? **Food Control**, v. 26, n. 2, p. 274–281, 2012.
- FALOWO, A. B.; FAYEMI, P. O.; MUCHENJE, V. Natural antioxidants against lipid-

protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. **Food Research International**, v. 64, p. 171–181, 2014.

FARAH, A.; DOS SANTOS, T. F. **The Coffee Plant and Beans: An Introduction**. [s.l.] Elsevier Inc., 2015.

FERREIRA, V. C. S. et al. 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, 2017.

FLETCHER, D. L. Poultry meat quality. **World's Poultry Science Journal**, v. 58, n. 2, p. 131–145, 2002.

FOLCH, J.; M. LEES, G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **The Annals of Thoracic Surgery**, v. 226, n. 1, p. 497–509, dez. 1956.

GANHÃO, R.; MORCUENDE, D.; ESTÉVEZ, M. 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, p. 402–409, 2010.

GULLÓN, P. et al. Pomegranate Peel as Suitable Source of High-Added Value Bioactives: Tailored Functionalized Meat Products. **Molecules**, v. 25, n. 12, p. 1–18, 2020.

HALLIWELL, B. antioxidant; free radical; lipid peroxidation; oxidative damage; hydroxyl radical; v. 49, n. 10, p. 2952, 1995.

HAMM, R. Biochemistry of Meat. In: **BIOCHEMISTRY OF MEAT HYDRATION**. [s.l.] Elsevier, 1960. p. 356–443.

IGENE, J. O.; PEARSON, A. M. Role of Phospholipids and Triglycerides in Warmed-Over Flavor Development in Meat Model Systems. **Journal of Food Science**, v. 44, n. 5, p. 1285–1290, 1979.

IRIONDO-DEHOND, A. et al. Validation of coffee by-products as novel food ingredients. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 51, n. June 2018, p. 194–204, 2019.

JIMÉNEZ-ZAMORA, A.; PASTORIZA, S.; RUFIÁN-HENARES, J. A. Revalorization of coffee by-products. Prebiotic, antimicrobial and antioxidant properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 61, n. 1, p. 12–18, abr. 2015.

JÚNIOR, M. M. et al. Substitution of synthetic antioxidant by curcumin microcrystals in mortadella formulations. **Food Chemistry**, v. 300, n. July, p. 125231, 2019.

LADIKOS, D.; LOUGOVOIS, V. 295-314 :~ Present address: Ministry of Commerce, General Secretariate of State Purchases, Kanigos Sq. **Food Chemistry**, v. 35, p. 101181, 1990.

LIMA, J. L. et al. Effect of adding byproducts of chicken slaughter on the quality of

sausage over storage. **Poultry Science**, v. 100, n. 8, p. 1–9, 2021.

LONGATO, E. et al. Effects of hazelnut skin addition on the cooking, antioxidant and sensory properties of chicken burgers. **Journal of Food Science and Technology**, v. 56, n. 7, p. 3329–3336, 2019.

LUND, M. N. et al. Protein oxidation in muscle foods: A review. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 55, n. 1, p. 83–95, 2011.

MARIUTTI, L. R. B.; NOGUEIRA, G. C.; BRAGAGNOLO, N. Lipid and Cholesterol Oxidation in Chicken Meat Are Inhibited by Sage but Not by Garlic. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 6, p. 909–915, 2011.

MARTUSCELLI, M.; ESPOSITO, L.; MASTROCOLA, D. The role of coffee silver skin against oxidative phenomena in newly formulated chicken meat burgers after cooking. **Foods**, v. 10, n. 8, 2021.

MAYANGA-TORRES, P. C. et al. Valorization of coffee industry residues by subcritical water hydrolysis: Recovery of sugars and phenolic compounds. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 120, p. 75–85, 2017.

MEDINA, A. L. et al. Rapid microwave assisted extraction of meat lipids. **Food Research International**, v. 78, p. 124–130, dez. 2015.

MENEGALI, B. S. et al. Pink pepper extract as a natural antioxidant in chicken burger: Effects on oxidative stability and dynamic sensory profile using Temporal Dominance of Sensations. **LWT - Food Science and Technology**, v. 121, n. September 2019, p. 108986, 2020.

MESSINA, G. et al. The beneficial effects of coffee in human nutrition. **Biology and Medicine**, v. 7, n. 4, 2015.

MURTHY, P. S.; NAIDU, M. M. Recovery of Phenolic Antioxidants and Functional Compounds from Coffee Industry By-Products. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 3, p. 897–903, 2012.

MUSSATTO, S. I. et al. Production, Composition, and Application of Coffee and Its Industrial Residues. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, n. 5, p. 661–672, 2011.

NKUKWANA, T. T. et al. Fatty acid composition and oxidative stability of breast meat from broiler chickens supplemented with Moringa oleifera leaf meal over a period of refrigeration. **Food Chemistry**, v. 142, p. 255–261, jan. 2014.

ÖZÜNLÜ, O.; ERGEZER, H.; GÖKÇE, R. Improving physicochemical, antioxidative and sensory quality of raw chicken meat by using acorn extracts. **LWT - Food Science and Technology**, v. 98, p. 477–484, 2018.

PALOMINO GARCÍA, L. R.; DEL BIANCHI, V. L. Antioxidant capacity in coffee industry residues. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 18, n. 4, p. 307–313, 2015.

PEREIRA, D. et al. Rosemary as natural antioxidant to prevent oxidation in chicken burgers. **Food Science and Technology**, v. 37, p. 17–23, 2017.

PEREIRA, L. L. et al. **New propositions about coffee wet processing: Chemical and sensory perspectives**. Elsevier Ltd, 2020. v. 310

PIRES, M. A. et al. The antioxidant capacity of rosemary and green tea extracts to replace the carcinogenic antioxidant (BHA) in chicken burgers. **Journal of Food Quality**, v. 2017, 2017.

PRATA, E. R. B. A.; OLIVEIRA, L. S. Fresh coffee husks as potential sources of anthocyanins. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, n. 9, p. 1555–1560, 2007.

PRETE, R. D. O. et al. Characterization and application of oregano oil as a natural antioxidant in fresh sausage. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 44109–44118, 2020.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9–10, p. 1231–1237, 1999.

RIBEIRO, E. F.; JORGE, N. Oxidative stability of soybean oil added to coffee husk extract (*Coffea arabica* L.) under accelerated storage conditions. **Food Science and Technology**, v. 37, p. 5–10, 2017.

RIBEIRO, J. S. et al. Natural antioxidants used in meat products: A brief review. **Meat Science**, v. 148, n. October, p. 181–188, 2019.

ROCHA, T. C. DA et al. Impact of chicken wooden breast on quality and oxidative stability of raw and cooked sausages subjected to frozen storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 6, p. 2630–2637, 2020.

RODRÍGUEZ-CARPENA, J. G.; MORCUENDE, D.; ESTÉVEZ, M. Avocado by-products as inhibitors of color deterioration and lipid and protein oxidation in raw porcine patties subjected to chilled storage. **Meat Science**, v. 89, n. 2, p. 166–173, 2011.

ROSMINI, M. R. et al. TBA test by an extractive method applied to “Paté”. **Meat Science**, v. 42, n. 1, p. 103–110, 1996.

SAENGER, M. et al. Combustion of coffee husks. **Renewable Energy**, v. 23, n. 1, p. 103–121, 2001.

SANTOS, M. M. F. et al. Lipid and protein oxidation of emulsified chicken patties prepared using abdominal fat and skin. **Poultry Science**, v. 99, n. 3, p. 1777–1787, 2020.

SERRA, A.; MACIA, A.; ESTÉVEZ, M. Synthetic Phenolic Antioxidants. In: **Food Analysis by HPLC**. CRC Press, 2016. p. 551–565.

SETTER, C. et al. Slow pyrolysis of coffee husk briquettes: Characterization of the solid and liquid fractions. **Fuel**, v. 261, n. June 2019, 2020.

- SHAH, M. A.; BOSCO, S. J. D.; MIR, S. A. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. **Meat Science**, v. 98, n. 1, p. 21–33, 2014.
- SILVA, M. DE O. et al. Obtaining Bioactive Compounds from the Coffee Husk (*Coffea arabica* L.) Using Different Extraction Methods. **Molecules**, v. 26, n. 1, p. 46, 24 dez. 2020.
- SOBRAL, M. M. C. et al. Influence of culinary practices on protein and lipid oxidation of chicken meat burgers during cooking and in vitro gastrointestinal digestion. **Food and Chemical Toxicology**, v. 141, p. 111401, 2020.
- SOUTO, V. O. DE et al. Olive oil-in-water emulsion as a source of desirable fatty acids in free-range “Caipira” chicken ham. **LWT - Food Science and Technology**, v. 144, n. November 2020, 2021.
- TELLO, J.; VIGUERA, M.; CALVO, L. Extraction of caffeine from Robusta coffee (*Coffea canephora* var. Robusta) husks using supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 59, p. 53–60, 2011.
- TOTOSAUS, A.; PÉREZ-CHABELA, M. DE L.; GUERRERO, I. Color of Fresh and Frozen Poultry. **Handbook of Meat, Poultry and Seafood Quality**, p. 455–466, 2007.
- TRAORE, S. et al. Higher drip loss is associated with protein oxidation. **Meat Science**, v. 90, n. 4, p. 917–924, 2012.
- USDA. Coffee: World Markets and Trade. **Coffee: World Markets and Trade**, p. 9, 2020.
- UTRERA, M.; ESTÉVEZ, M. Oxidation of myofibrillar proteins and impaired functionality: Underlying mechanisms of the carbonylation pathway. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 32, p. 8002–8011, 2012.
- UTRERA, M.; ESTÉVEZ, M. Oxidative damage to poultry, pork, and beef during frozen storage through the analysis of novel protein oxidation markers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 33, p. 7987–7993, 2013.
- VAN DER VOSSEN, H. A. M. A CRITICAL ANALYSIS OF THE AGRONOMIC AND ECONOMIC SUSTAINABILITY OF ORGANIC COFFEE PRODUCTION. **Experimental Agriculture**, v. 41, n. 4, p. 449–473, 30 out. 2005.
- VEGRO, C. L. R.; DE ALMEIDA, L. F. Global coffee market: Socio-economic and cultural dynamics. In: **Coffee Consumption and Industry Strategies in Brazil**. Elsevier, 2020. p. 3–19.
- XIONG, Q. et al. Lipid oxidation induced by heating in chicken meat and the relationship with oxidants and antioxidant enzymes activities. **Poultry Science**, v. 99, n. 3, p. 1761–1767, 2019.
- ZHANG, H.; WU, J.; GUO, X. Effects of antimicrobial and antioxidant activities of spice extracts on raw chicken meat quality. **Food Science and Human Wellness**, v. 5, n. 1, p. 39–48, 2016.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nesta pesquisa estão apresentados em formato de artigo, em atendimento a Norma Complementar nº 03/2011 do PPGCTA.

