

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

ANNA JÚLLIA BEZERRA DA SILVA

EXTRAÇÃO DE POLIFENÓIS DO BAGAÇO DE UMBU-CAJÁ
(Spondias bahiensis) **ASSISTIDA POR ULTRASSOM PARA**
APLICAÇÃO EM ALMÔNDEGA CAPRINA: EFEITOS NA
ESTABILIDADE OXIDATIVA E BIOACESSIBILIDADE

JOÃO PESSOA

2023

ANNA JÚLIA BEZERRA DA SILVA

**EXTRAÇÃO DE POLIFENÓIS DO BAGAÇO DE UMBU-CAJÁ
(*Spondias bahiensis*) ASSISTIDA POR ULTRASSOM PARA
APLICAÇÃO EM ALMÔNDEGA CAPRINA: EFEITOS NA
ESTABILIDADE OXIDATIVA E BIOACESSIBILIDADE**

JOÃO PESSOA

2023

ANNA JÚLLIA BEZERRA DA SILVA

**EXTRAÇÃO DE POLIFENÓIS DO BAGAÇO DE UMBU-CAJÁ
(*Spondias bahiensis*) ASSISTIDA POR ULTRASSOM PARA
APLICAÇÃO EM ALMÔNDEGA CAPRINA: EFEITOS NA
ESTABILIDADE OXIDATIVA E BIOACESSIBILIDADE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, do Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Dr. Fábio Anderson Pereira da Silva

JOÃO PESSOA

2023



ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Aos vinte e dois dias do mês de novembro do ano de dois mil e vinte e três, via web conferência, às 8h, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelo Prof. Dr. Fábio Anderson Pereira da Silva, orientador do trabalho e presidente da Banca, Profa. Dra. Taliana Kênia Alencar Bezerra (Membro Interno/UFPB) e a Profa. Dra. Valquíria Cardoso da Silva Ferreira (Membro Externo/UFPB). A reunião teve por objetivo julgar o trabalho da estudante **Anna Júllia Bezerra da Silva**, matrícula nº 20211016641, sob o Título “**Extração de polifenóis do bagaço de umbu-cajá (*Spondias bahiensis*) assistida por ultrassom e aplicação em almôndega caprina: efeitos na estabilidade oxidativa e bioacessibilidade**”. Os trabalhos foram abertos pelo Prof. Dr. Fábio Anderson Pereira da Silva. A seguir foi dada a palavra a estudante para apresentação do trabalho. Cada Examinador(a) arguiu a mestrandia, com tempos iguais de arguição e resposta. Terminadas as arguições, procedeu-se ao julgamento do trabalho, concluindo a Banca Examinadora por sua aprovação. Atendidas as exigências da Resolução nº 15/2019/CONSEPE que regulamentam o Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, e nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente Ata, que vai assinada pelos membros da Banca Examinadora e pela mestrandia.

João Pessoa, 22 de novembro de 2023.

Se houver alteração no título do trabalho, informar o novo título abaixo:

Documento assinado digitalmente
gov.br FABIO ANDERSON PEREIRA DA SILVA
Data: 24/11/2023 15:23:28-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Fábio Anderson Pereira da Silva
Orientador e Presidente

Anna Júllia Bezerra da Silva
Mestrandia

Documento assinado digitalmente
gov.br VALQUIRIA CARDOSO DA SILVA FERREIRA
Data: 28/11/2023 11:45:36-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Valquíria Cardoso da Silva Ferreira
Membro Externo/UFPB

Profª. Dra. Taliana Kênia Alencar Bezerra
Membro Interno/UFPB

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S586e Silva, Anna Júlia Bezerra da.

Extração de polifenóis do bagaço de umbu-cajá (Spondias bahiensis) assistida por ultrassom para aplicação em almôndega caprina: efeitos na estabilidade oxidativa e bioacessibilidade / Anna Júlia Bezerra da Silva. - João Pessoa, 2023.

87 f. : il.

Orientação: Fábio Anderson Pereira da Silva.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CT.

1. Tecnologia de alimentos - Umbu-cajá. 2. Umbu-cajá - Antioxidante natural. 3. Frutas tropicais - Semiárido. 4. Produtos cárneos. I. Silva, Fábio Anderson Pereira da. II. Título.

UFPB/BC

CDU 664:634.442(043)

ANNA JÚLIA BEZERRA DA SILVA

**EXTRAÇÃO DE POLIFENÓIS DO BAGAÇO DE UMBU-CAJÁ (*Spondias bahiensis*)
ASSISTIDA POR ULTRASSOM PARA APLICAÇÃO EM ALMÔNDEGA CAPRINA:
EFEITOS NA ESTABILIDADE OXIDATIVA E BIOACESSIBILIDADE**

Dissertação _____ em ____ / ____ /2023.

BANCA EXAMINADORA

**Prof. Dr. Fábio Anderson Pereira da Silva – PPGCTA/CT/UFPB
Orientador**

**Profa. Dra. Taliana Kenia Alencar Bezerra– PPGCTA/CT/UFPB
Examinador Interno**

**Dra. Valquíria Cardoso da Silva Ferreira – PPGTA/CCHSA/UFPB
Examinador Externo**

DEDICATÓRIA

Dedico à menininha estudiosa e sonhadora que sempre habitou em mim, à adolescente que encontrou na área de alimentos o motivo dos seus olhos brilharem, à jovem que seu maior sonho era fazer o mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Conseguimos!

Aos meus pais, Rosinalva e José Bezerra, que sempre me apoiaram e me instigaram a ter coragem de conquistar o mundo e me fazer entender que nenhum sonho é impossível.

Ao meu amado Jefferson, por não medir esforços em se fazer presente em todos os momentos deste processo, ser minha companhia, meu apoio.

Aos meus amados Júlio Netto, Ilze e todos meus amigos e amigas, que sempre me apoiaram com carinho e acreditaram na minha capacidade quando nem eu estava acreditando.

Aos meus mestres que sempre acreditaram no meu potencial e me incentivaram a ser uma profissional melhor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e a todas as entidades, em especial a seu Zé Pelintra e dona Maria da Encruzilhada, que me deram apoio e confiança para seguir neste processo tão árduo.

À minha querida psicóloga, por me ajudar a encontrar o equilíbrio emocional em meio a tanto caos e nunca ter soltado a minha mão.

À minha família e ao meu namorado por todo suporte emocional, por cuidarem de mim, por se fazerem presentes nesta etapa tão difícil e solitária.

À minha querida Gleyce, por ter sido meu braço direito e esquerdo, melhor iniciação científica que eu poderia ter.

Às minhas companheiras acadêmicas Layane, Maria Luisa, Júlia, Lucielma, Halley, Michela, Elen, Samara, Mychelle e Miriane, vocês tornaram meus dias mais leves, conhecer vocês foi um presente. Obrigada por toda ajuda!

Ao Programa de Pós Graduação em Tecnologia Agroalimentar (PPGTA/UFPB) e ao Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias (CCHSA/UFPB) por ter me acolhido e cedido o espaço para o desenvolvimento da minha pesquisa, em especial aos técnicos Valquíria Cardoso e José Evangelista, por todos os ensinamentos transmitidos, por todo suporte e atenção, aprendi muito com vocês.

Ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA/UFPB) pela oportunidade de cursar uma pós com tamanha qualidade.

Ao meu orientador Fábio Silva, por todos os ensinamentos transmitidos, pela atenção e por compreender minhas limitações.

À FAPESQ, CNPq e todos os órgãos de fomento responsáveis pela concessão da bolsa.

**“[...] Tudo que eu fizer
Eu vou tentar melhor do que já fiz
Esteja o meu destino onde estiver
Eu vou buscar a sorte e ser feliz**

**Tudo que eu quiser
O cara lá de cima vai me dar
Me dar toda coragem que puder
Que não me falte forças pra lutar [...]”**

(Lua de Cristal, Xuxa)

RESUMO

Este estudo foi desenvolvido com o objetivo de otimizar as condições de extração de polifenóis do bagaço de umbu-cajá (*Spondias bahiensis*) por meio da extração assistida por ultrassom, determinação do perfil de fenólicos e as propriedades antioxidantes do extrato obtido antes e após digestão simulada *in vitro*. Como também, avaliar o efeito da incorporação desse extrato na estabilidade oxidativa das almôndegas caprinas pré-cozidas durante 10 dias de armazenamento refrigerado, verificando-se o teor dos produtos da oxidação após digestão simulada. Um delineamento composto central rotacional (DCCR) foi utilizado para determinar as condições ótimas para a extração hidroetanólica dos compostos fenólicos do bagaço de umbu-cajá, considerando a concentração de etanol, o tempo de sonicação e a relação substrato:solvente. Dentre os 17 ensaios, aquele que apresentou os maiores níveis de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante frente ao radical DPPH foi submetido à análise do perfil de fenólicos, atividade antioxidante frente ao radical ABTS, poder de redução do ferro (FRAP), atividade quelante do íon ferroso e determinação da bioacessibilidade no extrato, além de avaliado quanto sua capacidade antioxidante *in vitro*. O extrato fenólico otimizado (20 min de sonicação, razão bagaço:solvente de 1:36,8 e 55% de etanol) foi aplicado em almôndega caprina em duas concentrações, sendo EX2 a almôndega com extrato natural adicionado de volume equivalente a 0,5 g de sólidos totais do extrato/kg de produto e EX4 a almôndega com extrato natural adicionado de volume equivalente a 1,0 g sólidos totais do extrato/kg de produto. Dois tratamentos referência foram elaborados: controle (almôndega sem adição de antioxidante); e BHT (almôndega adicionada de 0,2 g de butilhidroxitolueno (BHT)/kg do produto). Os efeitos da concentração do extrato de umbu-cajá e tempo de armazenamento sob refrigeração (10 dias) na estabilidade oxidativa das almôndegas caprinas foram avaliados considerando os parâmetros de umidade, pH, cor instrumental, índice de peróxido, TBARS, compostos carbonílicos. A fração intestinal das almôndegas foi avaliada quanto ao teor de fenólicos, DPPH, ABTS, malonaldeídos e carbonílicos totais. O extrato apresentou 839,65 mg EAG de fenólicos totais e a atividade antioxidante medida pelos ensaios DPPH, ABTS e FRAP foi de 1938,0 mM Eq.T.100g⁻¹ ms, 2681,1 mM Eq.T.100g⁻¹ ms e 571,3 mM TE.100g⁻¹ ms, respectivamente. O perfil de fenólicos do extrato otimizado revelou predominância de ácido gálico e quercetina. A maioria dos fenólicos identificados demonstrou alta bioacessibilidade, resultando em uma atividade antioxidante significativa na fração intestinal. A aplicação do extrato do bagaço de umbu-cajá em diferentes concentrações apresentou efeito positivo no retardo da oxidação lipídica até o dia 10 e da oxidação proteica até o dia 5. Porém, as diferentes concentrações do extrato não foram capazes de inibir mudanças alterações de cor. Os compostos fenólicos apresentaram alta capacidade antioxidante *in vitro*, comprovado pelo ensaio de DPPH e ABTS e boa bioacessibilidade dos fenólicos. Também apresentou baixo conteúdo dos compostos malonaldeído e carbonílicos na fração intestinal. Portanto, o extrato apresenta desempenho similar ao antioxidante sintético empregado, podendo substituir parcial ou totalmente o conservante sintético.

Palavras-chave: Frutas tropicais. Semiárido. Antioxidante natural. Produtos cárneos.

ABSTRACT

This study was carried out with the objective of optimizing the conditions for extracting polyphenols from umbu-cajá (*Spondias bahiensis*) bagasse by ultrasound assisted extraction, determining the phenolic profile and the antioxidant properties of the extract obtained before and after simulated *in vitro* digestion. Also, to evaluate the effect of incorporating this extract on the oxidative stability of pre-cooked goat meatballs during 10 days of refrigerated storage, checking the content of oxidation products after simulated digestion. A central composite rotational design (CCRD) was used to determine the optimum conditions for the hydroethanolic extraction of phenolic compounds from umbu-cajá bagasse, considering ethanol concentration, sonication time and substrate:solvent ratio. Of the 17 tests, the one with the highest levels of total phenolic compounds and antioxidant activity against the DPPH radical was subjected to analysis of the phenolic profile, antioxidant activity against the ABTS radical, iron reducing power, ferrous ion chelating activity and determination of bioaccessibility in the extract, as well as being assessed for its antioxidant capacity *in vitro*. The optimized phenolic extract (20 min of sonication, bagasse:solvent ratio of 1:36.8 and 55% ethanol) was applied to goat meatballs in two concentrations, EX2 being the meatball with natural extract added in a volume equivalent to 0.5 g of total extract solids/kg of product and EX4 being the meatball with natural extract added in a volume equivalent to 1.0 g of total extract solids/kg of product. Two reference treatments were prepared: control (meatball with no antioxidant added); and BHT (meatball with 0.2 g of butylated hydroxytoluene (BHT)/kg of product). The effects of the concentration of umbu-cajá extract and storage time under refrigeration (10 days) on the oxidative stability of goat meatballs were evaluated considering the parameters of moisture, pH, instrumental color, peroxide index, TBARS, carbonyl compounds. The intestinal fraction of the meatballs was evaluated for its phenolic, DPPH, ABTS, malonaldehyde and total carbonyl content. The extract showed 839.65 mg EAG of total phenolics and the antioxidant activity measured by the DPPH, ABTS and FRAP assays was 1938.0 mM Eq.T.^{100g⁻¹ dw}, 2681.1 mM Eq.T.^{100g⁻¹ dw} and 571.3 mM TE.^{100g⁻¹ dw}, respectively. The phenolic profile of the optimized extract revealed a predominance of gallic acid and quercetin. The majority of the phenolics identified showed high bioaccessibility, resulting in significant antioxidant activity in the intestinal fraction. The application of umbu-cajá bagasse extract in different concentrations had a positive effect on delaying lipid oxidation until day 10 and protein oxidation until day 5. However, the different concentrations of the extract were unable to inhibit color changes. The phenolic compounds showed high antioxidant capacity *in vitro*, as proven by the DPPH and ABTS assays, and good bioaccessibility of the phenolics. It also showed a low content of malonaldehyde and carbonyl compounds in the intestinal fraction. Therefore, the extract has a similar performance to the synthetic antioxidant used, and can partially or totally replace the synthetic preservative.