ARTIGO: Oxidative stability of chicken burgers using organic coffee husk extract.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133451>

(Publicado no periódico: Food Chemistry. Fator de impacto: 7.514 - Qualis A1)

Oxidative stability of chicken burgers using organic coffee husk extract

Antonia Dayane Jenyffer de Farias Marques^a; Jerffeson de Lima Tavares^a; Leila Moreira de Carvalho^a; Thaianaly Leite Abreu^a; Deyse Alves Pereira^a; Miriane Moreira Fernandes Santos^a; Marta Suely Madruga^a; Lorena Lucena de Medeiros^a; Taliana Kênia Alencar Bezerra^{a*}

^aTechnology Centre, Department of Food Engineering, Federal University of Paraiba, Joao Pessoa 58051-900, Brazil. dayanefaarias@gmail.com; jerffesonlimatavares@gmail.com; leilamdc@yahoo.com.br; thaianaly.abreu@gmail.com; deysea09@gmail.com; mirianemfs@gmail.com; msmadruga@uol.com.br; lorenalucena@live.com; taliana.kenia@hotmail.com.

* Correspondence: taliana.kenia@hotmail.com; Tel.: +55-83-3216-7269; Fax: +55-83-32167269

Oxidative stability of chicken burgers using organic coffee husk extract

Abstract:

The antioxidant capacity of organic coffee husk extract (*Coffea arabica* L.) added to chicken burgers was evaluated. Two formulations were prepared: with addition of the extract (100 and 200 ppm CAE/kg), in addition to control formulations without the addition of antioxidant, and with the addition of synthetic antioxidant. The products were characterized by physical and chemical analysis and analyzed for oxidative stability during 45 days of storage under freezing. The addition of extract in the proportion of 200 ppm CAE/kg of hamburger revealed efficacy against lipid oxidation equivalent to treatment with a synthetic antioxidant. As for protein oxidation, there was no pro or antioxidant influence in the treatments. The addition of organic coffee husk extract to chicken hamburgers is thus indicated, being considered as a potential natural additive. In addition, the use of coffee husks helps to minimize the larger amounts of agro-industrial by-products generated by the coffee industry.

Keywords: natural antioxidant; meat products; lipid oxidation; protein oxidation

1 Introduction

The popularity of industrial chicken meat is attributed to its low cost availability and for being an accessible source of protein. This accessibility also includes ease of use for elaboration of meat products and for presenting a healthier nutritional profile, with lower fat contents, and excellent consumer acceptance ([Özünlü et al., 2018](#)).

There are many products made from chicken available on the market, such as hamburgers, sausages, bolognas, nuggets, and chicken based hams. Of those mentioned, chicken hamburger stands out, since it is considered one of the most popular and appreciated meat products in the world. The high consumption and acceptance of chicken hamburger is due to its easy preparation and low price ([Trujillo-Santiago et al., 2021](#)).

However, one of the problems in the process of making and storing hamburgers is oxidation, whether lipid or protein, this is due to the high concentration of unsaturated lipids and proteins in the formulations. These trigger undesirable changes in color, aroma, flavor, and texture ([M. M. F. Santos et al., 2020](#)). In view of this, it is necessary to use antioxidants, which may be of synthetic origin (butylated hydroxyanisole - BHA, butylated hydroxytoluene - BHT and tertiary butylhydroxyquinine - TBHQ), or natural extracts, essential oils, or flours, among others ([Ruiz-Hernández et al., 2021](#)).

In sum, studies have been performed with the aim of encouraging the use of natural antioxidants, since the frequent use of synthetic antioxidants can be harmful to health. Researchers find it in extracts from plant sources for antioxidant applications

that can replace the synthetic antioxidants commonly used in meat products ([Pateiro et al., 2021](#)).

From this point of view, [Menegali et al. \(2020\)](#) studied the effect of pink pepper extract on the oxidative stability of chicken burgers and concluded that the extract was as effective as the synthetic antioxidant (BHT) in retarding oxidative processes. From study extracts, we highlight those obtained from agro-industrial by-products, such as coffee husk ([Andrade et al., 2012](#); [M. de O. Silva et al., 2020](#)).

Brazil is considered the world's largest producer and exporter of coffee, and is also the second largest consumer market for the product, with two species of coffee being grown, mainly Arabica and Robusta (or Conilon) ([ICO, 2021](#)). These are cultivated using conventional or organic management, with the latter having a differential in terms of potential environmental benefits and food security ([Consonni et al., 2018](#)). In any case, processing leads to the production of wastes, such as husks generated during processing ([Iriando-DeHond et al., 2019](#)). According to [Andrade et al. \(2012\)](#), coffee husks are characterized as exhibiting secondary metabolites, such as caffeine, tannins, and polyphenols, themselves raw materials for obtaining bioactive compounds of interest from food. The bioactive compounds that have been most widely studied (and are found in plant sources) are phenolic compounds, which in addition to presenting several health benefits, also have numerous applications in science and the food industry, with emphasis on their antioxidant activity ([Iriando-DeHond et al., 2019](#)).

The antioxidant properties of the coffee husk are attributed to the presence of caffeine and chlorogenic acid, these are the main phenolic compounds found in the husk ([Andrade et al., 2012](#); [M. de O. Silva et al., 2020](#)). Our study aimed to evaluate the

antioxidant capacity of coffee husk extract (*Coffea arabica* L.) when added to chicken hamburgers.

2 MATERIAL AND METHODS

2.1 Raw materials and obtaining the extract

Coffee husks of the species *Coffea arabica* L. were supplied by Fazenda Yaguara Ecológica in the town of Taquaritinga do Norte, Pernambuco, Brazil (Latitude: -7.88809, 36°5'33" West), where 100% Arabica and Typica organic coffee is produced using the wet process, with the husks as a by-product after the pulping phase. Harvesting was carried out in the spring. Coffee husk extract was obtained according to the methodology proposed by (M. de O. Silva et al., 2020), for extracting phenolic compounds from coffee husks. First the coffee husks were dried in an oven with forced air circulation (Luca-82/250, Lucadema, São José do Rio Preto, Brazil) at 40°C for 48 h, and then they were ground using a mixer – crusher (RI1364, Philips, Varginha, Brazil). The raw material (dehydrated peel) was manually homogenized for 5 min with an extraction solution (water:ethanol 1:1) 1:10 (p:v), followed by incubation in a water bath at 60°C for 60 min. The mixture was then centrifuged at 3,500 x g for 20 min at 10°C in a refrigerated universal centrifuge (SL-706, Solab, Piracicaba, Brazil), and the supernatant collected and filtered using filter paper.

2.2 Determination of total phenolic compounds

The total phenolic content (TPC) of the extract was determined using the Folin-Ciocalteu method proposed by Andrade et al. (2012) with adaptations. 10 µL aliquots of the extract were homogenized with 7,990 µL of distilled water, 500 µL of Folin

Ciocalteau reagent (2 M), and 1,500 μL of 20% sodium carbonate. The flasks were shaken and then kept at rest, in the dark, for 2 h, followed by reading in a UV-VIS spectrophotometer (Quimis, Q798U, São Paulo, Brazil), at 765 nm. The results were calculated using a standard chlorogenic acid curve (10 to 50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) in milligrams of chlorogenic acid equivalent (CAE) per gram of extract (mg CAE g^{-1}).

2.3 GC/MS profile of coffee husk extract

The volatile profile of the samples was quantified (in triplicate) using the solid phase micro-extraction technique (SPME) and an SPME device (Supelco) containing a 65 μm fiber of polydimethylsiloxane/divinylbenzene (PDMS/DVB), which was operated according to the manufacturer's recommendations (250°C/30 min). Two mL of the extract was transferred to a 20 mL glass vial and sealed with a screw cap with a Teflon-coated septum (Supelco). The glass vial was left for 5 min at 60°C to reach equilibrium, and the fiber was exposed to the headspace for 60 min at 60°C. The absorbed volatiles were desorbed from the SPME fiber in the inlet port (non-splitting) of the gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) equipment (Agilent Technologies, Little Falls, DE, USA). Chromatographic separation was performed in a VF-5MS (30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm column). The initial oven temperature was maintained at 40°C for 2 min and gradually increased by 4°C min^{-1} until reaching 280°C, and remaining at this temperature for 10 min. Helium was used as the carrier gas (flow rate 1.2 mL min^{-1}). Volatile compounds were identified in the mass spectrometer (70 eV electronic impact), and the mass spectra were confirmed by comparison with those present in the NIST database (National Institute of Standards & Technology, USA), and by comparing their linear retention indices (LRI) with those of known

compounds. The LRI of each compound was calculated using the retention times of a homologous series of C6-C25 n-alkanes. Results were expressed as relative percentages.

2.4 Assessment of antioxidant capacity

2.3.1 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) Radical Sequestering Activity

The DPPH radical scavenging capacity of the evaluated extract was determined according to the methodology described by [Brand-Williams et al. \(1995\)](#). A 100 μL aliquot of the extract was added to 3.9 mL of the DPPH radical (%) in methanol. After homogenization, only the blank was read at time zero, containing free radical and solvent, and all tests were kept at 25°C for 30 min. The radical scavenging activity according to the antioxidant capacity of the extracts was verified at 515 nm in a UV-VIS spectrophotometer (Quimis, Q798U, São Paulo, Brazil), and the ability to scavenge free radicals was calculated. The calibration curve was prepared with a Trolox standard (50-1000 μM) and the results were expressed as μmol of Trolox equivalent (TE) per gram of sample ($\mu\text{mol TE/g}$).

[\[Equation 1 here\]](#)

2.3.2 Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC)

The ABTS⁺ radical scavenging capacity was determined according to the methodology proposed by [Re et al. \(1999\)](#). A 30 μL aliquot of the sample was added to 3000 μL of the ABTS⁺ radical (%) in methanol. After homogenization, only the blank test was read at time zero, containing free radical and solvent, and all tests in triplicate were kept at 25°C for 6 min. The radical scavenging activity according to the antioxidant capacity of the extracts was verified at 734 nm in a UV-VIS

spectrophotometer (Quimis, Q798U, São Paulo, Brazil), zeroing the equipment with ethanol. The calibration curve was prepared with a Trolox standard (100-2000 μM), and the results were expressed in μmol of Trolox equivalents (TE) per gram of sample ($\mu\text{mol TE/g}$).

2.3.3 Iron Reducing Antioxidant Power (FRAP)

The ability of the samples to reduce iron ions was evaluated using the methodology described by [Benzie & Strain \(1999\)](#), with adaptations. The FRAP reagent was prepared by mixing acetate buffer (300 mmol /L - pH 3.6) and a solution of 10 mmol /L TPTZ (2,4,6-tripyril-s-triazine) in 40 mmol /L HCl and 20 mmol /L FeCl_3 at 10:1:1 (v:v:v). A 90 μL extract aliquot was added to 270 μL of distilled water and 2.7 mL of FRAP reagent, this was followed by homogenization and incubation in a water bath at 37°C for 30 min. Subsequently, according to the antioxidant potential, the activity for reducing iron (Fe^{3+}) to the ferrous form (Fe^{2+}) of the extract was verified at 595 nm in a UV-VIS spectrophotometer (Quimis, Q798U, São Paulo, Brazil), using solvent with FRAP reagent as a blank. Based on the calibration curve prepared with different concentrations of Trolox (50-1000 μM), the results were expressed as mg of Trolox equivalent (TE) per gram of sample (mg TE/g).

2.5 Hamburguers preparation

Thigh and lower leg of slaughtered chickens (humanitarian slaughter) were purchased from local companies in João Pessoa, Paraíba, Brazil. The burgers were prepared in the support laboratory of the Technology Centre of the Federal University of Paraíba.

The thighs and lower legs were boned and the skin was separated and frozen. Then, the meat and skin were ground separately in an industrial grinder (model MC 160, Ibrasmak, São Paulo, Brazil) with a 6 mm disk. The preparation of the chicken burgers consisted of a mixture of 70% chicken meat, 10% skin, 18% ice water and 2% salt (sodium chloride) for the control sample. For the samples with synthetic antioxidant, 0.1% BHT was added to subtract the percentage of added water, and for the samples with coffee husk extract, 3.8% and 7.6% were added, corresponding to a total phenolic content equivalent to 100 and 200 ppm CAE/kg, respectively, to subtract the percentage of water in the control sample. After mixing, the burgers (80 g) were formed in a plastic mold (10 cm diameter) and then wrapped with plastic and aluminum foil. The samples were stored at -18 °C in a commercial freezer.

Four hamburger formulations were produced: HC (negative control chicken burger - no antioxidant); HS (Positive control chicken burger - with synthetic antioxidant), HE100 (Chicken burger with coffee husk extract at 100ppm equivalent to chlorogenic acid), and HE200 (Chicken burger with coffee husk extract at 200ppm equivalent to chlorogenic acid).

The four formulations were analyzed for partial chemical (moisture, protein and fat) and physical (pH, Aa, WRC, and TPA) characterization at storage time 0; evaluation of color and volatiles profile (0 and 45 days); and lipid and protein oxidation at four storage times (0, 15, 30, and 45 days) under freezing (-18°C).

2.4.1. Grilled hamburgers

Burgers were subjected to heat treatment on a grill (CKSTGR 3007, Oster, China) previously heated to 175 °C. Cooking was performed by heat transfer through direct

contact of the hot surface on both sides of the sample until the temperature reached 75 °C in the centre of the product, measured with a skewer thermometer (INCOTERM®, China). The burgers were then cooled to a temperature of 25 °C to perform the appropriate analyses, according to (Santos et al., 2020).

2.6 Physico-chemical properties determination

2.6.1 Moisture, protein and lipid contents determination

Analyses were performed on the raw samples. Moisture content was determined by the thermogravimetric method in an oven at 105 ± 2 °C (TE -393, Tecnal, São Paulo, Brazil) to constant weight, and protein was determined by the Kjeldahl method using a conversion factor of 6.25 according to AOAC (2010). Lipids of the crude samples were measured according to the suggestion of Folch et al. (1957).

2.6.2 pH and water activity

The pH was determined on 5g of the raw samples using a digital pH meter (Quimis Aparelhos Científicos Ltda., model Q400 RS Diadema, SP, Brazil) equipped with a glass electrode (Quimis Aparelhos Científicos Ltda., model QA338-ECV) calibrated with a pH $7.0 \pm 0,02$ and $4.0 \pm 0,02$ buffer solution according to AOAC (2010). The water activity of the raw samples was obtained using electronic hygrometer (Aqualab 4TE, Decagon Devices, California, USA) calibrated with 6 M NaCl solution ($A_w=0.760 \pm 0.03$).

2.6.2 Water Retention Capacity (WRC)

The Water Retention Capacity (WRC) analysis was performed according to the methodology of [Hamm \(1960\)](#), with adaptations. On a sheet of filter paper, 2 g of the raw sample were weighed, and later superimposed on another sheet of filter paper. The set was placed between two acrylic plates, under a weight of 5 kg for a period of 5 min. The sample was then removed from the filter paper and weighed again. The WRC percentage was calculated according to Equation (2).

[\[Equation 2 here\]](#)

2.6.3 Texture Profile Analysis (TPA)

The hamburgers were submitted to texture profile analysis, using a texturometer (TA-XTplus, Stable Micro Systems, Survey, UK) coupled to a 50 mm stainless steel (P/2) cylindrical probe. The hamburgers were grilled, using an internal temperature control of 75°C. Soon after, they were cut into 30 mm long x 5 mm high cylinders and analyzed in triplicate for each treatment. The conditions for texture analysis were as follows: speed of 2.0 mm/s in the pre-test, the test, and post-test, force of 5.0 g, and time of 5s between cycles. The texture parameters of hardness, cohesiveness, adhesiveness, resilience, gumminess, and chewiness were analyzed using the Texture Expert software for Windows 1.20 (Stable Micro Systems\TE32L\version 6.1.4.0 England).

2.7 Oxidative evaluation of hamburgers

2.7.1 Instrumental color

The instrumental color (L^* , a^* , b^*) of the raw hamburgers was determined during frozen storage (0 and 45 days) using a colorimeter (CR-400, Konica Minolta, Osaka, Japan).

2.7.2 Determination of the TBARS index in hamburgers

The TBARS values of raw and grilled hamburgers were determined using the 2-thiobarbituric acid (TBA) method developed by [Rosmini et al. \(1996\)](#) and calculated from a standard curve of 1,1,3,3 tetraethoxypropane (TEP). Results were expressed as mg of TBARS per kg of hamburger.

2.7.3 Warm aroma (WOF)

The hamburgers were grilled on both sides on an induction hot plate until reaching an internal temperature of 75°C. Subsequently, they were stored under refrigeration (4°C) in fluorescent light for 48 h. After this, the samples were then reheated in a microwave for 1 min and 30 seconds, was performed according to the methodology of [Igene & Pearson \(1979\)](#), with modifications. Finally, the TBARS number was determined according to the method proposed by [Rosmini et al. \(1996\)](#).

2.7.4 Volatile profile

The volatile profile of the samples was quantified at 0 and 45 days of storage (in triplicate) using the solid phase micro-extraction technique (SPME) and an SPME device (Supelco) containing a 65 μ m fiber of polydimethylsiloxane/divinylbenzene (PDMS/DVB), which was operated according to the manufacturer's recommendations (250°C/30 min). Two grams of previously prepared gridded sample were transferred to

a 20 mL glass vial and sealed with a screw cap containing a Teflon coated septum (Supelco). The chromatographic analysis conditions were described in detail in Item 2.3.