Keywords: Tropical fruits. Semi-arid region. Natural antioxidant. Meat products.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 UMBU-CAJÁ.....	15
2.2 APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS DE FRUTAS.....	15
2.3 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS	16
2.4 APLICAÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS EM PRODUTOS CÁRNEOS.....	17
2.5 BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS	19
3 MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	21
3.3 OBTENÇÃO DO BAGAÇO DE UMBU-CAJÁ E PREPARO DA AMOSTRA	22
3.4 EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM.....	23
3.5 DESENHO EXPERIMENTAL.....	24
3.6 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS.....	25
3.7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	25
3.7.1 Capacidade de Sequestrar o Radical DPPH (2,2-difenil-2-picrilhidrazil)	25
3.7.2 Capacidade de sequestrar o radical ABTS (2,2'-azino-bis-(3- etilbenzotiazolina)-6-ácido sulfônico)	26
3.7.3 Poder antioxidante redutor férrico (FRAP)	27
3.7.4 Atividade quelante do íon ferroso (AQIF)	27
3.8 APLICAÇÃO DOS EXTRATOS NA FORMULAÇÃO DE ALMÔNDEGA CAPRINA	27
3.9 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DAS ALMÔNDEGAS CAPRINAS.....	29
3.9.1 Análise de umidade e pH	29
3.9.2 Cor instrumental	29
3.10 MODELO DE DIGESTÃO IN VITRO SIMULADA	30
3.11 DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE FENÓLICOS.....	31

3.12 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DAS ALMÔNDEGAS CAPRINAS	32
3.12.1 Determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)	32
3.12.2 Determinação do índice de Peróxido	33
3.12.3 Determinação dos compostos carbonílicos totais (DNPH).....	33
3.13 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
REFERÊNCIAS	35
4 RESULTADOS	40
A APLICAÇÃO DE EXTRATO DE POLIFENÓIS DO BAGAÇO DE UMBU-CAJÁ (<i>SPONDIAS BAHIENSIS</i>) TEM EFEITO NA ESTABILIDADE DA OXIDAÇÃO LIPÍDICA E PROTEICA EM ALMÔNDEGAS CAPRINAS PRÉ-COZIDAS ANTES E APÓS DIGESTÃO <i>IN VITRO</i> SIMULADA.....	41
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	86

1 INTRODUÇÃO

O umbu-cajá (*Spondias bahiensis*) é uma fruta tropical brasileira com sabor que varia do ácido ao adocicado. Predominantemente encontrada no nordeste do Brasil, especialmente na região da Caatinga e em climas semiáridos. Essa fruta, anteriormente considerada um híbrido espontâneo entre o umbu (*Spondias tuberosa*) e o cajá (*Spondias mombin* L.), recentemente foi classificada como uma nova espécie nativa (ARAÚJO et al., 2018; SILVA et al., 2015).

A exploração do umbu-cajá é baseada no extrativismo por pequenos e médios produtores rurais, contribuindo para o agronegócio regional. Além de ser consumida *in natura*, a fruta possibilita o processamento e fabricação de novos produtos com potencial para comercialização em escala industrial, o que pode resultar no aumento da demanda nacional e internacional (LIMA et al., 2002; MACÊDO et al., 2023; MOREIRA et al., 2012).

As frutas do gênero *Spondias*, como a seriguela (*S. purpurea*), o umbu (*S. tuberosa*), o cajá (*S. mombin*) e o umbu-cajá (*S. bahiensis*), têm despertado interesse em pesquisas devido às suas notáveis propriedades antioxidantes, tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Estudos demonstraram que essas frutas possuem teores significativos de compostos bioativos, anti-inflamatórios e antimicrobianos, principalmente de polifenóis (AHMED et al., 2022; DIAS et al., 2019; DUTRA et al., 2017).

Os polifenóis são substâncias capazes de neutralizar radicais livres, prevenir reações oxidativas, inibir reações em cadeia, combater estresse oxidativo induzido e infecções, além de auxiliar na conservação de enzimas, no desenvolvimento de sabores e na preservação da integridade da membrana celular. Por esses motivos, os polifenóis têm sido utilizados como conservantes alimentares (DZAH et al., 2020; SANTANA NETO et al., 2021).

Dentre as técnicas de extração de polifenóis a partir de frutas, a extração assistida por ultrassom tem sido a técnica mais promissora dentre as demais já consolidadas. As ondas ultrassônicas facilitam a liberação e extração dos polifenóis da matéria orgânica por um curto período de tempo, a baixas temperaturas e utilizando menores proporções de solventes orgânicos, como o etanol. Nessas condições, esta metodologia verde minimiza possíveis degradações de polifenóis do extrato, aliado ainda a uma boa taxa de extração e reprodutibilidade do processo (SHARAYEI et al., 2019; ALIREZALU et al., 2020).

A aplicação de extratos naturais em produtos alimentícios também está associado à busca por uma alimentação mais saudável, por proporcionar uma ação bioativa e tecnológica ao longo do armazenamento do produto. O extrato adicionado além de oferecer ao consumidor compostos bioativos que têm efeitos positivos à saúde, ainda, auxilia no retardo das reações de

oxidação, prolongando a validade do produto final. Portanto, a aplicação desses extratos de polifenóis na fabricação de produtos cárneos, como alternativa aos conservantes alimentares sintéticos torna-se viável, podendo retardar a oxidação lipídica e proteica durante o armazenamento, dependendo da dose utilizada (ESTÉVEZ, 2021).

A crescente inovação tecnológica e a ampla demanda global por produtos à base de carne caprina exigem uma abordagem diferenciada quanto sua estabilidade oxidativa. Caracterizada por um alto teor de ácidos graxos poli-insaturados, baixo teor de gordura e colesterol, além de ser rico em proteínas e aminoácidos essenciais, a carne caprina é particularmente suscetível à oxidação. Devido à baixa estabilidade dos ácidos graxos poli-insaturados à oxidação, como também pode ser agravado pelo uso de gorduras adicionais e várias etapas de processamento (JIA; DI; SHI, 2023).

No entanto, ainda há poucos estudos que exploram o aproveitamento dos resíduos das frutas do gênero *Spondias*, especialmente do umbu-cajá, em relação à sua capacidade antioxidante, à determinação das melhores condições de extração de polifenóis e à aplicação desses extratos no processamento de produtos cárneos pré-cozidos refrigerados como antioxidantes naturais potenciais. Portanto, é necessário aprofundar a compreensão do impacto desses extratos na estabilidade oxidativa e dos produtos cárneos de fácil preparo.

Com base no exposto, objetivou-se otimizar as condições de extração de polifenóis do bagaço de umbu-cajá (*Spondias bahiensis*) por meio da extração assistida por ultrassom utilizando um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), determinar o perfil de fenólicos e as propriedades antioxidantes do extrato obtido nas melhores condições antes e após digestão simulada *in vitro* e avaliar o efeito da incorporação desse extrato nos parâmetros de qualidade e estabilidade oxidativa das almôndegas caprinas pré-cozidas durante o armazenamento refrigerado, bem como sua influência nos níveis de marcadores de oxidação lipídica e proteica, conforme avaliação por digestão simulada *in vitro*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 UMBU-CAJÁ

A busca por uma alimentação mais saudável impulsionou o comércio internacional de frutas tropicais, oriundas principalmente do Brasil, da América central e latina, de áreas asiáticas e africanas. Por suas características geográficas e climáticas favoráveis, o Brasil é um dos principais produtores mundiais de frutas tropicais, e no bioma Caatinga, possui uma imensa biodiversidade de frutas exóticas (CÁDIZ-GURREA et al., 2020).

Dentre as espécies do gênero *Spondias*, destacam-se no Brasil: cajá (*S. mombin* var. *globosa*); cajá-mirim (*S. mombin* var. *mombin*); siriguela (*S. purpurea*); cajarana (*S. testudinis*); cajá-manga (*Spondias dulcis* L. syn. *Spondias cytherea* Sonn.); e de forma endêmica: cajá redondo (*S. macrocarpa*); umbu (*S. tuberosa*); cajazinho (*S. venulosa*). Além destas, o fruto híbrido entre o umbu e a siriguela é denominado umbuguela e o umbu-cajá passou a ser considerado como espécie (BATISTA et al., 2015).

O umbu-cajá é oriundo de uma planta arbórea frutífera, nativa do semiárido nordestino. Os estudos iniciais deste fruto consideravam seu surgimento a partir do cruzamento híbrido natural entre o umbu (*Spondias tuberosa*) e o cajá (*Spondias mombin* L.). Porém, o umbu-cajá passou a ser classificado como uma nova espécie nativa brasileira (*Spondias bahiensis*). Desta forma, os estudos voltados para este fruto poderão apresentar duas nomenclaturas na literatura: *Spondias* sp. e *Spondias bahiensis* (SILVA et al., 2015; ARAÚJO et al., 2018).

A umbu-cajazeira possui baixo porte, em média 4 a 8 metros de altura, com um dossel de 6 a 12 metros de diâmetro, em formato globular e achatado. Apresenta características de planta xerófila, bastante adaptável ao Nordeste brasileiro, onde predomina a vegetação da Caatinga e clima semiárido. Também pode ocorrer na Mata Atlântica, muitas vezes a partir de propagação espontânea (SANTOS et al., 2010; ARAÚJO et al., 2018).

A sua propagação pode ocorrer por via sexuada, a partir do plantio das sementes ou por via vegetativa, através de estaquia, de enxertia e de cultura do tecido. Sendo a forma de plantio mais indicada, o uso de mudas enxertadas, por apresentarem mais resistência à seca, a solos pesados ou úmidos e proporcionar uma produção mais precoce da fruta (FONSECA, 2010). Sua produção é sazonal e ocorre nos períodos mais chuvosos, variando com o local e sua respectiva distribuição de chuvas (BATISTA et al., 2015).

Os frutos são drupas que variam do formato arredondado, piriforme e ovalado, com coloração que alterna do amarelo ao verde-amarelado, alcançando à coloração amarelo-alaranjado quando maduro e apresenta casca fina e lisa. Seu endocarpo é fibroso, denso, branco

e enrugado, localizado na parte central do fruto, podendo conter ou não uma semente (SILVA et al., 2015). Possui elevado conteúdo de suco, aroma agradável e sabor agridoce, além de apresentar rendimento médio de 55 a 65 % em polpa. O que propicia a fabricação de polpa congelada, sucos, néctares, doces, compotas e sorvetes (LIMA et al., 2002).

A crescente atenção ao umbu-cajá na área de alimentos, impulsionou os estudos sobre seus parâmetros físico-químicos (Tabela 1), perfil de compostos fenólicos (Tabela 2) e capacidade antioxidante. Como também, na sua aplicação na fabricação de novos produtos alimentícios, como polpa fermentada (MACÊDO et al., 2023), cerveja artesanal adicionada de umbu-cajá (VALENTIM; FONSECA; SILVA, 2021), geleia de umbu-cajá (VIANA et al., 2015) e a utilização da farinha da casca do umbu-cajá como alternativa de antioxidante natural em fishburguer de tilápia (SILVA et al., 2014).

Tabela 1. Características do umbu-cajá frente a literatura.

PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS	¹ SANTOS et al., 2010	² MOREIRA et al., 2012	³ SILVA et al., 2015	² SOUSA et al., 2016	³ SOUSA et al., 2019
pH	2,40		2,77	1,85	1,50
a _w				0,96	0,99
Açúcares redutores (%)	4,12		7,84	6,95	2,46
Sólidos solúveis (°Brix)	10,00			9,05	8,50
Amido (%)	0,56		0,17		
Pectina (%)			0,37		
Fenólicos totais (mg EAG 100g ⁻¹)		149,07			
Flavonoides (mg 100g ⁻¹)		1,95	27,76	4,03	2,27
Carotenoides (mg 100g ⁻¹)			0,76		
Antocianinas (mg 100g ⁻¹)					0,28
Ácido ascórbico (mg 100g ⁻¹)		6,1			15,83

¹Fruta integral, ²Polpa da fruta

Tabela 2. Perfil de compostos fenólicos do umbu-cajá frente a literatura.

COMPOSTOS FENÓLICOS	DUTRA et al., 2017
Ácido protocatecuico	308,12
Ácido p-hidroxibenzóico	206,21
Ácido p-cumárico	69,93
Ácido salicílico	139,39
Ácido sinápico	111,61
Ácido siríngico	43,10
Ácido gálico	6,23
Rutina	134,60
Miricetina	93,16
Quercetina	82,39
Catequina	48,68

Legenda: Valores expressos em mg 100 g⁻¹ matéria seca para fenólicos livres na fruta umbu-cajá.

2.2 APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS DE FRUTAS

A alta demanda por frutas tropicais *in natura* e de produtos alimentícios à base destas frutas, acaba proporcionando uma maior geração de resíduos ou subprodutos de frutas, que incluem principalmente sementes, cascas e folhas. O descarte indevido destes resíduos além de poder gerar danos ambientais, pode acarretar no desperdício de fontes importantes de compostos bioativos, com comprovadas atividades promotoras de saúde (CÁDIZ-GURREA et al., 2020; EGÜÉS et al., 2021).

Há indícios que os resíduos gerados pela indústria podem variar de 20 a 60% do fruto *in natura*. Além disso, estudos têm demonstrado que as maiores proporções de nutrientes e compostos bioativos são encontradas nas cascas e nas sementes dos frutos, em comparação a polpa, podendo ser extraídos e utilizados como aditivos alimentares (GUALBERTO et al., 2021; KUMAR; SRIVASTAV; SHARANAGAT, 2021).

Os compostos bioativos, como polifenóis, carotenóides, flavonóides e antocianinas, fazem parte do metabolismo secundário vegetal e são capazes de neutralizar os radicais livres e prevenir reações oxidativas. Inibindo o início e/ou propagação das reações de cadeia, estresse oxidativo induzido, infecções e auxiliar na conservação de frações de enzimas, desenvolvimento de compostos de sabor e preservação da integridade da membrana celular (DZAH et al., 2020; SANTANA NETO et al., 2021).