2.7.5 *Quantification of carbonyl compounds*

Protein oxidation was evaluated from the quantification of total carbonyl compounds in the samples after derivatization with 2,4 dinitrophenylhydrazine (DNPH) according to [Ganhão et al. \(2010\)](#). One gram (1g) of the sample was homogenized with 20mM Na₃PO₄ buffer, pH 6.5, and 0.6M NaCl. From this homogenate, about 150μL were used to determine the protein concentration and the carbonyl compound contents. In both cases, 1 mL of 10% trichloroacetic acid (TCA) was added, vortexed (Vx-38, Ionlab, Araucária, Brazil), and then followed by cold centrifugation (4°C) for 5 min at 5000 rpm for protein precipitation. For determination of carbonyl compounds, 1 mL of 2M HCl and 0.2% DNPH was used. For determination of proteins, 1 mL of 2M HCl was added. The proteins and carbonyl compounds were then kept at rest for 1 h at room temperature under constant stirring. After this, the proteins were precipitated again with 1 ml of 10% TCA and centrifuged at 10000 rpm for 10 min. Subsequently, they were washed three times with ethanol/ethyl acetate (1:1 v/v) followed by centrifugation at 10,000 rpm for 5 min, between each wash. The precipitated proteins were dissolved in 1.5 ml of 20mM Na₃PO₄ buffer, pH 6.5, and 6M guanidine hydrochloride. The protein concentration of the samples was calculated from the absorbance reading at 280 nm with the aid of an albumin standard curve. The carbonyl compounds content was expressed as nmol of carbonyl compounds per mg of protein, using a hydrazone molar extinction coefficient (21.0 nM⁻¹ cm⁻¹) with absorbance readings at 370 nm.

2.8 Statistical analysis

The data obtained were evaluated using analysis of variance (ANOVA), followed by factor analysis using the Minitab[®] 19 Statistical software, and based on 5% significance levels. Principal component analysis (PCA), heat map, and hierarchical clustering were performed in XLSTAT software (version 2014.5.03, Addinsoft, New York, USA) from the preprocessed (autoscaled) data for volatile compounds and/or instrumental color and/or oxidation. Autoscaling of the data was performed in MATLAB software (The Mathworks, Inc., version 7.10.0.499, Natick, MA, R2010a).

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Total phenolic compounds and antioxidant activity of the organic coffee husk extract

The total phenolic content of the hydroethanolic coffee husks extract presented 24.13 ± 0.58 mg CAE/g. This value was higher than that of [Iriundo-DeHond et al. \(2019\)](#), who analyzing by-products of the coffee industry in terms of phenolic compounds, found a value of 15.6 ± 6 mg CAE/g in aqueous coffee husk extracts. [Silva et al., \(2020\)](#) reported that results may reveal different phenolic contents and antioxidant activities depending on the extraction method and conditions.

Coffee husks are a source of phenolic compounds that exhibit antioxidant properties against DPPH and ABTS radicals and also present iron-reducing potential [Andrade et al. \(2012\)](#).

When evaluating antioxidant activity, the action of the extract against the DPPH and ABTS radicals, and its iron reducing power (FRAP) was verified (Table 1). As for the DPPH radical, the extract presented an inhibition percentage of 84.95%. Yet in a study developed by [Abrahão et al. \(2010\)](#) for the free radical scavenging activity of coffee samples, values around 60 to 70% were obtained, lower than those observed in the present study.

For the ABTS radical, the extract obtained an inhibition percentage of 92.81%. [Andrade et al. \(2012\)](#) found a similar value when using the ABTS test in ethanolic coffee husks extract by an ultrasonic method, obtaining a result of 91.5% inhibition. As for iron reducing power (FRAP), the extract presented a potential of $23.38 \pm 0.1 \mu\text{mol TE/g}$. This value is close to that observed by [Ribeiro et al. \(2019\)](#), they evaluated the antioxidant capacity of the ethanolic coffee husks extract subjected to ultrasound, to obtain $22.77 \mu\text{mol TE/g}$.

[\[Table 1 here\]](#)

The results of ABTS, DPPH and FRAP tests show that the organic coffee husk extract has antioxidant potential and is able to slow down oxidative reactions through different mechanisms of action against different radicals, proving its suitability as an additive for products susceptible to oxidative damage. The antioxidant capacity of the extract analyzed in this study could be related to the content of phenolic compounds ([Iriondo-DeHond et al., 2019](#)). [Silva et al. \(2020\)](#) reported that this property could be mainly related to the concentration of chlorogenic acid, an important phenolic compound in coffee husks.

3.2 GC-MS extract analysis

Forty-seven volatile compounds were identified and classified according to their chemical group, including esters, aldehydes, alcohols, ketones, terpenes, hydrocarbons, acids, and furan (Table 1). The ester group was the most abundant, accounting for 34.04% of the identified compounds, followed by aldehydes, which accounted for 29.79% of the total compounds, and alcohols, which accounted for 12.76% of the detected compounds.

These groups were also identified in the study of [Pua et al. \(2021\)](#), where in samples of "Cascaras" (aqueous extract of dehydrated coffee husks) they were identified as the main chemical groups: Alcohols, esters, aldehydes, acids and ketones, which together accounted for 91 of the compounds detected. The presence of these compounds is indicative of possible precursors of flavors and aromas added to foods ([Giuffrida et al., 2020](#)).

3.2 Chemical and physical evaluation of chicken burgers

The four formulations (HC, HS, HE100, and HE200) were evaluated for physical and chemical parameters, the values obtained are shown in Table 2. With the exception of pH, the other parameters showed no significant difference between the samples ($p < 0.05$), i.e. the addition of coffee husk extract and the synthetic antioxidant (BHT) had no effect on the value of these parameters in the samples, indicating standardization between the formulations, which have only an antioxidant effect as desired.

[\[Table 2 here\]](#)

3.3 Instrumental color

As for the color parameters in the raw samples (Figure 1), it can be observed that the values of L^* (luminosity) of the treatments with coffee husk extract did not differ significantly from each other at any time ($p>0.05$), differing only from the treatments HC (without antioxidant) and HS (with synthetic antioxidant), indicating that the addition of extract affected luminosity, making the HC and HS treatments darker in relation to the other treatments.

Evaluating the parameter for intensity of the color red (a^*), the analysis of variance indicated the interference of coffee husk extract additions, promoting greater red color intensity in the HE100 and HE200 chicken burgers ($p>0.05$). Analyzing the values of b^* (yellow color intensity), it was observed that the addition of the coffee husk extract caused alterations resulting in an increase in the intensity of yellow. However, in all samples, with storage time, increasing intensities occurred, this is justified by formation of lipid and/or protein oxidation compounds that affect this parameter (Carvalho et al., 2017).

[Figure 1 here]

3.4 Oxidative stress

The TBARS values for raw and grilled hamburgers were significantly ($p<0.005$) influenced by the treatment type and storage period. Evaluating the results (Figure 2a and 2b) it can be seen that at all times analyzed (0, 15, 30, and 45 days) both the activity of the synthetic antioxidant and the organic coffee husk extract (100 and 200 ppm) in the hamburgers were effective; reducing oxidation reactions as compared to the control sample, at percentages of HS: 84%, HE100: 67%, and HE200: 88%, in the raw samples; and HS: 68%, HE100: 63%, and HE200: 67%, in the grilled samples.

As for the raw samples, it is important to note that the control hamburger (HC) presented a TBARS value at day 0 of storage, 3 times higher than the other treatments (HS, HE100, and HE200); and 4 to 11 times higher at 45 days (Figure 2a).

On the 45th day of storage, it was observed that the HE200 sample (0.22 mg MDA/kg) promoted more antioxidant activity than the HS sample, supplemented with BHT (0.35 mg MDA/kg). This evidenced the potential of the extract at this concentration. The reduction of oxidation levels during the storage of meat products, when caused plant extracts is provided by the antioxidant activity of their bioactive compounds, especially phenolics. In the case of coffee husks, chlorogenic acid, among others compounds is critical ([M. de O. Silva et al., 2020](#)).

Results similar to those reported in this research were found by [Menegali et al. \(2020\)](#) when analyzing chicken burgers supplemented with pink pepper extract and stored under refrigeration. At the end of the storage time, the formulations with synthetic antioxidant (BHT) and those with the addition of pink pepper extract presented TBARS values significantly lower than the control (no antioxidant).

In sum, when evaluating the data regarding the amount of malondialdehyde/kg of the grilled samples, with the exception of the control hamburger, it was observed that the values found were lower than 2.0 mg/kg, which is a satisfactory, since rancid odors can be sensorially identified in meat at concentrations above 2.0 mg/kg by untrained individuals ([Silva et al., 2018](#)). It is noteworthy that treatments with the addition of either synthetic antioxidant or coffee husk extract were within the acceptable limits throughout the 45 days. The control hamburger exceeded 2 mg MDA/kg on the last day of evaluation for both the raw and grilled samples, an expected result, considering that no antioxidant was added to this sample.

The HS and HE200 hamburgers, after being grilled, obtained equivalent values (0.11 mg MDA/kg) only on day 0. Although the samples with the addition of extract showed a higher concentration of MDA in relation to those treated with BHT, both obtained values lower than those obtained from the control sample, in addition to remaining below the 2 mg/kg value, generating acceptable data after heat treatment.

[Utrera et al. \(2015\)](#) evidence that during heat treatment, exposure to oxygen, along with dehydration, and subsequent matrix breakdown caused by heat, likely leads to interaction between pro-oxidants and unsaturated fatty acids, explaining the observed increase in TBARS during storage, and demonstrating the need for the addition of antioxidants.

Since the bioactive (phenolic) compounds present in the supplemented organic coffee husk extract are resistant to high temperatures, due to the pre-preparation process ([Estévez, 2021](#)), the hamburgers (grilled and treated) with extract with a higher proportion of phenolic compounds (HE200) presented oxidative stability after heat treatment.

It is also emphasized that the raw and grilled samples with the greater proportion of extract (HE200) stood out in relation to the lower concentration (HE100). In addition, the HE100 sample presented a significant increase in the rate of TBARS during the storage period, demonstrating its susceptibility to lipid oxidation, likely due to the lesser amount of extract used.