A extração de polifenóis tem sido estudada em diferentes subprodutos de frutas tropicais, como os resíduos de acerola (REZENDE; NOGUEIRA; NARAIN, 2017), resíduos de goiaba (GUALBERTO et al., 2021), casca de romã (SHARAYEI et al., 2019), casca de tangerina (ANTICONA et al., 2021), bagaço de uva (ROMANINI et al., 2021), bagaço de maçã (EGÜÉS et al., 2021), resíduos do umbu (DIAS et al., 2019), cascas de seriguela (SILVA JÚNIOR et al., 2021), cascas de cajá-manga (SILVA et al., 2018) e resíduos de cajá (SANTANA NETO et al., 2022).

Como resultado, os estudos têm explorado a capacidade antioxidante dos extratos de polifenóis à base de frutas em comparação aos conservantes sintéticos comumente utilizados pela indústria. Ao utilizar esses extratos naturais na formulação de produtos alimentícios, não apenas se obtêm benefícios antioxidantes, mas também se adicionam propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias e nutricionais ao produto final (AHMED et al., 2022; DIAS et al., 2019).

A substituição total ou parcial dos conservantes sintéticos pelos extratos naturais não só representa uma abordagem ecologicamente sustentável, mas também assegura a qualidade e segurança alimentar. No entanto, é importante ressaltar que cada alimento requer um estudo de

caso específico para determinar a eficácia e a eficiência desses extratos naturais como substitutos dos conservantes sintéticos (ESTÉVEZ, 2021).

2.3 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS

A extração de polifenóis é baseada no rompimento das paredes celulares dos resíduos vegetais, que permite extrair metabólitos vegetais solúveis desejados de um material vegetal insolúvel, em que parte destes metabólitos estão unidos quimicamente a outros componentes da matriz vegetal. Neste processo, haverá o colapso da bolha produzida por cavitação, de forma a diminuir a densidade das partículas e melhorar a transferência de massa da célula para o solvente resultando na liberação dos compostos esperados (REZENDE; NOGUEIRA; NARAIN, 2017; ALIREZALU et al., 2020).

Existem vários métodos de extração disponíveis, mas a escolha criteriosa do método a ser utilizado deve-se considerar o vegetal a ser analisado, o número de extrações, tempo de extração, temperatura, tipo de solvente, razão sólido-solvente, tamanho de partícula e quais compostos desejam-se extrair. E então verificar se o rendimento da extração e seu custo de produção têm viabilidade de execução e potencial aplicabilidade, visando também a minimização de possíveis impactos ambientais (ŽIVKOVIĆ et al., 2018).

Os solventes utilizados na extração de compostos fenólicos para fins alimentícios, devem garantir a ausência de compostos tóxicos. Por isso, o uso de tecnologias emergentes e solventes verdes tem se popularizado, em especial, soluções de água e etanol tem desempenhado melhor extração das porções hidrofílicas e lipofílicas do material vegetal. O uso do etanol não promove toxicidade residual ao alimento, além de ser obtido por fontes renováveis, ao contrário do uso da acetona, metanol, clorofórmio (ABBAS et al., 2021; KUMAR; SRIVASTAV; SHARANAGAT, 2021).

Tecnologias emergentes passaram a ser empregadas para otimização do processo, promovendo menor uso de solventes e energia, menor degradação ao extrato e ao ambiente. Além de um menor tempo de extração, baixas temperaturas, maior concentração de fenólicos, melhor retorno econômico, maior rendimento e reprodução do processo de extração. Como a extração assistida por ultrassom, por campo elétrico pulsado, por fluido supercrítico, por micro-ondas e pelo uso de enzimas (SHARAYEI et al., 2019; ALIREZALU et al., 2020).

A tecnologia de extração assistida por ultrassom libera os compostos fenólicos da matriz vegetal através do mecanismo de cavitação ultrassônica. As ondas sonoras numa frequência ideal para vegetais (20 a 100 kHz), provocam a ruptura do tecido vegetal, levando à

solubilização destes fenólicos no solvente. Desta forma, uma menor razão substrato/ solvente implica numa melhor ação ultrassônica imposta a matriz do subproduto e conseqüentemente, um melhor rendimento final do extrato fenólico (KUMAR; SRIVASTAV; SHARANAGAT, 2021; YUSOFF et al., 2022).

A extração assistida por ultrassom tem sido citada como o método com maior custo benefício dentre os demais métodos difundidos, com melhor taxa de extração entre os resíduos vegetais, menor tempo de extração e conseqüentemente, menos energia empregada, técnica econômica e de fácil execução, além de não requerer instrumentos caros. O fato de não utilizar altas temperaturas, altas frequências e grande quantidade de solventes orgânicos, num largo espectro de tempo, proporciona condições que favoreçam a preservação destes compostos fenólicos (WEN et al., 2018; ALIREZALU et al., 2020).

2.4 APLICAÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS EM PRODUTOS CÁRNEOS

Produtos em que carnes são ultraprocessadas e submetidas a vários procedimentos consecutivos, como pré-cozimento, armazenamento a frio e reaquecimento, promove um ambiente pró-oxidativo intenso, expondo as proteínas e lipídios a uma série de danos oxidativos (ESTÉVEZ, 2021). Para evitar estes danos, antioxidantes sintéticos são amplamente empregados pela indústria de carnes, como por exemplo, o PG (propilgalato), TBHQ (Tert-butilhidroquinona), BHA (butil-hidroxianisol) e BHT (butil-hidroxitolueno) (ALIREZALU et al., 2020).

Em alternativas aos conservantes sintéticos, compostos fitoquímicos em subprodutos vegetais tem sido propostos para uso em produtos cárneos, pois são capazes de promover ação antioxidante e antimicrobiana (BELLUCCI et al., 2022). Porém, é imprescindível identificar a combinação do derivado cárneo alvo com a fonte vegetal apropriada de compostos bioativos, de forma a não interferir nas características sensoriais do produto, assim como nas condições de processamento. Ainda, deve ser analisada a necessidade de associar ou não, o uso de conservante sintético com o conservante natural (ESTÉVEZ, 2021).

Estudos recentes têm demonstrado que a aplicação de extratos naturais antioxidantes em produtos cárneos é capaz de prolongar sua vida de prateleira e retardar as reações de oxidação lipídica e proteica, como também de apresentar desempenho semelhante frente aos antioxidantes sintéticos. Como o uso de extrato em pó de semente de uva em nuggets de frango (CAGDAS; KUMCUOGLU, 2015); extrato de casca de toranja em almôndega caprina (NISHAD et al., 2018); extrato do bagaço do cajá em hambúrgueres de frango (SANTANA

NETO et al., 2021); extrato em pó de amora negra em hambúrguer bovino (TURAN; ŞİMŞEK, 2021); extrato em pó de açaí em hambúrgueres suínos (BELLUCCI et al., 2022); dentre outros.

As carnes e seus derivados tendem a ser bastante perecíveis pelo seu alto teor de umidade e atividade de água, pH pouco ácido e seu alto conteúdo lipídico e proteico. Ao mesmo tempo em que estes atributos o tornam um alimento sensorialmente aceitável, pode torna-lo mais susceptível a deterioração, sendo necessário um controle efetivo destes parâmetros durante sua vida de prateleira, independentemente do método de processamento, armazenamento e embalagem aplicado (KILINCCEKER; YILMAZ, 2019).

Além do controle dos padrões de identidade e qualidade de produtos cárneos, devem-se considerar outros parâmetros de deterioração, principalmente alterações decorrentes de reações de oxidação. A oxidação lipídica em músculos inicia-se nas frações de fosfolipídios como um mecanismo de cadeia autocatalítica de radical livre, de forma que os pró-oxidantes interagem com os ácidos graxos insaturados, resultando na geração de radicais livres e propagação da cadeia oxidativa (CAMPO et al., 2006).

Maiores teores de ácidos graxos poliinsaturados tornam a carne mais susceptível a oxidação devido à presença de ligações duplas, assim como ácidos graxos insaturados de cadeia longa, que resulta na geração de inúmeros produtos de degradação, como aldeídos, cetonas, álcoois, hidrocarbonetos alifáticos, ácidos e ésteres, responsáveis pelo desenvolvimento de sabores desagradáveis na carne (MANCINELLI et al., 2021). Ao final, os produtos da oxidação de ácidos graxos promovem a deterioração na forma de descoloração da carne, desenvolvimento de sabor estranho, formação de compostos tóxicos, vida útil pobre, nutrientes e perdas por gotejamento (FALOWO; FAYEMI; MUCHENJE, 2014).

A oxidação lipídica também pode ser desencadeada quando a carne e/ou produtos cárneos são submetidos a altas temperaturas em um maior espectro de tempo. Com isso, seu teor de água é reduzido e conseqüentemente, seus nutrientes ficam mais concentrados, o que acarreta na degradação de substratos e ácidos graxos insaturados. Durante o armazenamento refrigerado, a carne cozida tende a diminuir gradualmente o teor lipídico, indicando uma estreita relação entre a oxidação lipídica e o período de refrigeração (SAMPAIO, 2012).

Na reação de oxidação proteica, a modificação química das proteínas é iniciada por estresse oxidativo oriundo de espécies reativas de oxigênio e modificações de aminoácidos de cadeia lateral, resultando na formação de compostos de carbonila, degradação de triptofano, histidina, metionina e cisteína, perda de grupos sulfidril e formação de reticulação, capazes de alterar os parâmetros de qualidade da carne, como a redução do valor nutricional resultante da

degradação de aminoácidos, diminuição da digestibilidade, afetando suas propriedades de gelificação, cor e textura dos produtos cárneos (FERREIRA et al., 2018).

A intensidade da oxidação depende principalmente da composição do produto cárneo, do tipo de tratamento empregado no processamento, presença de interferentes exógenos, como polifenólicos, presença de ferro heme, O₂ e H₂O₂. O processo oxidativo torna-se irreversível quando alcança a etapa de carbonilação, que pode ser decorrente da oxidação direta de resíduos de aminoácidos, reação de glicação por meio da reação de Maillard na presença de açúcares, ligação covalente de grupos carbonila não proteicos, como produtos secundários da oxidação lipídica, principalmente (NAWAZ et al., 2022).

2.5 BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS

Ao ingerir um alimento com ampla variedade de nutrientes e compostos bioativos, não significa necessariamente ao quanto eles serão absorvidos e metabolizados pelo organismo. Alguns conceitos básicos são utilizados para esclarecer melhor este processo, como a bioacessibilidade: que trata-se da proporção do nutriente consumido que é liberado da matriz alimentar durante a digestão e está disponível para absorção pelo tecido epitelial no trato gastrointestinal; a biodisponibilidade: refere-se à proporção de um componente alimentar específico que se torna disponível após o consumo para ser usado em funções biológicas; e a bioatividade, que é quando o componente alimentar sofre absorção e assimilação pelo tecido-alvo, provocando a resposta fisiológica apropriada (AMAGLOH et al., 2023).

A partir de um consenso internacional, Mulet-Cabero et al. (2020) propuseram um modelo padronizado de digestão *in vitro* simulada por serem menos caros, menos trabalhosos, não possuírem restrições éticas, de fácil reprodutibilidade, condições controladas e fácil amostragem, tornando-se modelos muito adequados para estudos mecanicistas e construção de hipóteses, utilizados para estudar o comportamento gastrointestinal de alimentos. Atualmente bastante empregados para avaliar a bioacessibilidade de compostos fenólicos.

O modelo de digestão *in vitro* é baseado na etapa oral a partir da ingestão, gástrica e intestinal, o qual processos químicos e enzimáticos auxiliam na liberação dos compostos fenólicos das matrizes químicas dos alimentos. As fases gástrica e intestinal são áreas particularmente importantes na liberação, metabolismo e absorção de compostos fenólicos, devido à extensa degradação e alterações do pH da matriz alimentar (NIGNPENSE et al., 2022).

A bioacessibilidade dos compostos fenólicos pode ser influenciada por sua interação com carboidratos, proteínas, gorduras e fibras na matriz alimentar de duas maneiras. As

ligações formadas podem proteger os compostos fenólicos da oxidação durante a digestão, ou os complexos proteína-fenol podem diminuir a bioacessibilidade dos fenólicos devido à inativação de enzimas ou precipitação de proteínas (MIHAYLOVA et al., 2021).

Enquanto a biodisponibilidade do nutriente é determinada por vários fatores, incluindo a forma físico-química do nutriente específico e a dose ingerida, a estrutura e o tipo da matriz alimentar e a interação com outros componentes do alimento, intensificadores ou inibidores da absorção, métodos de armazenamento e processamento do alimento. Apesar do mecanismo de absorção dos compostos fenólicos ainda ser pouco definida, a maior parte destes são hidrofílicos e podem ter mais fácil absorção, comparado com outros compostos (AMAGLOH et al., 2023).

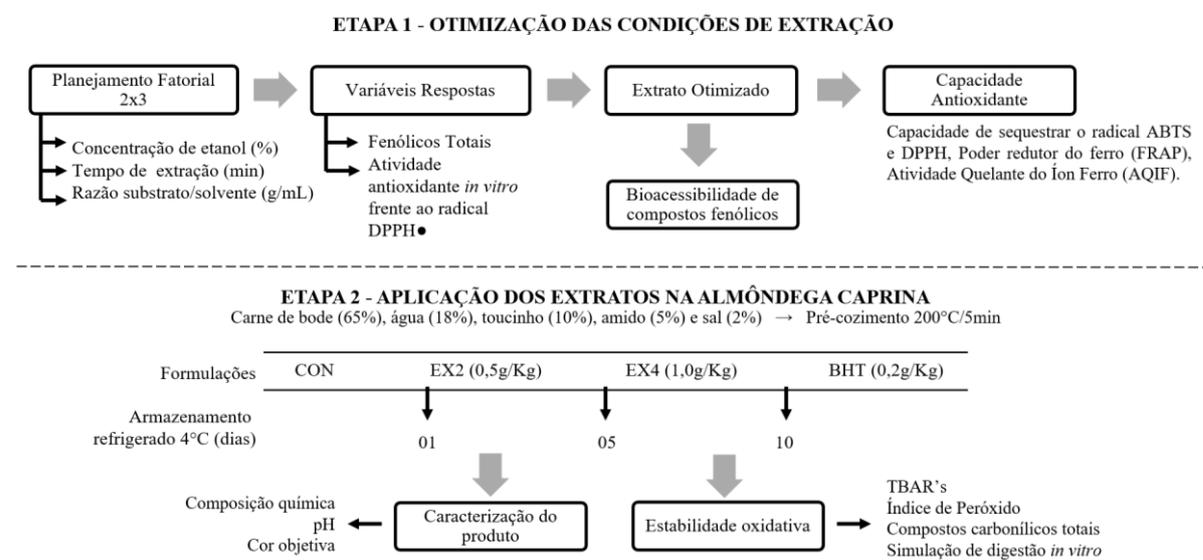
3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

A pesquisa foi realizada em duas etapas distintas (Figura 1). Na primeira fase, foi realizada a otimização das condições de extração assistida por ultrassom de polifenóis do resíduo de umbu-cajá considerando um planejamento fatorial 2x3 (Tabela 3) utilizando delineamento composto central rotacional (DCCR) com configuração estrela. O extrato do bagaço de umbu-cajá que apresentou os maiores níveis de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante frente ao radical DPPH foi submetido à análise do perfil de fenólicos, atividade antioxidante frente ao radical ABTS, poder de redução do ferro (FRAP), atividade quelante do íon ferroso e avaliação da bioacessibilidade no extrato. Além destas, após exposição em condições gastrointestinais simuladas, o extrato foi avaliado quanto a sua capacidade antioxidante *in vitro*.