The values corresponding to the reheated aroma (WOF) at the 45 day storage period are shown in Figure 2c. The lowest lipid stability was recorded for the control hamburger, which showed a peak at 30 days (2.87 mg MDA/kg) and reduction at day 45 (2.53 mg MDA /kg), exceeding the threshold sensory perception value of

malondialdehyde. Of the samples, the hamburgers with BHT (HS) and with extract (HE200) were more efficient in reducing lipid oxidation at the end of storage (45 days), depending on its antioxidant activity.

Similar to the TBARS analysis of the raw and frozen samples, HS and HE200 obtained the same values at time 0. Another similar behavior is observed in the tendency to increase at day 15 and decrease at day 30. This decrease observed in the samples can be explained by the formation of secondary lipid oxidation products that do not react with thiobarbituric acid, degradation of malondialdehyde during storage, and/or possible reaction of already formed malondialdehyde with proteins, amines and other compounds during storage ([Silva et al., 2018](#)).

As for the HE100 sample, the values were close to the level of sensorially perceptible malondialdehyde ($< 2\text{ mg MDA/kg}$), indicating that the extract in this proportion left the hamburger susceptible to oxidation as compared to the positive control with addition of BHT (synthetic antioxidant).

Foods are normally subjected to many procedures that promote an intense pro-oxidative environment, as well as the effect of the heat generated during cooking, temperature, and exposure time can potentiate oxidative reactions ([Estévez, 2021](#)). With the increasing demand for meat-based convenience products, the meat industry needs to be aware of the WOF problem and the need to monitor the development of undesirable odors, as the occurrence of WOF odors in meat products is related to consumer rejection ([Lungu et al., 2020](#)).

It was evident that the addition of coffee husk extract as an antioxidant protected the samples under the test conditions. Thus, according to the data obtained, the replacement of BHT by coffee husk extract in adequate proportions is feasible.

Plant-derived antioxidants can also be successfully used to prevent the development of WOF in meat products (Lungu et al., 2020). They can increase shelf life (in terms of WOF), and decrease lipid oxidation, in addition to meeting consumer demands for products considered natural.

The oxidative stability of the proteins, related to the carbonyl content in the hamburgers was not significantly affected by either the treatments or storage time (Figure 2d). The data obtained demonstrate that the HS, HE100, and HE200 treatments did not act as pro-oxidants or as antioxidants, when comparing day 0 to day 45.

[Figure 2 here]

3.5 Volatiles Profile

The Heat Map (in Figure 3) shows a graphical representation of the chromatographic data obtained. A total of 63 volatile compounds were detected in the samples, including aldehydes, alcohols, esters, hydrocarbons, ketones, aromatics, furans, terpenes, phenols, and other compounds.

[Figure 3 here]

Aldehyde compounds were the main volatile components (30.16%), presenting as the majority group in all samples, however, in the HS and HE200 samples, they were identified to a lesser extent. The development of these compounds can occur rapidly during heat treatment, releasing grilled flavors; or slowly during storage, contributing to a rancid appearance and off-flavor (Bassam et al., 2022).

Certain aldehydes, with emphasis on hexanal and pentanal, are recognized for imparting rancid flavors to meat products. This derives from the oxidation of lipids, which are considered the main flavor markers of meat degradation (Qi et al., 2021). It is reported that the predominance of hexanal, noted in hamburgers, can be attributed to its

multiple synthesis pathways, since it can be generated from the oxidation of polyunsaturated fatty acids present in meat (Ortuño et al., 2021). It is also worth noting that other compounds found in the samples, such as heptanal, octanal, nonanal, (Z)-4-decenal, decanal, and (E, E)-2,4-decadienal also derive from lipid oxidation (Qi et al., 2021).

The excessive presence of these volatiles in samples not treated with antioxidant compounds is consistent with results obtained in our lipid oxidation analyses, and is in agreement with data reported by other researchers, emphasizing the need for the addition of antioxidants (Sohaib et al., 2017). There was also a considerable increase in the values of the aforementioned aldehyde compounds in the HE100 sample at the end of the storage time, reinforcing the concept that the influence of the organic coffee husk extract in this proportion did not effectively act against oxidation when compared to performance of the synthetic antioxidant (HS) or the (HE200) extract in the chicken burgers.

As mentioned earlier (Item 3.4), reheated aroma (WOF) is considered an essential quality parameter in meat and meat products, with hexanal being the most important WOF compound (Beltran et al., 2003). Researchers have shown that this compound is correlated with TBARS levels in meat samples (Gao et al., 2019).

On the other hand, referring to aldehydes, the HS and HE200 samples obtained relatively lower intensities as compared to the other treatments, this is in accordance with the oxidation analyses performed in previous sections.

Volatile compounds containing functional alcohol groups also stood out in terms of their presence in hamburgers, they corresponded to 19.05% of the identified compounds. With the exception of 3-methyl-1-butanol, which showed higher intensity

in the HE200 sample, it is noted that similar to the aldehydes, the HS and HE200 samples obtained lower alcohols intensity in relation to the other samples and that at the end of the storage time, the alcohols, for the most part, became statistically similar for the HE100 samples in relation to HC.

Other volatile compounds such as ketone (2,5-octanedione), certain hydrocarbons (decane, dodecane, and tridecane), and furan (2-pentylfuran) also stood out in the HC sample, such groups are the result of the oxidative decomposition of unsaturated fatty acids and lipids ([Liu et al., 2022](#)). It is worth mentioning that at day 45, the HE100 sample showed a significant increase in its intensity for 2,5-octanedione and 2-pentylfuran.

The presence of two compounds identified as pyrazines (2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazine and 2,5-Dimethyl-3-isobutylpyrazine) were found in the samples with the extract additions, in agreement with [Murthy et al. \(2019\)](#) who reported that this group was found in coffee samples, qualifying them as roasted, nutty, and toasty aromas.

Although lipid oxidation is often associated with negative effects on meat products [Domínguez et al. \(2019\)](#), it has been shown that (depending on the concentration) lipid oxidation products can positively contribute to meat aroma. When in moderate levels, they lead to a positive contribution through the formation of free fatty acids. On the other hand, negative effects are caused by the excess of lipid-derived volatiles which when increasing are mostly related to flavor rejection ([Bassam et al., 2022](#)).

In summary, similar to the lipid oxidation analyses (TBARS and WOF), we point out that according to the volatile profile, the extract additions promoted less

impact on the development of volatile compounds originating from lipid oxidation. At the same time, by the end of the storage time, it was noted that the hamburger supplemented with the extract equivalent to 200 ppm CAE was superior to the addition of extract equivalent at 100 ppm CAE, reinforcing the advantage of using the higher proportion of extract in chicken burgers.

3.6 Principal Component Analysis (PCA)

Principal component analysis was applied to evaluate the behavior of organic coffee husk extract (HE100 and HE200) in chicken burgers, as compared to the use of synthetic antioxidant, and a control (without antioxidant). PCA was performed using instrumental color, TBARS (raw and grilled), WOF, carbonyl, and aldehyde content as variables (Figure 4). The principle components F1 and F2 presented respective variances of 50.58% and 20.74%.

[\[Figure 4 here\]](#)

The HS and HE200 samples remained in the same quadrants throughout the storage days, demonstrating similar behavior. It is worth mentioning that the oxidation parameters evaluated were not predominant in these samples, emphasizing that these treatments suffered less impact from oxidative reactions than the control sample over the 45 days of storage under freezing. The oxidation parameters were evaluated from time 0 to 45 days as compared to the HC sample and the HE100 sample became more prone to oxidation as it reached 45 days of storage. Thus, the addition of the extract in the proportion of 200 ppm was alone satisfactory, similar to the behavior of the synthetic antioxidant.

In sum, considering the a^* and b^* color parameters, these were positioned in the quadrants containing the HS and HE200 samples. The parameter a^* (redness) was predominant at time 0 for these samples, and on day 45 the parameter b^* (yellowing) was directed to the quadrant of these samples.

4 CONCLUSION

It was concluded that the addition of coffee husk extract at a concentration of 200 ppm equivalents to chlorogenic acid to chicken hamburgers promoted satisfactory effects against lipid oxidation, presenting results similar to the synthetic antioxidant BHT. The addition of organic coffee husk extract to chicken burgers is indicated and considered a potential natural additive. The use of coffee husks helps to minimize the amount of agro-industrial by-products generated in the coffee industry and adds value to the product.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors acknowledge CAPES, for the resources to carry out this work, through the project approved by the PRONEX/FAPESQ public notice. The authors would also like to thank Fazenda Yaguara Ecológica for the partnership and availability of the raw material.