Na segunda etapa, realizou-se a aplicação de diferentes concentrações do extrato otimizado na formulação de almôndegas caprinas pré-cozidas como possível conservante natural em substituição ao conservante sintético BHT. As amostras foram caracterizadas e avaliadas quanto a evolução da oxidação lipídica e proteica ao longo de 10 dias de armazenamento refrigerado (4°C) em intervalos de 5 dias. Além disso, as almôndegas também foram submetidas a digestão simulada *in vitro* no tempo 01, a fim de caracterizar a bioacessibilidade de compostos fenólicos no produto, assim como os níveis dos produtos da oxidação na fase intestinal.

Figura 1. Delineamento experimental da pesquisa



3.2 REAGENTES QUÍMICOS

Reagentes: Álcool etílico, Folin Ciocalteu, carbonato de sódio, ácido gálico, ácido clorídrico, carbonato de cálcio, acetona, DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), Trolox (6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico), álcool metanólico, ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-ácido sulfônico), persulfato de potássio, acetato de sódio trihidratado, ácido acético, TPTZ (2, 4, 6-tripiridyl-s- triazine), FeCl_3 , EDTA, FeCl_2 , ferrozina, tetraciclina, BHT (butilhidroxitolueno), hidróxido de sódio, ácido perclórico, TBA (ácido tiobarbitúrico), TEP (1.1.3.3-tetraetoxipropano), clorofórmio, tiocianato de amônio, NaCl, fosfato de sódio, TCA (ácido tricloroacético), DNPH (2,4-dinitrofenilhidrazina), acetato de etila, cloridrato de guanidina, pepsina; pancreatina e sais biliares, (+)-catequina, ácido 3,4-diidroxibenzóico, ácido vanílico e ácido fumárico; ácidos gálico, transcinâmico e siringico; ácidos ferúlico, cafeico, clorogênico e p-cumárico; quercetina, rutina, ácido elágico e D-vanilina.

3.3 OBTENÇÃO DO BAGAÇO DE UMBU-CAJÁ E PREPARO DA AMOSTRA

Os resíduos oriundos do despulpamento do umbu-cajá (cascas, sementes e polpa residual) foram coletados na indústria de polpa de frutas Polpa de Fruta Doce Jardim, Areia, Paraíba. A coleta foi realizada em triplicata, e o material foi transportado em caixa isotérmica sob refrigeração para o Laboratório de Cromatografia e Espectrometria do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Agroalimentar do Centro de Ciências Humanas Sociais e Agrárias (CCHSA), Universidade Federal da Paraíba. Os resíduos foram submetidos a secagem a 55° C durante 48 horas (CRIZEL et al., 2015) e em seguida, moídos em moinho de facas tipo Willey SL-31 (SOLAB, Piracicaba - SP), sendo posteriormente peneirados (10 mesh) e armazenados sob congelamento a -20° C até a obtenção dos extratos (Figura 2).

Figura 2. Esquema de preparo da amostra.



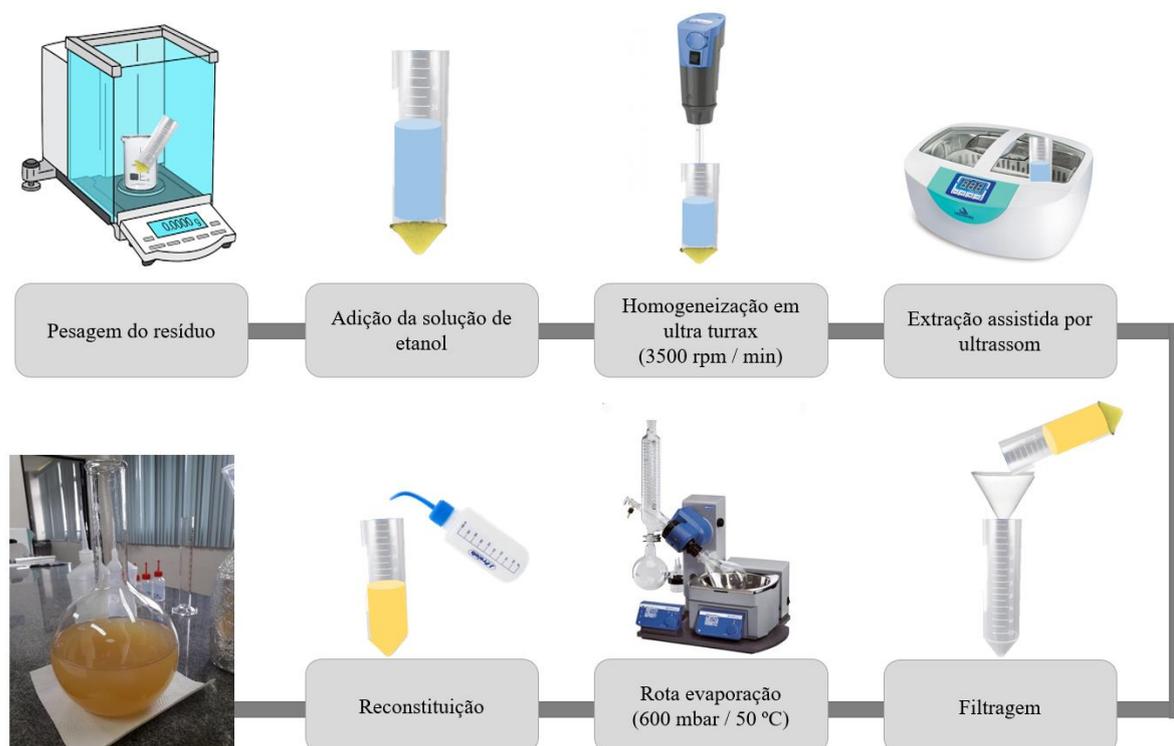
Fonte: Autoria própria.

3.4 EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM

Os extratos foram obtidos através da mistura de quantidades de resíduo vegetal e etanol (relação sólido-líquido e concentração do etanol) definidas pelo planejamento fatorial (Tabela 3) em tubos de falcon, seguidos de homogeneização em ultra turrax (IKA, T-25, Alemanha) a 3500 rpm por 1 minuto (Figura 3). Na sequência, os tubos foram imersos em banho ultrassônico (SCHUSTER, L220, Santa Maria - RS) utilizando potência de 170 W e frequência de 35 kHz durante o tempo determinado pelo planejamento (Tabela 3). Logo, o sobrenadante de cada tubo foi filtrado em papel filtro qualitativo (80 g.m⁻²).

Apenas para o extrato otimizado a ser utilizado na elaboração das almôndegas, o etanol presente no extrato foi removido em evaporador rotativo (SOLAB, SL126, São Paulo - SP), evitando-se a ebulição do extrato (600 mbar a 50 °C). O volume final do extrato foi reconstituído para o volume inicial com água destilada, e foram armazenados em recipientes âmbar a -80 °C até a realização das análises.

Figura 3. Esquema ilustrativo da extração do extrato do bagaço de umbu-cajá.



Fonte: Autoria própria.

3.5 DESENHO EXPERIMENTAL

A otimização das condições de extração assistida por ultrassom de polifenóis do resíduo de umbu-cajá foi estudada, tendo como fonte de variação do processo o tempo (X_1), concentração do solvente (X_2), e a relação soluto-solvente (X_3), utilizando a metodologia de superfície de resposta (DCCR). O planejamento experimental utilizado foi o fatorial 2^3 , com seis pontos axiais, e três repetições no ponto central, totalizando um total de 17 experimentos, sendo avaliado usando o software Statistica 7.0 (StatSoft, Tulsa, EUA). As variáveis independentes da matriz experimental do processo de otimização estão dispostas na Tabela 3.

Tabela 3. Níveis de variáveis independentes em planejamento experimental para análise de superfície de resposta

Níveis codificados	Variáveis independentes		
	Tempo de sonicação (min.)	Concentração de etanol (%)	Relação soluto-solvente (g/mL)
	X_1	X_2	X_3
$-\alpha^*$	3.2	21.4	1:3.2
-1	10	35	1:10
0	20	55	1:20
1	30	75	1:30
$+\alpha^*$	36.8	88.6	1:36.8

* $\alpha = 1,68$

A influência das três variáveis independentes (X_1 , X_2 , X_3) foi avaliada analisando o conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante frente ao radical DPPH'. Os dados experimentais obtidos para as 17 execuções experimentais foram ajustados ao seguinte modelo polinomial de segunda ordem (Equação 1):

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_i^2 + \sum \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon_0 \quad (Eq. 1)$$

Onde Y = variável resposta, β_0 = constante, β_i = coeficiente linear dos efeitos, β_{ii} = coeficiente quadrático dos efeitos, β_{ij} = coeficiente da interação entre os efeitos, X_i e X_j = aos níveis codificados das variáveis independentes (X_1 , X_2 e X_3).

Para a determinação das condições ótimas do processo de extração as variáveis respostas foram avaliadas quanto a sua função desejabilidade. Para validação da condição ótima, foi

realiza uma nova extração, e o mesmo foi caracterizado, e submetido às análises complementares de atividade antioxidante frente ao radical ABTS, poder de redução do ferro (FRAP), atividade quelante do íon ferroso (AQIF), perfil de fenólicos e na determinação da bioacessibilidade de compostos fenólicos no extrato do bagaço de umbu-cajá após exposição em condições gastrointestinais simuladas.

3.6 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

O método utilizado para caracterização dos compostos fenólicos totais seguiu o protocolo descrito por Waterhouse (2002) com modificações.

Tabela 4. Volume de alíquotas utilizadas na análise de compostos fenólicos totais.

	ALÍQUOTA UTILIZADA	
	Amostra	Fração intestinal
Extrato otimizado	50 µL	100 µL
Almôndega	30 µL	100 µL

Foi adicionado 150 µL de Folin Ciocalteau (2 M), submetidos a agitação e repouso por 5 minutos protegidos de luz. Em seguida, foi adicionado 350 µL de carbonato de sódio 20% e a mistura foi submetida a agitação e incubados em banho-maria a 40 °C por 30 minutos, seguidos de leitura em espectrofotômetro UV-VIS a 765 nm (UV-VIS 5100, Labnova, Santo André, Brasil), contra um branco contendo todos os reagentes menos a amostra. Os resultados foram calculados com o auxílio de uma curva padrão de ácido gálico (2,5; 7,5; 12,5; 17,5; 22,5 e 27,5 µg) e os resultados expressos em mg EAG (Equivalente de Ácido Gálico)/100 g de resíduo seco para a otimização e no extrato otimizado, em µg EAG/mL.

3.7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

3.7.1 Capacidade de Sequestrar o Radical DPPH (2,2-difenil-2-picrilhidrazil)

Para o ensaio de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) foi utilizado uma adaptação do protocolo de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995).

Tabela 5. Volume de alíquotas utilizadas na análise de DPPH.

	ALÍQUOTA UTILIZADA	
	Amostra	Fração intestinal
Extrato otimizado	50 µL	*2,7 µL
Almôndega	30 µL	*2,7 µL

*Equivalente de volume de amostra presente na diluição utilizada.

Foi adicionado 3,4 mL do radical DPPH (solução de DPPH 60 μM em álcool metanólico) as amostras, com posterior agitação e reservado em local escuro por 30 min para reação. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV-VIS a 515 nm (UV-VIS 5100, Labnova, Santo André, Brasil), contra um branco de álcool metanólico. Uma curva padrão de trolox (0,0; 3,0; 5,0; 10,0; 20,0 e 30,0 μM) foi utilizada para calcular a capacidade antioxidante e os resultados foram expressos em mM de Equivalente Trolox.100 g^{-1} do resíduo seco na otimização, enquanto no extrato otimizado e nas frações intestinais, em μM EQ trolox/mL.

3.7.2 Capacidade de sequestrar o radical ABTS (2,2'-azino-bis-(3- etilbenzotiazolina)-6-ácido sulfônico)

O ensaio de ABTS (2,2'-azino-bis-(3- etilbenzotiazolina)-6-ácido sulfônico) foi realizado a partir da adaptação de Rufino et al. (2007). Foi-se necessário a preparação prévia de uma solução estoque aquosa de ABTS a 7 mM, uma solução aquosa de persulfato de potássio a 140 mM e uma terceira solução, a qual se trata da junção de 5 mL da solução estoque ABTS com 88 μL da solução de persulfato de potássio. Esta última, foi armazenada em ambiente escuro e temperatura ambiente, respeitando o intervalo de 12 a 16 horas antes da sua aplicação na análise. Em seguida, foi utilizado 1 mL desta solução diluindo-se em 70 mL de álcool etílico e verificado se o radical ABTS^+ obedecia ao intervalo de absorbância de 0,700 a 0,800 no comprimento de onda de 734 nm, para então utilizar no ensaio experimental.

Tabela 6. Volume de alíquotas utilizadas na análise de ABTS.

ALÍQUOTA UTILIZADA		
	Amostra	Fração intestinal
Extrato otimizado	*17 μL	*2,7 μL
Almôndega	30 μL	*2,7 μL

*Equivalente de volume de amostra presente na diluição utilizada.

Foi adicionado as amostras 3 mL do radical ABTS, homogeneizado, e reservado em local escuro por 6 min para reação. A leitura em espectrofotômetro UV-VIS (UV-VIS 5100, Labnova, Santo André, Brasil) foi realizada a 734 nm, contra um branco de álcool etílico, utilizando uma curva padrão de trolox (0,0; 0,25; 0,5; 1,0; 1,25; 1,5 e 2,0 μM) para calcular a capacidade de eliminação de radicais livres. Os resultados foram expressos em μM EQ trolox/mL de extrato.

3.7.3 Poder antioxidante redutor férrico (FRAP)

O poder antioxidante redutor férrico (FRAP) foi realizado a partir da adaptação de Benzie e Strain (1996). O reagente FRAP foi preparado a partir da mistura de tampão acetato 300 mM com pH 3,6 (acetato de sódio trihidratado, ácido acético e água ultrapura) e uma solução de TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina) 10 mM em HCl 40 mM e 20 mM de FeCl₃. O reagente foi preparado na razão de 10:1:1 (v:v:v), respectivamente e utilizado no mesmo dia, conforme método. Foi utilizado 50 µL do extrato adicionado de 3300 µL de solução FRAP, homogeneização e leitura imediata em espectrofotômetro UV-VIS a 593 nm. Em seguida, as amostras foram reservadas em local escuro por 30 min para reação e lidas imediatamente após este tempo. Utilizou-se as leituras no tempo 0 e 30 de reação das amostras, considerando a curva padrão de trolox (3,0; 9,0; 15,0; 21,0 e 27,0 µM) e os resultados foram expressos em µM EQ trolox/mL de extrato.

3.7.4 Atividade quelante do íon ferroso (AQIF)

A atividade quelante do íon ferroso (AQIF) foi desenvolvida a partir da adaptação do método de Stookey (1970), considerando que todas as soluções sejam preparadas com água ultrapura e que as vidrarias não possuam resíduos do íon ferro. Foi utilizada a diluição de 800 µL da amostra em 420 µL de etanol, adição de 75 µL de FeCl₂ 2 mM e posterior leitura em espectrofotômetro UV-VIS em 562nm. Após, adição de 150 µL de ferrozina 5 mM, agitação, repouso em local escuro por 10 min e a realização de uma nova leitura. Para o controle positivo foi utilizado o mesmo procedimento, substituindo apenas o volume da amostra por EDTA 50 µM. Os resultados foram expressos por porcentagem de atividade quelante do íon ferroso.

3.8 APLICAÇÃO DOS EXTRATOS NA FORMULAÇÃO DE ALMÔNDEGA CAPRINA

As almôndegas foram elaboradas utilizando carne de paleta caprina, obtida de caprinos machos da raça Boer, com idade ao abate de aproximadamente 6 meses. As paletas foram desossadas manualmente e armazenadas em embalagens plásticas sob congelamento a -20 °C até a fabricação.

Para o processamento, foi utilizada uma formulação base constituída por carne de paleta (65%), água gelada (18%), toucinho (10%), amido de milho (5%) e NaCl (2%), considerando os quatro tratamentos desenvolvidos: controle (almôndega sem adição de antioxidante); EX2 (almôndega com extrato natural adicionado de volume equivalente a 0,5 g de sólidos totais do extrato/kg de produto); EX4 (almôndega com extrato natural adicionado de volume equivalente

a 1,0 g sólidos totais do extrato/kg de produto) e BHT (almôndega adicionada de 0,2 g de butilhidroxitolueno (BHT)/kg do produto), conforme apresentado na Tabela 7.

Tabela 7. Formulações das almôndegas caprinas por batelada.

MATÉRIA-PRIMA	TRATAMENTOS			
	CON	EX2	EX4	BHT
Carne de paleta caprina	65%	65%	65%	65%
Água gelada	18%	11%	4,0%	18%
Toucinho	10%	10%	10%	10%
Amido de milho	5,0%	5,0%	5,0%	5,0%
NaCl	2,0%	2,0%	2,0%	2,0%
<i>Extrato de resíduo de umbu-cajá</i>	-	7,0%	14%	-
<i>BHT</i>	-	-	-	0,02%

CON: almôndega sem adição de antioxidante; EX2: almôndega com extrato natural adicionado de volume equivalente a 0,5 g de sólidos totais do extrato/kg de produto; EX4: almôndega com extrato natural adicionado de volume equivalente a 1,0 g sólidos totais do extrato/kg de produto; BHT: almôndega adicionada de 0,2 g de BHT/kg do produto; BHT: conservante sintético butilhidroxitolueno.

Para obtenção da massa cárnea, a moagem da carne caprina e do toucinho foi realizada (Moedor Bernar® BM 147 boca 22) utilizando disco de 8 mm, sendo posteriormente homogeneizadas com sal (NaCl), água gelada e por último, o amido de milho. Os produtos que requeriam a adição do extrato do bagaço de umbu-cajá, estes foram adicionados substituindo-se parte do volume de água da formulação total, enquanto ao tratamento que foi empregado o BHT em pó, este foi misturado junto com o amido de milho.

Na sequência, a massa cárnea foi pesada em pequenas frações de 20 g e moldadas manualmente em formato arredondado. As almôndegas foram submetidas a pré-cozimento em fritadeira elétrica tipo Air Fryer (Mondial® - New Pratic AF-31, China), com 1500 W, a 200 °C por 5 min, e temperatura interna das almôndegas foi controlada com um auxílio de um termômetro digital tipo espeto (Clink, modelo Tp 101, China), e ao final, foram embaladas em recipiente de acrílico.

Um total de 400 almôndegas com aproximadamente 20 g foram elaboradas, sendo 100 unidades experimentais por tratamento, as quais foram produzidas em duas bateladas, totalizando quatro repetições por tratamento. As amostras foram armazenadas sob refrigeração (4 °C) e ausência de luz em incubadora BOD durante o período de 10 dias, sendo coletadas a cada 5 dias para as análises laboratoriais.

Figura 4. Fluxograma de processamento das almôndegas caprinas.



Fonte: Autoria própria.

3.9 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DAS ALMÔNDEGAS CAPRINAS

3.9.1 Análise de umidade e pH

As análises de umidade foram realizadas segundo métodos oficiais da Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2016), no Laboratório de Físico-química de Alimentos da UFPB/CCHSA. A umidade foi determinada por secagem em estufa a 105°C e calculada pelo método gravimétrico.

O pH das almôndegas foi determinado em pHmetro com eletrodo de vidro (PHS – 3E, Ionlab, Araucária – PR, Brasil) após calibração com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0, inserindo-se o eletrodo diretamente em uma solução contendo 5 g de almôndega dissolvido em 50 mL de água destilada (AOAC, 2016).

3.9.2 Cor instrumental

A mensuração da cor objetiva das almôndegas caprinas foi realizada a partir da medição da luminosidade (L^*), intensidade da cor vermelha ($+a^*$), amarela ($+b^*$), croma (C^*) e ângulo de tonalidade (h^*), com auxílio de um colorímetro digital (Konica Minolta Sensing, modelo Color Reader CR-10, Osaka, Japão), sob o sistema CIELAB. A diferença colorimétrica total (ΔE) entre as amostras foi calculada utilizando-se a equação $\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$.

3.10 MODELO DE DIGESTÃO IN VITRO SIMULADA

O procedimento de digestão *in vitro* foi realizado no Laboratório de Processos Microbianos em Alimentos da UFPB/CT de acordo com métodos padronizados internacionalmente descritos por Mulet-Cabero et al. (2020), simulando as três fases da digestão: oral, gástrica e duodenal; com seus respectivos fluidos: simulador do fluido salivar (SSF); simulador do fluido gástrico (SFG), pepsina; simulador do fluido intestinal (SFI), pancreatina e sais biliares. O experimento foi executado com o extrato do bagaço de umbu-cajá após evaporação rotativa do etanol e reconstituição em água e para as almôndegas caprinas pré-cozidas dos tratamentos EX2, EX4 e BHT no tempo 01.

Para dar início a fase oral, foram pesadas 5 gramas de cada uma das amostras, a qual apenas as almôndegas requereram simulação do processo de mastigação por meio de cortes com facas e uso de bastão de vidro, tornando o bolo pastoso e simples de deglutir. Foram adicionadas a cada amostra: 3,5 mL do simulador do fluido salivar (SSF), 25 μL CaCl_2 0,3 M e 975 μL água destilada, não sendo necessário a utilização da amilase salivar devido sua composição. Logo após, as amostras foram incubadas em Incubadora Shaker com agitador orbital e temperatura controlada a 37 °C / 90 rpm por 2 minutos.

Em seguida, foi adicionado ao bolo alimentar, 8 mL do simulador do fluido gástrico (SFG). Ao chegar no estômago, o bolo alimentar deve alcançar o pH em torno de 2,9 a 3,1, para que assim as enzimas gástricas possam ser ativadas. Desta forma, foi aferido o pH em pHmetro com eletrodo de vidro em cada repetição e conseqüentemente acidificado com alguns microlitros de HCl 6N até atingir o pH 3,0. Após este ajuste, foi adicionado 5 μL CaCl_2 0,3 M, 1,6 mL de solução de pepsina suína 2000 U / mL (0,82 g de pepsina + 8,2 mL de água destilada) e 925 μL água destilada. Posteriormente, as amostras foram incubadas em Incubadora Shaker com agitador orbital e temperatura controlada a 37 °C / 90 rpm por 2 horas.

Após esta etapa, foi adicionado ao quimo, 8,5 mL do simulador do fluido intestinal (SFI). Ao alcançar a região duodenal, o quimo deve atingir o pH em torno de 6,9 a 7,1, para que assim as enzimas intestinais possam ser ativadas. Sendo assim, foi mensurado o pH do meio e posteriormente, neutralizado com alguns microlitros de NaOH 1 N até atingir pH 7,0. Logo depois, foi adicionado 2,5 mL de solução de sais biliares 10 mM (0,015 g de sais biliares + 15 mL de água destilada), 40 μL CaCl_2 0,3 M, 5 mL de solução de pancreatina 100 U/mL (2,56 g de pancreatina + 25,6 mL de água destilada) e 3,76 mL de água destilada. Logo, as amostras foram incubadas em Incubadora Shaker com agitador orbital e temperatura controlada a 37 °C / 90 rpm por 2 horas.

Ao final, foram coletadas o conteúdo total de cada amostra, submetidas a centrifugação a 1073 G / 10 minutos a 4 °C e filtrado com papel filtro qualitativo, totalizando em média 35 mL da fração intestinal. A partir deste experimento, as frações intestinais referente ao extrato de umbu-cajá e almôndegas foram submetidas as análises de fenólicos totais, capacidade de sequestrar o radical DPPH e capacidade de sequestrar o radical ABTS. Apenas as frações referentes ao extrato foram submetidas a determinação do perfil de fenólicos e, somente as frações intestinais das almôndegas foram avaliadas também quanto aos teores das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) e compostos carbonílicos totais. Todos os resultados obtidos foram comparados com os resultados das frações não digeridas.

3.11 DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE FENÓLICOS

Para o preparo das amostras, foi utilizada a metodologia de Wu et al. (2008) com modificações. Aproximadamente 10 mL do extrato de umbu-cajá obtido nas condições otimizadas foi rota-evaporado (600 mbar/50 °C) para remoção do etanol, sendo este volume reconstituído com água destilada. Nos extratos submetidos à digestão *in vitro*, 10 mL da fração intestinal foi homogeneizada com 10 mL de metanol 80% em vórtex por 2 minutos. Posteriormente, a mistura foi submetida a rota-evaporação (600 mbar/50 °C) até atingir um volume de 10 mL.

Para as almôndegas, 1 g de cada tratamento foi adicionado de 10 mL de metanol 80%, e a mistura foi homogeneizada utilizando a banho ultrassônico (10 min) e vórtex (2 min). Em seguida, a mistura foi centrifugada a 3000 RPM por 10 minutos a 4 °C, com posterior evaporação rotativa a uma pressão de 600 mbar e 50 °C até atingir um volume próximo de 2 mL. A fração intestinal (10 mL) das almôndegas submetidas à digestão *in vitro* foi homogeneizada por 2 min em vórtex com 10 mL de metanol 80%. Posteriormente, o metanol foi rota-evaporado a uma pressão de 600 mbar e 50 °C. Todos os homogenatos foram liofilizados e reconstituídos em 2 mL de metanol 30%, seguido de filtração e acondicionamento em vial opaco até o momento da análise.

A análise de compostos fenólicos foi realizada usando um sistema Sykam HPLC-DAD (Sykam, Alemanha) com um sistema de bomba quaternária S 1125, injetor de amostra S 5250, detector UV/Vis S 3245 e um forno de coluna S 4120. A coluna era uma ReproSil 100 C18 (150 x 4,6 mm ID, tamanho de partícula de 5 µm; Dr. Maisch, Tuebingen, Alemanha), eluída a 0,8 mL.min⁻¹ com solvente A (solução de ácido fosfórico 0,1 M com pH = 2,0) e solvente B (metanol acidificado com ácido fosfórico a 0,5%), de acordo com o seguinte programa: 5% de

solvente B por 5 min, depois um gradiente linear de 5% a 23% B por 9 min, seguido de um gradiente linear de 23% a 50% de B por 16 min e 80% de B por 10 min.

A temperatura do forno da coluna foi fixada em 35°C. Compostos fenólicos foram detectados em 220 nm para (+)-catequina, ácido 3,4-diidroxibenzóico, ácido vanílico e ácido fumárico; 280 nm para os ácidos gálico, transcinâmico e siringico; 320 nm para os ácidos ferúlico, cafeico, clorogênico e p-cumárico; 360 nm para quercetina, rutina, ácido elágico e D-vanilina. A coleta e o processamento dos dados foram realizados usando o software Clarity Chromatography v8.2 (DataApex Ltd., Praga, República Tcheca).