REFERENCES

- Abrahão, S. A., Pereira, R. G. F. A., Duarte, S. M. da S., Lima, A. R., Alvarenga, D. J., & Ferreira, E. B. (2010). Coffee (*Coffea arabica* L.) bioactive compounds and antioxidant activity. *Ciênc. Agrotec*, 34(2), 414–420.
- Andrade, K. S., Gonálvez, R. T., Maraschin, M., Ribeiro-Do-Valle, R. M., Martínez, J.,

- & Ferreira, S. R. S. (2012). Supercritical fluid extraction from spent coffee grounds and coffee husks: Antioxidant activity and effect of operational variables on extract composition. *Talanta*, 88, 544–552. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.11.031>
- AOAC Association of Official Analytical Chemists. *Official methods of analysis* (18th ed.), Association of Official Analytical Chemists, Washington DC (2010).
- Bassam, S. M., Noleto-Dias, C., & Farag, M. A. (2022). Dissecting grilled red and white meat flavor: Its characteristics, production mechanisms, influencing factors and chemical hazards. *Food Chemistry*, 371(August 2021), 131139. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131139>
- Beltran, E., Pla, R., Yuste, J., & Mor-Mur, M. (2003). Lipid oxidation of pressurized and cooked chicken: role of sodium chloride and mechanical processing on TBARS and hexanal values. *Meat Science*, 64, 19–25.
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology*, 299(1995), 15–27. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99005-5](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99005-5)
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Carvalho, R., Shimokomaki, M., & Estévez, M. (2017). Poultry meat color and oxidation. *Poultry Quality Evaluation: Quality Attributes and Consumer Values*, 133–157. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100763-1.00006-4>
- Consonni, R., Polla, D., & Cagliani, L. R. (2018). Organic and conventional coffee differentiation by NMR spectroscopy. *Food Control*, 94(July), 284–288. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.07.013>
- Domínguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F. J., Zhang, W., & Lorenzo, J. M. (2019). A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. *Antioxidants*, 8(10), 1–31. <https://doi.org/10.3390/antiox8100429>
- Estévez, M. (2021). Critical overview of the use of plant antioxidants in the meat industry: Opportunities, innovative applications and future perspectives. *Meat Science*, 181. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108610>
- Fernandes, R. P. P., Trindade, M. A., Tonin, F. G., Pugine, S. M. P., Lima, C. G., Lorenzo, J. M., & de Melo, M. P. (2017). Evaluation of oxidative stability of lamb burger with *Origanum vulgare* extract. *Food Chemistry*, 233, 101–109. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.100>
- Folch, J., Lees, M., & Stanley, G. H. . (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, 226(1), 497–509. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)64849-5)

- 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*, 85(3), 402–409. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.02.008>
- Gao, Y., Zhuang, H., Yeh, H. Y., Bowker, B., & Zhang, J. (2019). Effect of rosemary extract on microbial growth, pH, color, and lipid oxidation in cold plasma-processed ground chicken patties. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 57(March), 102168. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.05.007>
- Giuffrida, D., Martínez, N., Arrieta-garay, Y., Fariña, L., Boido, E., Dellacassa, E., Sezone, D. B. I. O. M. O. R. F., Polo, S., Blocco, A., H, H., & Viale, P. (2020). Valorisation of Schinus molle fruit as a source of volatile compounds in foods as flavours and fragrances. *Food Research International*, 133, 109103. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109103>
- Hamm, R. (1961). Biochemistry Of Meat Hydration. In *Biochemistry of Meat* (pp. 355–463). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0065-2628\(08\)60141-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2628(08)60141-X)
- ICO (2021). *International Coffee Organization*. Retrieved from <https://www.ico.org/> Accessed January 29, 2022.
- Igene, J. O., & Pearson, A. M. (1979). Role of Phospholipids and Triglycerides in Warmed-Over Flavor Development in Meat Model Systems. *Journal of Food Science*, 44(5), 1285–1290. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1979.tb06420.x>
- Iriondo-DeHond, A., Aparicio García, N., Fernandez-Gomez, B., Guisantes-Batan, E., Velázquez Escobar, F., Blanch, G. P., San Andres, M. I., Sanchez-Fortun, S., & del Castillo, M. D. (2019). Validation of coffee by-products as novel food ingredients. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 51(June 2018), 194–204. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.06.010>
- Liu, H., Hui, T., Fang, F., Li, S., Wang, Z., & Zhang, D. (2022). The formation of key aroma compounds in roasted mutton during the traditional charcoal process. *Meat Science*, 184(September 2021), 108689. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108689>
- Lungu, N. S., Afolayan, A. J., Thomas, R. S., & Idamokoro, E. M. (2020). Consumer exposure to warmed-over flavour and their attitudes towards the use of natural antioxidants as preservatives in meat and meat products. *British Food Journal*, 122(9), 2927–2937. <https://doi.org/10.1108/BFJ-11-2019-0837>
- Menegali, B. S., Selani, M. M., Saldaña, E., Patinho, I., Diniz, J. P., Melo, P. S., Pimentel Filho, N. de J., & Contreras-Castillo, C. J. (2020). Pink pepper extract as a natural antioxidant in chicken burger: Effects on oxidative stability and dynamic sensory profile using Temporal Dominance of Sensations. *Lwt*, 121(September 2019), 108986. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108986>
- Murthy, P. S., P, S. H., K, B., & Kusumoto, K. I. (2019). Modulation of coffee flavor precursors by *Aspergillus oryzae* serine carboxypeptidases. *Lwt*, 113(January),

108312. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108312>
- Ortuño, J., Mateo, L., Rodríguez-Estrada, M. T., & Bañón, S. (2021). Effects of sous vide vs grilling methods on lamb meat colour and lipid stability during cooking and heated display. *Meat Science*, 171(August 2020), 108287. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108287>
- Özünlü, O., Ergezer, H., & Gökçe, R. (2018). Improving physicochemical, antioxidative and sensory quality of raw chicken meat by using acorn extracts. *Lwt*, 98, 477–484. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.09.007>
- Pateiro, M., Gómez-Salazar, J. A., Jaime-Patlán, M., Sosa-Morales, M. E., & Lorenzo, J. M. (2021). Plant Extracts Obtained with Green Solvents as Natural Antioxidants in Fresh Meat Products. *Antioxidants*, 10(2), 181. <https://doi.org/10.3390/antiox10020181>
- Pua, A., Choo, W. X. D., Goh, R. M. V., Liu, S. Q., Cornuz, M., Ee, K.-H., Sun, J., Lassabliere, B., & Yu, B. (2021). A systematic study of key odourants, non-volatile compounds, and antioxidant capacity of cascara (dried *Coffea arabica* pulp). *Lwt*, 138, 110630. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110630>
- Qi, J., Xu, Y., Zhang, W., Xie, X., Xiong, G., & Xu, X. (2021). Short-term frozen storage of raw chicken meat improves its flavor traits upon stewing. *Lwt*, 142(August 2020), 111029. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111029>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0891584998003153>
- Ribeiro, E. F., Luzia, D. M. M., & Jorge, N. (2019). Antioxidant compounds extraction from coffee husks: The influence of solvent type and ultrasound exposure time. *Acta Scientiarum - Technology*, 41(1), 1–10. <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v41i1.36451>
- Rosmini, M. R., Perlo, F., Pérez-Alvarez, J. A., Pagán-Moreno, M. J., Gago-Gago, A., López-Santoveña, F., & Aranda-Catalá, V. (1996). TBA test by an extractive method applied to “Paté.” *Meat Science*, 42(1), 103–110. [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(95\)00010-0](https://doi.org/10.1016/0309-1740(95)00010-0)
- Ruiz-Hernández, K., Sosa-Morales, M. E., Cerón-García, A., & Gómez-Salazar, J. A. (2021). Physical, Chemical and Sensory Changes in Meat and Meat Products Induced by the Addition of Essential Oils: A Concise Review. *Food Reviews International*, 00(00), 1–30. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1939369>
- Santos, É. M. dos, Macedo, L. M. de, Tundisi, L. L., Ataíde, J. A., Camargo, G. A., Alves, R. C., Oliveira, M. B. P. P., & Mazzola, P. G. (2021). Coffee by-products in topical formulations: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 111, 280–291. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.064>

- Santos, M. M. F., Lima, D. A. S., Madruga, M. S., & Silva, F. A. P. (2020). Lipid and protein oxidation of emulsified chicken patties prepared using abdominal fat and skin. *Poultry Science*, 99(3), 1777–1787. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.11.027>
- Silva, F. A. P., Estévez, M., Ferreira, V. C. S., Silva, S. A., Lemos, L. T. M., Ida, E. I., Shimokomaki, M., & Madruga, M. S. (2018). Protein and lipid oxidations in jerky chicken and consequences on sensory quality. *Lwt*, 97(February), 341–348. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.07.022>
- Silva, M. de O., Honfoga, J. N. B., Medeiros, L. L. de, Madruga, M. S., & Bezerra, T. K. A. (2020). Obtaining Bioactive Compounds from the Coffee Husk (*Coffea arabica* L.) Using Different Extraction Methods. *Molecules*, 26(1), 46. <https://doi.org/10.3390/molecules26010046>
- 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*, 16(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12944-017-0426-5>
- Trujillo-Santiago, E., Villalobos-Delgado, L. H., Guzmán-Pantoja, L. E., López, M. G., Zafra-Ciprián, D. I., Nevárez-Moorillón, G. V., & Santiago-Castro, J. T. (2021). The effects of Hierba Santa (*Piper auritum* Kunth) on the inhibition of lipid oxidation in beef burgers. *Lwt*, 146(April). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111428>
- Utrera, M., Morcuende, D., Ganhão, R., & Estévez, M. (2015). Role of Phenolics Extracting from *Rosa canina* L. on Meat Protein Oxidation During Frozen Storage and Beef Patties Processing. *Food and Bioprocess Technology*, 8(4), 854–864. <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1450-3>

Equation 1. Percentage of DPPH radical inhibition

$$\% \text{ Inhibition} = \left[\frac{(ADPPH - \text{Extract Abs})}{ADPPH} \right] \times 100$$

Where, **ADPPH** is the absorbance of the DPPH solution and " **Extract Abs** " is the absorbance of the sample.

Equation 2. Calculation to determine WRC

$$\% \text{ WRC} = 100 - \left[\frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100 \right]$$

Where, **P_i** is the sample weight before pressing and **P_f** is the sample weight after pressing.