Para avaliar a bioacessibilidade destes compostos fenólicos, foi considerada a equação 3 utilizada por Dantas et al. (2023):

$$\text{Bioacessibilidade (\%)} = (\text{teor da fração digerida} / \text{teor da fração não digerida}) \times 100 \quad (\text{Eq. 3})$$

3.12 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DAS ALMÔNDEGAS CAPRINAS

3.12.1 Determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A determinação do valor de TBARS nas almôndegas elaboradas foi realizada através da quantificação da concentração de malonaldeído (MDA), com o auxílio do método proposto por Ganhão, Morcuende e Estévez (2011). Estas substâncias reativas foram extraídas das almôndegas e das frações intestinais (2,5 g) em condições ácidas a partir do uso de 7,5 mL de ácido perclórico 3,86% e 0,25 mL de BHT 4,2% (em álcool etílico) em tubos de falcon, mantidos em gelo. As amostras foram homogeneizadas em ultra turrax a 3500 rpm / min para potencializar esta extração e em seguida, filtradas em papel filtro qualitativo (80 g.m-2) e o volume filtrado foi completado para 10 mL com água destilada. Em seguida, foi empregado 2 mL do filtrado obtido e 2 mL de TBA em tubos de ensaio e levados para banho maria a 100 °C por 30 min. Os tubos foram resfriados em temperatura ambiente e as amostras foram lidas em espectrofotômetro UV-VIS a 532 nm. Uma curva padrão de 1.1.3.3-tetraetoxipropano (TEP) foi utilizada para determinar o teor de MDA das amostras, a qual o resultado foi expresso em mg de MDA / kg de amostra.

3.12.2 Determinação do índice de Peróxido

O índice de peróxido foi determinado de acordo com o método adaptado do IDF (1991), Semb (2012) e Mehta, Darji, Aparnathi (2015). Inicialmente, a amostra (5 g) foi homogeneizada em ultra turrax a 3500 rpm / 3 min em 40 mL de solução clorofórmio:metanol (2:1) e filtrada em papel filtro qualitativo (80 g.m⁻²). O extrato foi armazenado sob congelamento e protegido da luz até o momento da análise. Em seguida, uma alíquota de 5 mL do extrato foi retirada e submetida à secagem em estufa a 105 °C para medição do teor de gordura. Posteriormente, uma alíquota de 2,5 mL do extrato lipídico foi homogeneizada com 2,5 mL da solução de clorofórmio:metanol e 25 µL de tiocianato de amônio (30%) em vórtex por 5 segundos. Logo após, adicionou-se 25 µL de cloreto ferroso (FeCl₂.4H₂O 0,02M em HCl 3,7%) e a mistura foi agitada em vórtex por 5 segundos. O homogenato foi incubado por 5 minutos em ambiente escuro e procedeu-se com a leitura da absorbância a 500 nm contra um branco contendo todos os reagentes menos a amostra. Os resultados foram expressos em mmol de O₂ / kg de amostra.

3.12.3 Determinação dos compostos carbonílicos totais (DNPH)

A avaliação da oxidação proteica nas almôndegas foi realizada com base na metodologia de Oliver et al. (1987), após derivatização com 2,4 dinitrofenilhidrazina (DNPH). Inicialmente, as almôndegas e suas respectivas frações intestinais (1 g) foram homogeneizada em ultra turrax a 3000 rpm / 30 seg em 10 mL de solução salina (NaCl 0,6 N e tampão fosfato de sódio 20 mM em pH 6,5), imersos em gelo. Em eppendorf distintos, foi utilizado 150 µL como alíquota, a fim de quantificar o teor de carbonílicos e a concentração de proteínas. Para as duas situações, foi empregado 1 mL de TCA 10% para promover a precipitação ácida das proteínas, agitado em vórtex por alguns segundos e centrifugado a 10000 rpm / 10 min a 4 °C. Toda a fração líquida foi dispensada, mantendo o precipitado íntegro.

Os tubos destinados para a quantificação de proteínas foram adicionados 1 mL de HCl 2N, enquanto para a quantificação de carbonílicos, foi adicionado de 1 mL de solução HCl 2N + DNPH 0,2%. Logo após, foram submetidas a agitação até desmonte das pastilhas, seguida de descanso por 1 hora em temperatura ambiente. Novamente, as proteínas foram expostas a precipitação com 1 mL de TCA 10% e centrifugadas a 10000 rpm por 10 min a 4 °C. As amostras passaram ainda por três lavagens com solução etanol/acetato de etila (1:1) seguidas de centrifugações a 10000 rpm por 5 min, entre cada lavagem. Ao final, foram retiradas as frações líquidas e evaporadas a por meio da aplicação de gás nitrogênio com pressão, garantido a integridade das pastilhas.

As proteínas precipitadas foram redissolvidas em 1,5 mL de tampão Na₃PO₄ 20 mM, pH 6,5, adicionado de cloridrato de guanidina 6 M. A concentração de proteínas das amostras foi calculada a partir da leitura das absorvâncias a 280 nm com utilizando uma curva padrão de albumina. A quantidade de compostos carbonílicos foi expressa em nanomoles de carbonílicos por mg de proteína, usando um coeficiente de extinção molar de hidrazonas (21,0 nM⁻¹ cm⁻¹) com leituras da absorvância a 370 nm.

3.13 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados do planejamento fatorial para otimização do extrato do resíduo de umbu- cajá foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e foram geradas superfícies de resposta a partir dos coeficientes de regressão, utilizando o software Statistica, versão 7.0 (STATSOFT, 2204). Os efeitos das variáveis independentes foram ranqueados e a função desejabilidade foi utilizado para determinar a melhor condição para a obtenção do extrato de resíduo de umbu- cajá com maior potencial antioxidante. A validação do modelo matemático gerado foi feita a partir da repetição do experimento nas condições ótimas indicadas pela função desejabilidade e os resultados obtidos foram submetidos a um teste-t para comparação com os valores preditos, considerando-se uma significância de 95%. Os resultados das análises feitas nas almôndegas foram avaliados também pela ANOVA e o teste de Tukey foi utilizado para avaliar a diferença entre as médias dos tratamentos. As relações entre os parâmetros estudados foram avaliadas por análise de componentes principais.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, M. et al. Optimization of ultrasound-assisted, microwave-assisted and Soxhlet extraction of bioactive compounds from *Lagenaria siceraria*: A comparative analysis. **Bioresource Technology Reports**, v. 15, p. 100746, 2021.
- AHMED, T. et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic content & antioxidant activity of hog plum (*Spondias pinnata* L. f. *kurz*) pulp by response surface methodology. **Heliyon**, v. 8, n. 10, p. e11109, 2022.
- ALIREZALU, K. et al. Phytochemical constituents, advanced extraction technologies and techno-functional properties of selected Mediterranean plants for use in meat products. A comprehensive review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 100, p. 292–306, 2020.
- AMAGLOH, F. C. et al. Cooking sweetpotato roots increases the in vitro bioaccessibility of phytochemicals and antioxidant activities, but not vitamin C. **Journal of Functional Foods**, v. 102, p. 105453, 2023.
- ANTICONA, M. et al. Effects of ultrasound-assisted extraction on physicochemical properties, bioactive compounds, and antioxidant capacity for the valorization of hybrid Mandarin peels. **Food Bioscience**, v. 42, p. 101185, 2021.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analyses of AOAC International**, 20 ed. Maryland: AOAC, 2016.
- ARAÚJO, R. R. DE; SANTOS, E. D.; FARIAS, D. B. S.; LEMOS, E. E. P.; ALVES, R. E. Espécies Alimentícias Nativas da Região Nordeste - *Spondias bahiensis*: umbu-cajá. In: CORADIN, L.; CAMILLO, J.; PAREYN, F. G. C. (Eds.). **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região Nordeste**. [s.l.] MMA, p. 279–286, 2018.
- BATISTA, F. R. C. et al. **O umbuzeiro e o semiárido brasileiro**. Campina Grande: INSA, 2015. 72p.
- BELLUCCI, E. R. B. et al., 2022. Açaí extract powder as natural antioxidant on pork patties during the refrigerated storage. **Meat Science**, v. 184, p. 108667, 2022.
- BENZIE, I.F.F.; STRAIN, J.J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v.239, p.70-76, 1996.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT- Food Science and Technology**, v. 281, n. 1, p. 25-30, 1995.
- CÁDIZ-GURREA, M. L. et al. Revalorization of bioactive compounds from tropical fruit by-products and industrial applications by means of sustainable approaches. **Food Research International**, v. 138, p. 109786, 2020.
- CAGDAS, E.; KUMCUOGLU, S. Effect of grape seed powder on oxidative stability of precooked chicken nuggets during frozen storage. **J Food Sci Technol**, v. 52, n. 5, p. 2918–2925, 2015.
- CAMPO, M. M. et al. Flavour perception of oxidation in beef. **Meat Science**, v. 72, p. 303–311, 2006.

CRIZEL, T. M. et al. Effects of Orange by product fiber incorporation on the functional and technological properties of pasta. **Food Science and Technology**, v. 35, n. 3, p. 546-551, 2015.

DANTAS, A. M. et al. Gastrointestinal digestion assays for evaluating the bioaccessibility of phenolic compounds in fruits and their derivatives: an overview. **Food Research International**, v. 170, p. 112920, 2023.

DIAS, J. L. et al. Extraction of umbu (*Spondias tuberosa*) seed oil using CO₂, ultrasound and conventional methods: Evaluations of composition profiles and antioxidant activities. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.145, p. 10-18, 2019.

DUTRA, R. L. T. et al. Bioaccessibility and antioxidant activity of phenolic compounds in frozen pulps of Brazilian exotic fruits exposed to simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, v. 100, p. 650–657, 2017.

DZAH, C. S. et al. The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: A review. **Food Bioscience**, v.35, p. 100547, 2020.

EGÜÉS, I. et al. Optimization of Ultrasound Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Apple Pomace. **Molecules**, v. 26, p. 3783, 2021.

ESTÉVEZ, M. Critical overview of the use of plant antioxidants in the meat industry: Opportunities, innovative applications and future perspectives. **Meat Science**, v. 181, p. 108610, 2021.

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.

FERREIRA, V. C. S. et al. Role of protein oxidation in the nutritional loss and texture changes in ready-to-eat chicken patties. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 53, p. 1518–1526, 2018.

FONSECA, N. **Propagação do umbuzeiro por enxertia**. Embrapa Mandioca e Fruticultura - Circular Técnica, 2010.

GANHÃO, R., ESTÉVEZ, M., MORCUENDE, D. Suitability of the TBA method for assessing lipid oxidation in meat system with added phenolic-rich material. **Food Chemistry**, v. 126, p. 772–778, 2011.

GUALBERTO, N. C. et al. Bioactive compounds and antioxidant activities in the agro-industrial residues of acerola (*Malpighiaemarginata* L.), guava (*Psidiumguajava* L.), genipap (*Genipa americana* L.) and umbu (*Spondias tuberosa* L.) fruits assisted by ultrasonic or shaker extraction. **Food Research International**, v. 147, p. 110538, 2021.

IDF. International Dairy Federation. Anhydrous Fat, Determination of Peroxide Value. **IDF Standard 74A**; IDF: Brussels, Belgium, 1991.

JIA, W.; DI, C.; SHI, L. Applications of lipidomics in goat meat products: Biomarkers, structure, nutrition interface and future perspectives. **Journal of Proteomics**, v. 270, p. 104753, 2023.

KILINCCEKER, O.; YILMAZ, M. T. Physicochemical, technological and sensory properties of chicken meatballs processed with dietary fibers. **J Hellenic Vet Med Soc**, v.70, n.2, p.1525-1532, 2019.

KUMAR, K.; SRIVASTAV, S.; SHARANAGAT, V. S. Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. **Ultrasonics – Sonochemistry**, v. 70, p. 105325, 2021.

LIMA, E. D. P. A. et al. Caracterização física e química dos frutos da umbu-cajazeira (*Spondias spp*) em cinco estádios de maturação, da polpa congelada e néctar. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 24, n. 2, p. 338-343, 2002.

MACÊDO, E. L. C. et al. Effects of yeast fermented soursop and umbu-caja ´ pulps on the colonic microbiota of middle-aged hypertensive adults. **Food Bioscience**, v. 51, p. 102309, 2023.

MANCINELLI, A. C. et al. Fatty acid profile, oxidative status, and content of volatile organic compounds in rawand cooked meat of different chicken strains. **Poultry Science**, v. 100, p. 1273-1282, 2021.

MEHTA, B. M.; DARJI, V. B.; APARNATHI, K. D. Comparison of five analytical methods for the determination of peroxide value in oxidized ghee. **Food Chemistry**, v. 185, p. 449-453, 2015.

MIHAYLOVA, D. et al. Impact of In Vitro Gastrointestinal Digestion on the Bioaccessibility of Phytochemical Compounds from Eight Fruit Juices. **Molecules**, v. 26, n. 4, p.1187., 2021.

MOREIRA, A. C. C. G. et al. Fitoquímicos bioativos em frutos de genótipos de cajá-umbuzeiras. **Alim. Nutr.**, v. 23, n. 2, p. 235-241, 2012.

MULET-CABERO, A. I. et al. A standardised semi-dynamic in vitro digestion method suitable for food– an international consensus. **Food Funct.**, v. 11, p. 1702–1720, 2020.

NAWAZ, A. et al. Protein oxidation in muscle-based products: Effects on physicochemical properties, quality concerns, and challenges to food industry. **Food Research International**, v. 157, p.111322, 2022.

NIGNPENSE, B. E. et al. The impact of simulated gastrointestinal digestion on the bioaccessibility and antioxidant activity of purple rice phenolic compounds. **Food Bioscience**, v. 47, p. 101706, 2022.

NISHAD, J. et al. Synergistic effects of nutmeg and citrus peel extracts in imparting oxidative stability in meat balls. **Food Research International**, v. 106, p.1026-1036, 2018.

OLIVER, C. N., AHN, B. W., MOERMAN, E.J., GOLDSTEIN, S., STADTMAN, E. R. Age-related changes in oxidized proteins. **Journal of Biological Chemistry**, v. 262, n. 12, p. 5488-5491, 1987.

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

- ROMANINI, E. B. et al. Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from BRS Violet grape pomace followed by alginate-Ca²⁺ encapsulation. **Food Chemistry**, v. 338, p. 128101, 2021.
- RUFINO, M. S. M. et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total pela captura do radical livre ABTS^{o+}. Comunicado Técnico Embrapa, v. 128, p. 1-4, 2007.
- SAMPAIO, G. R. et al. Effect of natural antioxidant combinations on lipid oxidation in cooked chicken meat during refrigerated storage. **Food Chemistry**, v. 135, p. 1383–1390, 2012.
- SANTANA NETO, D. C. et al. Inhibition of protein and lipid oxidation in ready-to-eat chicken patties by a *Spondias mombin* L. bagasse phenolic-rich extract. **Foods**, v. 10, p. 1338, 2021.
- SANTANA NETO, D. C. et al. Solid–liquid extraction of bioactive compounds from *Spondias mombin* L. by-products: optimization and identification of phenolic profile. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 39, n. 2, p. 511–525, 2022.
- SANTOS, M. B. et al. Caracterização e qualidade de frutos de umbu-cajá (*Spondias tuberosa* x *S. Mombin*) provenientes do recôncavo sul da bahia. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 32, n. 4, p. 1089-1097, 2010.
- SEMB, T. N. Analytical Methods for Determination of the Oxidative Status in Oils. **Norwegian University of Science and Technology**, 2012. Disponível em: https://ntnuopen.ntnu.no/ntnu-xmlui/bitstream/handle/11250/245799/536470_FULLTEXT01.pdf?sequence=2&isAllowed=y. Acessado em novembro de 2020.
- SHARAYEI, P. et al. Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel. **LWT - Food Science and Technology**, v. 101, p. 342-350, 2019.
- SILVA JÚNIOR, M. E. et al. Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from ciriguela (*Spondias purpurea* L.) peel: Optimization and comparison with conventional extraction and microwave. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 14, p. 103260, 2021.
- SILVA, G. S. et al. Avaliação da qualidade e aceitação de fishburguers de tilápia processados com farinha das cascas de umbu e de umbu-cajá como provável antioxidante natural. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 08, n. 02, p. 1501-1515, 2014.
- SILVA, L. R. et al. Caracterização físico-química de frutos dos genótipos de umbu-cajazeiras oriundos da microrregião de iguatu, ce. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 9, n. 1, p. 1647-1659, 2015.
- SILVA, T. L. L. et al. Physico chemical characterization and behavior of biocompounds of caja-manga fruit (*Spondias mombin* L.). **Food Science and Technology**, v. 38, n. 3, p. 399-406, 2018.
- SOUSA, F. C. et al. Comparative Study of Fruit Bioactivity of *Spondias*. **International Journal of Advanced Engineering Research and Science**, v. 6, n. 1, p. 184-187, 2019.
- STOOKEY, L. L. Ferrozine - A new spectrophotometric reagent for iron. **Analytical Chemistry**, v. 42, n. 7, p. 779–781, 1970.
- TURAN, E.; ŞİMŞEK, A. Effects of lyophilized black mulberry water extract on lipid oxidation, metmyoglobin formation, color stability, microbial quality and sensory properties of

beef patties stored under aerobic and vacuum packaging conditions. **Meat Science**, v. 178, p. 108522, 2021.

VALENTIM, S. S.; FONSECA, A. A. O.; SILVA, S. M. P. C. Elaboração e avaliação da estabilidade de cerveja artesanal utilizando o umbu-cajá (*Spondias bahiensis*) e canela na maturação. **Diversitas Journal**, v. 6, n. 1, p. 114-136, 2021.

VIANA, E. S. et al. Desenvolvimento de geleia de umbu-cajá convencional e dietética. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 37, n. 3, p. 708-717, 2015.

WATERHOUSE, A. Determination of total phenolics. **Current protocols in food analytical chemistry**. New York: Wiley & Sons, In: Wrolstad, R.W. (ed.) 2002. p. 11.1.1 - 11.1.8.

WEN, C. et al. Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops – A review. **Ultrasonics - Sonochemistry**, v. 48, p. 538-549, 2018.

WU, C. et al. Influence of finishing systems on hydrophilic and lipophilic oxygen radical absorbance capacity (ORAC) in beef, **Meat Science**, v. 80, n. 3, 662-667, 2008.

YUSOFF, I. M. et al. A review of ultrasound-assisted extraction for plant bioactive compounds: Phenolics, flavonoids, thymols, saponins and proteins. **Food Research International**, v. 157, p. 111268, 2022.

ŽIVKOVIĆ, J. et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenolic compounds from pomegranate peel using response surface methodology. **Separation and Purification Technology**, v. 194, p. 40-47, 2018.

4 RESULTADOS

Em atendimento às normas estabelecidas pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFPB (Norma Complementar nº 03/2011), os resultados obtidos nos experimentos foram apresentados na forma de artigo.

ARTIGO I - A aplicação de extrato de polifenóis do bagaço de umbu-cajá (*Spondias bahiensis*) tem efeito na estabilidade da oxidação lipídica e proteica em almôndegas caprinas pré-cozidas antes e após digestão *in vitro* simulada

**A APLICAÇÃO DE EXTRATO DE POLIFENÓIS DO BAGAÇO DE UMBU-CAJÁ
(*SPONDIAS BAHIENSIS*) TEM EFEITO NA ESTABILIDADE DA OXIDAÇÃO
LIPÍDICA E PROTEICA EM ALMÔNDEGAS CAPRINAS PRÉ-COZIDAS ANTES E
APÓS DIGESTÃO *IN VITRO* SIMULADA**

Resumo: Este estudo teve como objetivo indicar as melhores condições de extração de polifenóis do bagaço de umbu-cajá utilizando a extração assistida por ultrassom, avaliar o perfil fenólico e as propriedades antioxidantes do extrato antes e após a digestão simulada *in vitro*, bem como testar sua incorporação em almôndegas caprinas para avaliar sua estabilidade oxidativa durante 10 dias de armazenamento refrigerado, verificando-se o teor dos produtos da oxidação após digestão simulada. Um delineamento composto central rotacional foi utilizado para determinar a concentração ideal de etanol, tempo de sonicação e relação bagaço-solvente. A resposta as variáveis abrangeram os compostos fenólicos totais, a capacidade antioxidante do extrato, o perfil de fenólicos e sua bioacessibilidade. O extrato fenólico otimizado foi aplicado em almôndegas em duas concentrações EX2 (7,0 g/ 100 g) e EX4 (13,7 g / 100 g), enquanto foram elaborados dois tratamentos referências: controle (sem antioxidante) e BHT (0,02 g / 100 g de butilhidroxitolueno). Os efeitos da concentração do extrato de umbu-cajá e tempo de armazenamento sob refrigeração na estabilidade oxidativa das almôndegas caprinas foram avaliados considerando os parâmetros de umidade, pH, cor instrumental, índice de peróxido, TBARS, compostos carbonílicos, assim como a digestão *in vitro* simulada das almôndegas. As condições ideais de extração foram identificadas como 55% de etanol, 20 min de sonicação e 1:36,8 relação bagaço-solvente (m:v). Os resultados mostraram que o extrato apresentou alta atividade antioxidante e alta bioacessibilidade de catequina (1243,75 %), galato de epicatequina (918,75 %), procianidinas B2 (915,38 %), ácido gálico (319,76 %) e procianidinas B1 (136,36 %). A adição do extrato do bagaço de umbu-cajá em diferentes concentrações teve um efeito positivo na desaceleração da oxidação lipídica até o dia 10 e da oxidação proteica até o 5º dia de armazenamento. No entanto, não apresentou resultado positivo para inibição da mudança de cor. As almôndegas apresentaram baixo teor de compostos oxidativos e alta capacidade antioxidante na fração intestinal. Portanto, o extrato apresenta desempenho similar ao antioxidante sintético empregado, podendo substituir parcial ou totalmente o conservante sintético.

Palavras-chave: *Spondias bahiensis*, compostos fenólicos, antioxidante, carne caprina, oxidação, digestão gastrointestinal *in vitro*, bioacessibilidade.

1. INTRODUÇÃO

O umbu-cajá (*Spondias bahiensis*) é uma fruta palatável originária do Brasil, com sabor doce e ácido. Encontrada principalmente no Nordeste do Brasil, no bioma Caatinga e em regiões semiáridas, o cultivo do umbu-cajá depende do extrativismo, conduzido por pequenos e médios produtores rurais. Isso demonstra um potencial significativo tanto para seu consumo *in natura* quanto para a transformação de produtos à base da fruta em proporções nacionais e internacionais (LIMA et al., 2002; MACÊDO et al., 2023; MOREIRA et al., 2012).

As frutas do gênero *Spondias* tem atraído atenção de pesquisadores devido às suas pronunciadas propriedades antioxidantes *in vitro* e *in vivo*, em grande parte atribuídas ao seu conteúdo de polifenóis (AHMED et al., 2022; DIAS et al., 2019; DUTRA et al., 2017). Além disso, considerando que as cascas e as sementes das frutas contêm maiores proporções de nutrientes e compostos bioativos, o bagaço do umbu-cajá tem potencial para extração de polifenóis, frequentemente utilizados como conservantes alimentares (ACOSTA-ESTRADA et al., 2014; GUALBERTO et al., 2021).

Dentre as técnicas de extração de polifenóis em resíduos de frutas disponíveis no mercado, a extração assistida por ultrassom apresenta os resultados satisfatórios e baixo custo de produção, além de ser uma metodologia verde. As ondas ultrassônicas facilitam a liberação e extração dos polifenóis da matéria orgânica por um curto período de tempo, a baixas temperaturas e utilizando menores proporções de solventes orgânicos, como o etanol (SHARAYEI et al., 2019; ALIREZALU et al., 2020).

A aplicação desses extratos de polifenóis na fabricação de produtos cárneos, como alternativa aos conservantes alimentares sintéticos torna-se viável, podendo retardar a oxidação lipídica e proteica durante o armazenamento, dependendo da dose utilizada. O extrato adicionado além de oferecer ao consumidor compostos bioativos que têm efeitos positivos à saúde, ainda, auxilia no retardo das reações de oxidação, prolongando a validade do produto final (MANESSIS et al., 2020; ESTÉVEZ, 2021).

No caso de produtos à base de carne caprina, considerada saudável pelo seu baixo teor de gorduras e alto teor de proteínas, estas apresentam alto teor de ácidos graxos poli-insaturados que a torna mais susceptível a oxidação (JIA; DI; SHI, 2023). Além disso, suas condições de processamento, tais como moagem, adição de sal, exposição ao oxigênio, calor, longos períodos de armazenamento, podem intensificar reações oxidativas, tanto lipídicas quanto proteicas, levando o produto a rápida deterioração, o que reforça a necessidade da adição de conservantes antioxidantes (SANTANA NETO et al., 2021; MOSTAFA; AZAB, 2022).

Porém, ainda há uma escassez de estudos que utilizam a extração assistida por ultrassom para recuperar os fenólicos do bagaço de umbu-cajá, com delineamento das condições ótimas para a extração de polifenóis, avaliação do perfil fenólico e das propriedades antioxidantes, bem como da bioacessibilidade dos compostos fenólicos do extrato do resíduo de umbu-cajá após exposição a um sistema gastrointestinal em condições simuladas. E ainda, a aplicação desses extratos no processamento de produtos cárneos pré-cozidos refrigerados como antioxidantes naturais potenciais.

Diante disso, este estudo visa otimizar as condições de extração de polifenóis assistida por ultrassom a partir do bagaço de umbu-cajá (*Spondias bahiensis*) e avaliar a bioacessibilidade de compostos fenólicos após exposição após digestão simulada *in vitro*. Como também, avaliar o efeito da inserção de diferentes níveis de extrato do umbu-cajá (*Spondias bahiensis*) nas características de qualidade, estabilidade oxidativa de almôndegas caprinas pré-cozidas durante o armazenamento refrigerado, verificando-se a bioacessibilidade dos produtos da oxidação após digestão simulada *in vitro*.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Reagentes

Foram utilizados os seguintes reagentes: etanol, Folin Ciocalteau, carbonato de sódio, ácido gálico, ácido clorídrico, carbonato de cálcio, acetona, DPPH (2,2-difenil-1 picrilhidrazil), Trolox (6-Ácido hidróxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico ácido), metanol, ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-ácido sulfônico), persulfato de potássio, acetato de sódio tri-hidratado, ácido acético, TPTZ (2,4,6-tripiridil-s triazina), FeCl₃, EDTA, FeCl₂, ferrozina, tetraciclina, BHT (butil-hidroxitolueno), hidróxido de sódio, ácido perclórico, TBA (ácido tiobarbitúrico), TEP (1.1.3.3-tetraetoxipropano), clorofórmio, tiocianato de amônio, NaCl, fosfato de sódio, TCA (ácido tricloroacético), DNPH (2,4-dinitrofenilhidrazina), acetato de etila, cloridrato de guanidina, pepsina, pancreatina, sais biliares, (+)-catequina, 3,4-dihidroxibenzóico, vanílico, fumárico, gálico, transcinâmico, siríngico, ferúlico, cafeico, elágico, Ácidos 74-clorogénico e p-cumárico, quercetina, rutina e D-vanilina.

2.2. Projeto experimental

A otimização das condições de extração assistida por ultrassom dos polifenóis do umbu-cajá foi realizada empregando um Delineamento Composto Central (CCD) para três variáveis independentes: tempo de sonicação (X₁), concentração de etanol (X₂) e relação bagaço-solvente (X₃). O desenho experimental incluiu 17 ensaios, dos quais oito fatoriais (combinações

de variáveis a -1 e +1), seis axiais (uma variável atribuída $\pm\alpha$ enquanto as outras foram fixadas em zero) e três repetições num ponto central (todas as três variáveis fixadas em zero). Os cálculos foram efetuados com Statistica v7.0 (StatSoft, Tulsa, EUA) e os resultados foram analisados pelo método de superfície de resposta (MSR). Os níveis codificados das variáveis e os seus valores reais correspondentes são documentados na tabela 1.

Tabela 1. Níveis de variáveis independentes em planejamento experimental para análise de superfície de resposta

Níveis codificados	Variáveis independentes		
	Tempo de sonicação (min.)	de Concentração de etanol (%)	de Relação soluto-solvente (g/mL)
	X_1	X_2	X_3
$-\alpha^*$	3.2	21.4	1:3.2
-1	10	35	1:10
0	20	55	1:20
1	30	75	1:30
$+\alpha^*$	36.8	88.6	1:36.8

* $\alpha = 1,68$

As variáveis dependentes (respostas) foram os compostos fenólicos totais e a capacidade antioxidante, avaliada pela atividade de eliminação do radical livre DPPH. Os dados obtidos a partir dos 17 ensaios experimentais foram ajustados ao modelo polinomial de segunda ordem subsequente (Eq. 1):

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_i^2 + \sum \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon_0 \text{ (Eq. 1)}$$

Em que Y representa a variável de resposta, β_0 é a constante, β_i é o coeficiente de efeitos de linearidade, β_{ii} é o coeficiente de efeitos quadráticos e β_{ij} é o coeficiente de interação entre efeitos. X_i e X_j representam valores reais das variáveis independentes (X_1 , X_2 , e X_3).