Table 1. Results for antioxidant activity and chemical identification of organic coffee husk extract

Antioxidant Activity	Coffee husk extract	Literature
Total Phenolics (mg CAE/g)	24.13 ± 0.58	15.60 *
%DPPH inhibition	84.95 ± 0.02	60 a 70**
% ABTS inhibition	92.81 ± 0.01	91.50 ***
FRAP (µmol TE/g)	23.38 ± 0.1	22.77 *****

Identification of husk coffee extract by GC-MS (AU × 10⁴)		
Compounds	IRL	AREA (COUNT)
<i>ESTER</i>		
Ethyl heptanoate	1099	17
Methyl octanoate	1125	7,73
Methyl salicylate	1192	27,9
Ethyl decanoate	1396	11,7
Ethyl dodecanoate	1596	236
Methyl tetradecanoate	1725	31,4
Ethyl tetradecanoate	1795	18,6
2-Ethylhexyl salicylate	1806	28,9
Isopropyl myristate	1826	37
Homosalate	1885	33,9
Methyl hexadecanoate	1926	218
Ethyl hexadecanoate	1994	55,4

Methyl linoleate	2092	201
Methyl linolenate	2098	182
Ethyl linoleate	2162	4,61
Ethyl linolenate	2171	11,4

ALDEHYDE

Hexanal	794	5,22
Heptanal	899	6,62
(Z)-2-Heptenal	954	1,4
Benzaldehyde	956	12,2
Benzeneacetaldehyde	1042	6,52
(E)-2-Octenal	1057	8,44
Nonanal	1103	84,4
Decanal	1205	35,8
2,5-Dimethylbenzaldehyde	1213	211
Undecanal	1307	17
Dodecanal	1409	44,8
Tetradecanal	1613	18,7
Pentadecanal	1714	126
2-Hexylcinnamaldehyde	1748	36,8

ALCOHOL

1-Octen-3-ol	977	1,54
2-Ethyl-1-hexanol	1029	7,08
(E)-2-Octen-1-ol	1068	5,19

Octanol	1071	3,49
Nonanol	1171	12,9
Dodecanol	1474	16
<i>KETONES</i>		
2-Nonanone	1093	1,89
Benzophenone	1627	161
6,10,14-Trimethyl-2 pentadecanone	1847	18,2
<i>TERPENES</i>		
β -Damascenone	1385	34,1
Geranyl acetone	1453	5,85
β -Farnesene	1457	3,91
<i>HYDROCARBON</i>		
Tetradecane	1399	11,8
Pentadecane	1495	5,6
<i>ACID</i>		
Decanoic acid	1376	68,5
Dodecanoic acid	1568	28,6
<i>FURAN</i>		
2-Pentylfuran	990	1,58

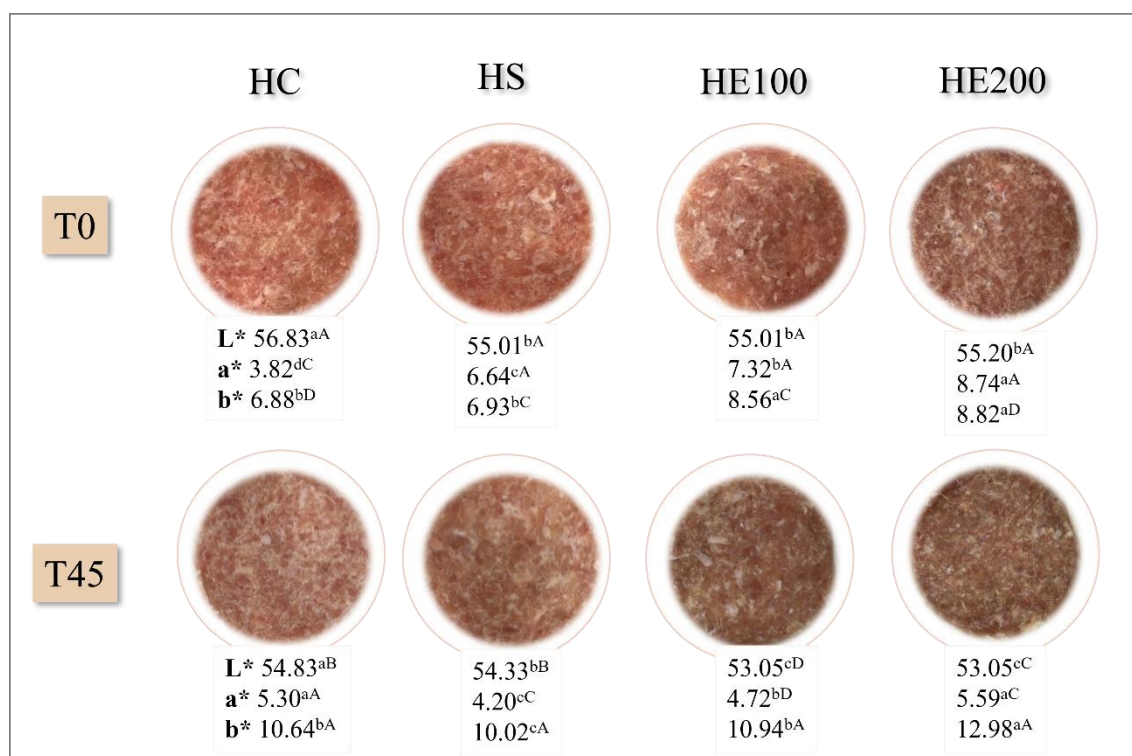
TE: Trolox equivalent. * Iriondo-DeHond et al. (2019); **Abrahão et al. (2010);

*** Andrade et al. (2012); ****Ribeiro, Luzia and Jorge (2019).

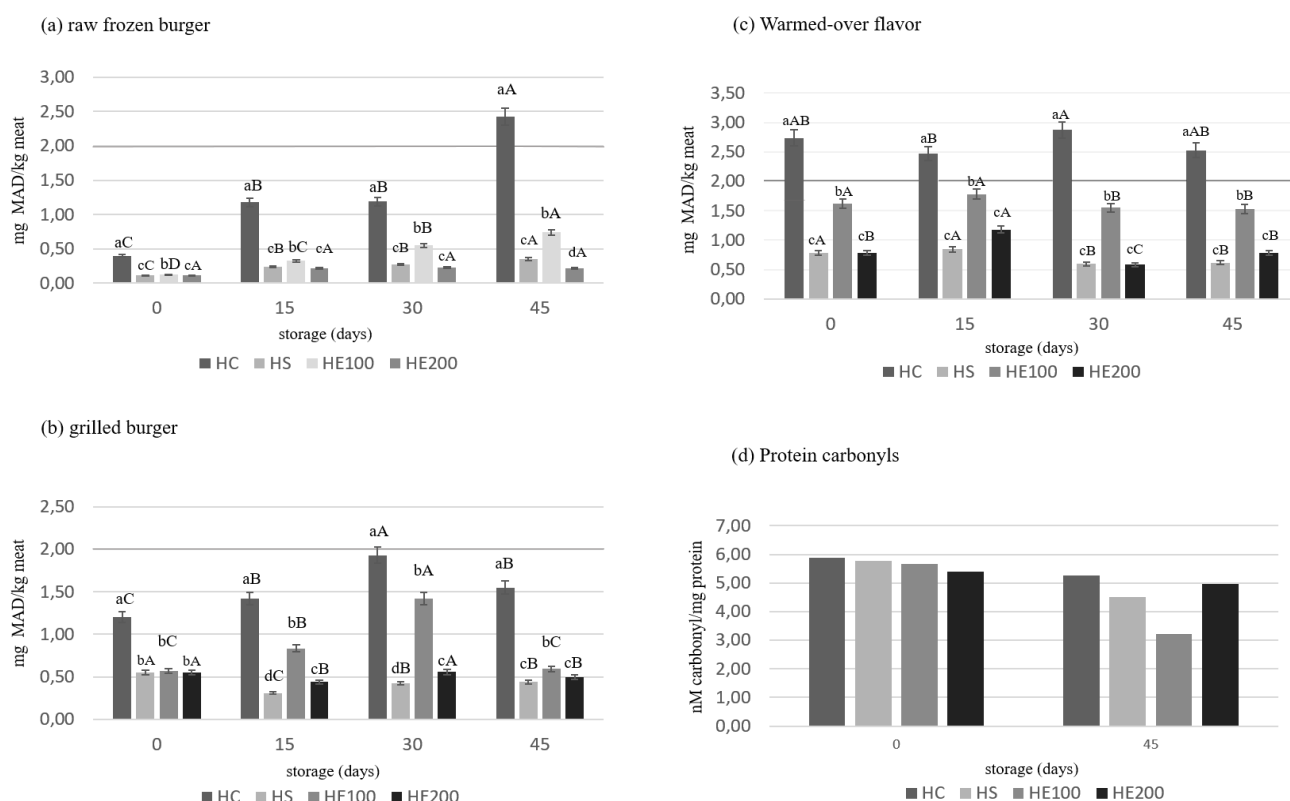
Table 2. Physical and chemical evaluation of chicken hamburger with and without addition of organic coffee husk extract.

PARAMETER	HAMBURGER			
	HC	HS	HE100	HE200
Moisture	76.00 ± 0.18	76.19 ± 0.07	74.68 ± 1.26	76.12 ± 0.10
Protein	14.81 ± 0.53	14.63 ± 0.52	14.68 ± 0.15	14.27 ± 0.24
Lipids	3.75 ± 0.34	4.25 ± 0.04	4.37 ± 0.08	4.53 ± 0.49
Aa	0.99 ± 0.003	0.99 ± 0.001	0.99 ± 0.001	0.99 ± 0.0004
pH	6.55 ^a ± 0.02	6.48 ^b ± 0.01	6.52 ^{ab} ± 0.02	6.51 ^{ab} ± 0.02
WRC	68.39 ± 0.01	67.67 ± 1.67	69.75 ± 1.14	68.96 ± 0.71
TEXTURE PROFILE ANALYSIS - (TPA)				
Toughness	15.43 ± 0.92	15.96 ± 0.04	16.54 ± 0.01	16.53 ± 0.44
Adhesiveness	0.83 ± 0.003	0.81 ± 0.01	0.81 ± 0.01	0.81 ± 0.02
Elasticity	0.93 ± 0.003	0.91 ± 0.001	0.93 ± 0.001	0.92 ± 0.001
Cohesiveness	0.76 ± 0.01	0.72 ± 0.004	0.77 ± 0.01	0.78 ± 0.001
Gumminess	13.56 ± 1.07	13.30 ± 19.72	12.45 ± 0.84	13.96 ± 0.58
Chewability	12.39 ± 0.98	11.83 ± 0.19	10.69 ± 1.05	11.59 ± 0.48
Resilience	0.39 ± 0.01	0.38 ± 0.08	0.39 ± 0.04	0.40 ± 0.01

*HC= Antioxidant-free chicken burger; HS=Chicken burger with synthetic antioxidant; HE100= Organic Coffee Husk Extract Chicken Burger – equivalent to 100 ppm CAE, and HE200= Organic Coffee Husk Extract Chicken Burger – equivalent to 200 ppm CAE. * ^{a,b} Means followed by different letters on the same line differ statistically from each other by Tukey's test (p<0.05). The Tukey test was applied at the 5% probability level.

Figure 1. Results for Instrumental Color - Raw Samples

*HC= Antioxidant-free chicken burger; HS=Chicken burger with synthetic antioxidant; HE100= Chicken burger with coffee husk extract – equivalent to 100 ppm CAE, and HE200= Chicken burger with coffee husk extract – equivalent to 200 ppm CAE. Results are expressed as means $\pm$ standard deviations. Different lowercase letters indicate significant differences ($p < 0.05$) between samples at the same time of storage; Different capital letters indicate significant differences ($p < 0.05$) between the same samples over time of storage. (*L=luminosity; a*=red content, b*=yellow content).

Figure 2. Hamburger Oxidation Results

*HC= Antioxidant-free chicken burger; HS=Chicken burger with synthetic antioxidant; HE100= Chicken burger with coffee husk extract – equivalent to 100 ppm CAE, and HE200= Chicken burger with coffee husk extract – equivalent to 200 ppm CAE. Results are expressed as means $\pm$ standard deviations. Different lowercase letters indicate significant differences ($p < 0.05$) between samples at the same time of storage; Different capital letters indicate significant differences ($p < 0.05$) between the same samples over the storage time.

Figure 3. Hierarchical cluster and heat map applied to burger volatiles profile.

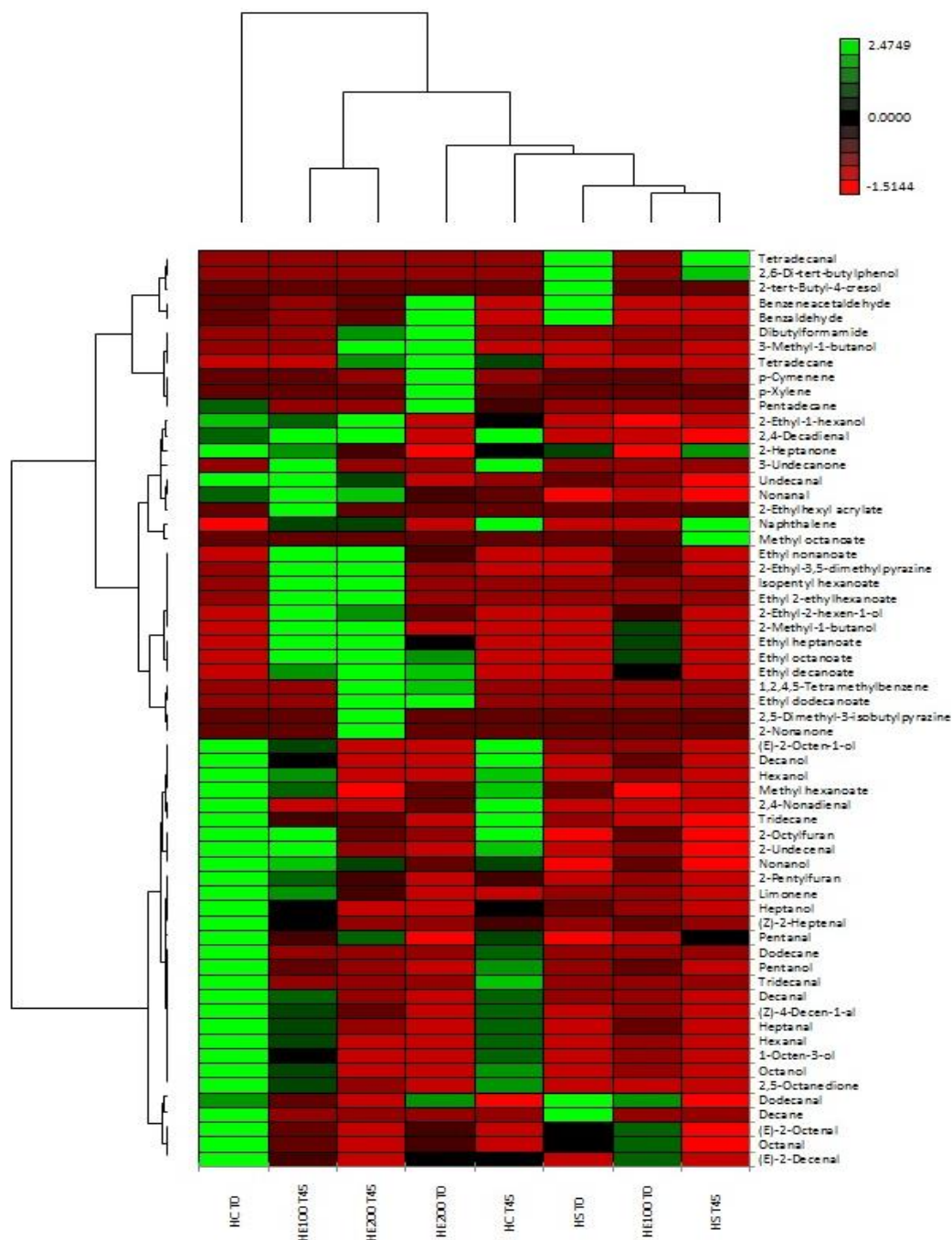
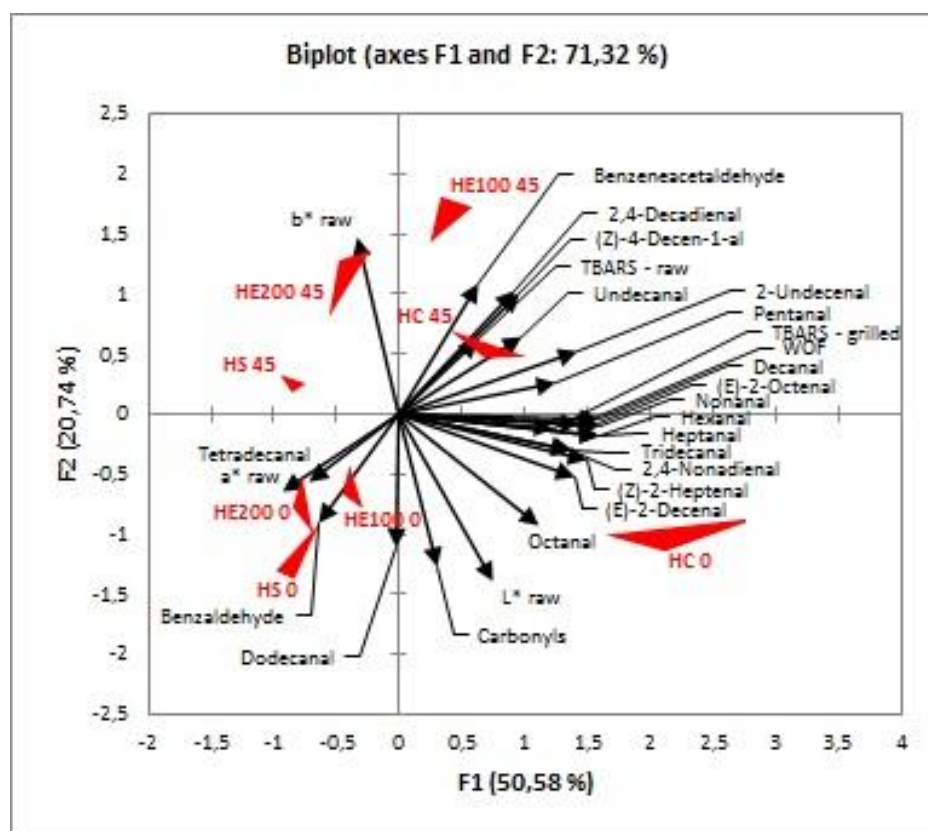


Figure 4. Principal Component Analysis



5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados apresentados e considerando as condições analisadas na pesquisa, é possível concluir que o extrato de casca de café orgânico adicionado a hambúrguer de frango na proporção de 200 ppm CAE/kg de carne mostrou-se equivalente ao antioxidante sintético BHT frente a oxidação lipídica, no período de 45 dias sob armazenamento congelado, mostrando potencial promissor para ser utilizado como antioxidante em hambúrgueres de frango. Quanto a oxidação proteica, não houve influência pró ou antioxidante ao longo do tempo de armazenamento.

Para estudos futuros, sugere-se análises referentes a possível ação antimicrobiana do extrato de casca de café em hambúrguer de frango, como também análise sensorial dos hambúrgueres, a fim de avaliar a percepção dos consumidores quanto a adição desse novo ingrediente. Sugere-se, ainda, a adição de extrato de casca de café em outros produtos cárneos, objetivando gerenciar um subproduto rico em compostos de interesse para a indústria de alimentos e disseminar uma nova alternativa que atue como antioxidante quando adicionado em produtos à base de carne, solucionando problemas provenientes das reações oxidativas, contribuindo, assim, para avanços científicos e tecnológicos quanto ao uso de subprodutos oriundos da indústria cafeeira.