As condições ótimas para o processo de extração foram identificadas através da utilização do método de função da desejabilidade para as variáveis de resposta (compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante frente ao DPPH-). Para validar estas condições ótimas, o procedimento de extração foi repetido em parâmetros otimizados, e o extrato foi novamente caracterizado. Além disso, o extrato obtido nestas condições foi submetido a análises de perfil fenólico, a sua capacidade antioxidante foi avaliada utilizando os métodos FRAP, ABTS-+ e atividade quelante do íon ferroso (AQIF). Além destas, após exposição em

condições gastrointestinais simuladas, o extrato foi avaliado quanto a sua capacidade antioxidante *in vitro*.

O efeito da concentração do extrato de umbu-cajá e tempo de armazenamento sob refrigeração na estabilidade oxidativa das almôndegas caprinas pré-cozidas foram avaliados através de um delineamento inteiramente casualizado (DIC) sob um fatorial 4x3. Foram elaboradas 100 unidades experimentais por tratamento em cada tempo de armazenamento, as quais foram analisadas no dia seguinte ao processamento e aos 5 e 10 dias de armazenamento refrigerado (4°C). Além disso, as almôndegas também foram submetidas a digestão simulada *in vitro* no tempo 01, a fim de avaliar a influência dos extratos nos níveis de marcadores de oxidação lipídica e proteica, conforme avaliação por digestão simulada *in vitro*.

2.3 Coleta e preparo do resíduo de umbu-cajá

O resíduo de umbu-cajá, composto por cascas, sementes e polpa residual, foi obtido de uma indústria de polpa de frutas da cidade de Areia, Paraíba, Brasil (6°57'48''S e 35°44'54''W) após a etapa de despulpamento das frutas. Após coletado, o resíduo foi submetido a secagem de acordo com metodologia proposta por Crizel et al. (2015). Em seguida, o resíduo foi triturado em moinho de facas tipo Willey SL-31 (SOLAB, Piracicaba - SP), peneirado (10 mesh) e armazenado sob congelamento a - 20° C até a obtenção dos extratos.

2.4 Obtenção do extrato do resíduo de umbu-cajá

A obtenção do extrato, o bagaço de umbu-cajá (1 g) foi homogeneizado ultra turrax (IKA, T-25, Alemanha) a 3500 rpm por 1 minuto em solução de etanol 55% (36,8 mL). Na sequência, a mistura foi submetida a banho ultrassônico (SCHSTER, L220, Santa Maria, Rio Grande do Sul) utilizando 170 W e 35 kHz durante 20 minutos. Após o banho, a mistura foi filtrada e submetida a evaporação (SOLAB, SL126, São Paulo, São Paulo) a 600 mbar e 50 °C. O volume final do extrato foi reconstituído para o volume inicial com água destilada.

2.5 Quantificação dos compostos fenólicos totais (FT)

Os compostos fenólicos totais foram quantificados de acordo com o método descrito por Waterhouse (2002). Os resultados foram apresentados em termos de mg EAG.100 g-1 de peso seco, com cálculos utilizando uma curva padrão de ácido gálico.

2.6 Avaliação da capacidade antioxidante *in vitro*

2.6.1 Ensaio DPPH

A atividade de eliminação do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) foi mensurada de acordo com o procedimento estipulado por Brand-Williams et al. (1995). Absorvância as medições foram efetuadas num espectrofotômetro a 515 nm. Os resultados foram registados em Mmol TE .100 g⁻¹ de peso seco, utilizando uma curva padrão de Trolox (0,0 - 30,0 µM).

2.6.2 Ensaio ABTS-+

A atividade de eliminação do radical ABTS-+ (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)) foi avaliada de acordo com o método estabelecido por Rufino et al. (2007). A absorvância foi medida a 734 nm, utilizando um espectrofotômetro, e os resultados foram articulados em mmol TE.100 g⁻¹ com base numa curva padrão de Trolox (0,0 - 2,0 µM).

2.6.3 Poder antioxidante do redutor férrico (FRAP)

O ensaio FRAP foi efetuado de acordo com o procedimento introduzido por Benzie e Strain (1996). As medições da absorvância foram efetuadas a 593 nm. Uma curva padrão de Trolox (3,0 - 27,0 µM) foi utilizada para o cálculo, e os resultados foram expressos em mmol TE.100 g⁻¹ de peso seco.

2.6.4 Atividade quelante do íon ferroso

A atividade quelante de ions ferrosos foi medida de acordo com Stookey (1970). Os resultados foram os seguintes expressa em percentagem.

2.7 Elaboração das almôndegas caprinas

As almôndegas foram elaboradas utilizando carne de paleta caprina, obtida de caprinos machos da raça Boer, com idade ao abate de aproximadamente 6 meses. As paletas foram desossadas manualmente e armazenadas em embalagens plásticas sob congelamento a -20 °C até utilização.

As almôndegas caprinas foram elaboradas utilizando uma formulação base constituída por carne de paleta (65%), água gelada (18%), toucinho (10%), amido de milho (5%) e NaCl (2%). Foram elaborados quatro tratamentos: CON (almôndega controle, sem adição de antioxidante); EX2 (almôndega com extrato natural adicionado de volume equivalente a 0,5 g

de sólidos totais do extrato/kg de produto); EX4 (almôndega com extrato natural adicionado de volume equivalente a 1,0 g sólidos totais do extrato/kg de produto) e BHT (almôndega adicionada de 0,2 g de butilhidroxitololueno (BHT)/kg do produto). O extrato do bagaço de umbu-cajá foi adicionado na etapa de mistura da massa cárnea, substituindo-se parte do volume de água.

Para o preparo das almôndegas, inicialmente, foi realizada a moagem da carne e do toucinho (Moedor Bermar® BM 147 boca 22) utilizando disco de 8 mm, sendo posteriormente homogeneizadas com sal (NaCl), água gelada e por último o amido de milho. Na sequência, a massa cárnea foi pesada em pequenas frações de 20 g e moldadas manualmente em formato arredondado. As almôndegas foram submetidas a pré-cozimento em fritadeira elétrica tipo Air Fryer (Mondial® - New Pratic AF-31, China), com 1500 W, a 200 °C por 5 min, sendo embaladas em recipiente de acrílico. A temperatura interna das almôndegas foi controlada com um auxílio de um termômetro digital tipo espeto (Clink, modelo Tp 101, China). As amostras foram armazenadas sob refrigeração (4 °C) e ausência de luz durante o período de 10 dias.

2.8 Avaliação do pH e teor de umidade almôndegas caprinas

O pH das almôndegas e o teor de umidade seguiram as metodologias descritas em AOAC (2016). O pH das almôndegas foi determinado em pHmetro após calibração com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0, inserindo-se o eletrodo diretamente em uma solução contendo 5 g de almôndega dissolvido em 50 mL de água destilada. Enquanto a umidade foi determinada por secagem em estufa a 105°C e calculada pelo método gravimétrico.

2.9 Cor instrumental

A mensuração da cor objetiva das almôndegas caprinas foi realizada a partir da medição da luminosidade (L^*), intensidade da cor vermelha (a^*) e amarela (b^*), com auxílio de um colorímetro digital (Konica Minolta Sensing, modelo Color Reader CR-10, Osaka, Japão) sob o sistema CIELAB. Os parâmetros C^* e o ângulo Hue foram calculados considerando as equações 1 e 2, respectivamente.

$$C^* = [a^2 + b^2]^{1/2} \quad (\text{Eq. 1})$$

$$\hat{\text{ângulo Hue}} = \tan^{-1} (b^*/a^*) \quad (\text{Eq. 2})$$

2.10 Digestão *in vitro* simulada

O experimento foi realizado com o extrato do bagaço de umbu-cajá após evaporação rotativa do etanol e reconstituição em água e para as almôndegas caprinas pré-cozidas dos tratamentos EX2, EX4 e BHT no tempo 01.

Os ensaios de digestão *in vitro* simulada foram executados de acordo com os padrões internacionais descritos por Mulet-Cabero et al. (2020). A simulação abrangeu as três fases da digestão: oral, gástrica e duodenal, utilizando o simulador de fluido salivar (SFS), fluido gástrico (SFG), pepsina, simulador de fluido intestinal (SFI), pancreatina e sais biliares. A fração intestinal do extrato foi analisada quanto ao perfil de compostos fenólicos e à capacidade antioxidante via os métodos DPPH e ABTS. A bioacessibilidade do perfil de fenólicos foi calculada com base na concentração do composto na fase intestinal em relação à concentração inicial no extrato não digerido.

Amostras das almôndegas e de suas respectivas frações intestinais foram submetidas as análises de fenólicos totais, capacidade de sequestrar o radical DPPH e capacidade de sequestrar o radical ABTS, além das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) e compostos carbonílicos totais. Para o preparo das amostras, foi utilizado um modelo adaptado a metodologia de Wu et al. (2008), de forma que todas as amostras apresentassem peso em torno a 1 g e adicionado de 10 mL de metanol 80%.

2.11 Perfil dos compostos fenólicos

O perfil dos compostos fenólicos foi analisado segundo o método de Padilha et al. (2017), com modificações incorporadas de Dutra et al. (2018), empregando um Agilent 1260 Infinity LC System sistema de cromatografia líquida (Agilent Technologies, Santa Clara, EUA) ligados a um detetor de díodos (DAD) (modelo G1315D). Os dados foram processados utilizando o OpenLAB CDS ChemStation Edition (Agilent Technologies, Santa Clara, EUA). Para a separação dos fenólicos, foi utilizado um Coluna Zorbax Eclipse Plus RP-C18 (100 × 4,6 mm, 3,5 µm) e uma coluna de guarda Zorbax C18 (12,6 × 4,6 mm, 5 µm) (Zorbax, EUA). A temperatura do forno foi regulada para 35 °C, a injeção volume foi de 20 µL, e o extrato foi passado através de um filtro de seringa com um tamanho de poro de 0,45-µm (Millex Millipore, Barueri, Brasil). A fase móvel foi eluída a 0,8 mL.min⁻¹. O gradiente utilizado foi: 0 a 5 min: 5% B; 5-14 min: 23% B; 14-30 min: 50% B; 30-33 min 80% B. O solvente A era uma solução aquosa de ácido fosfórico a 0,52% (pH = 2,0), e o solvente B era metanol acidificado com 0,52% H₃PO₄. Foram utilizados padrões externos (ESTD) para identificação e quantificação. Todos os fenólicos quantificados apresentaram curvas de calibração com R² > 0,998. A

detecção dos compostos foi realizados em comprimentos de onda específicos para uma gama de substâncias (PADILHA et al., 2017). A pureza espectral dos picos foi avaliada pelo teste do limiar (fator de pureza > 950) para garantir que não há coeluição nos compostos mais quantificados.

2.12 Estabilidade oxidativa das almôndegas caprinas

2.12.1 Índice de peróxido

O índice de peróxido foi determinado de acordo com o método adaptado do IDF (1991), Semb (2012) e Mehta, Darji, Aparnathi (2015). A amostra foi homogeneizada em solução clorofórmio:metanol (2:1) e protegida da luz sob congelamento. Uma alíquota do extrato foi submetida à secagem em estufa a 105 °C para medição do teor de gordura. Em seguida, uma alíquota de 2,5 mL do extrato lipídico foi homogeneizada com 2,5 mL da solução de clorofórmio:metanol e 25 µL de tiocianato de amônio (30%) em vortex por 5 segundos. Logo após, adicionou-se 25 µL de cloreto ferroso ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0,02M em HCl 3,7%) e a mistura foi agitada em vórtex por 5 segundos. O homogenato foi incubado por 5 minutos em ambiente escuro e procedeu-se com a leitura da absorbância a 500 nm contra um branco contendo todos os reagentes menos a amostra. Os resultados foram expressos em mmol de O_2 / kg de amostra.

2.12.2 Determinação das substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

A determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) das almôndegas elaboradas foi realizada a partir da quantificação da concentração de malonaldeído (MDA), com o auxílio do método proposto por Ganhão, Morcuende e Estévez (2011). Uma curva padrão de tetraetoxipropano (TEP) foi utilizada para determinar o teor de MDA das amostras. O resultado foi expresso em mg de MDA / kg de amostra.

2.12.3 Quantificação dos compostos carbonílicos

A determinação dos compostos carbonílicos seguiu a metodologia descrita por Oliver et al. (1987). As amostras (1g) foram derivatizadas com solução de DNPH (0,2% DNPH em 2 N HCl) e a leitura foi realizada a 370 nm e expressa em nmol de carbonila por mg de proteína. O teor de proteína foi calculado a partir da leitura da absorbância em 280 nm usando uma curva padrão de albumina.

2.13 Análise estatística

Todas as experiências foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos em média \pm desvio-padrão. Os dados experimentais foram ajustados ao modelo proposto. Diagrama de Pareto, método de superfícies de resposta e parâmetros de desejabilidade foram gerados. Após a análise da superfície de resposta e da representação gráfica da desejabilidade das variáveis de resposta, o modelo proposto foi validado realizando novos ensaios de extração em condições ótimas. Os resultados obtidos foram comparados com as respostas estimadas utilizando o teste t de Student ($p < 0,05$). Todas as análises estatísticas do modelo foi efetuada utilizando o Software Statistica 7.0.

Os dados obtidos foram submetidos a teste de normalidade de Shapiro-Wilk e homogeneidade de Levene. Uma ANOVA de uma via foi utilizada para avaliar o efeito da incorporação dos diferentes níveis do extrato do bagaço de umbu-cajá nos parâmetros de umidade, pH e cor instrumental das almôndegas caprinas e quando foram observadas diferenças ($P < 0,05$), foi aplicado o teste de Tukey. Os efeitos do tratamento (Controle, EX2, EX4, BHT), tempo de armazenamento (1, 5 e 10 dias) e da interação entre estes fatores foram analisados através de ANOVA e o teste de Tukey foi utilizado para avaliar a diferença entre as médias dos tratamentos. Toda a análise estatística dos dados foi realizada utilizando-se o software SPSS®, versão 25.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Otimização da extração de fenólicos do bagaço de *Spondias bahiensis*

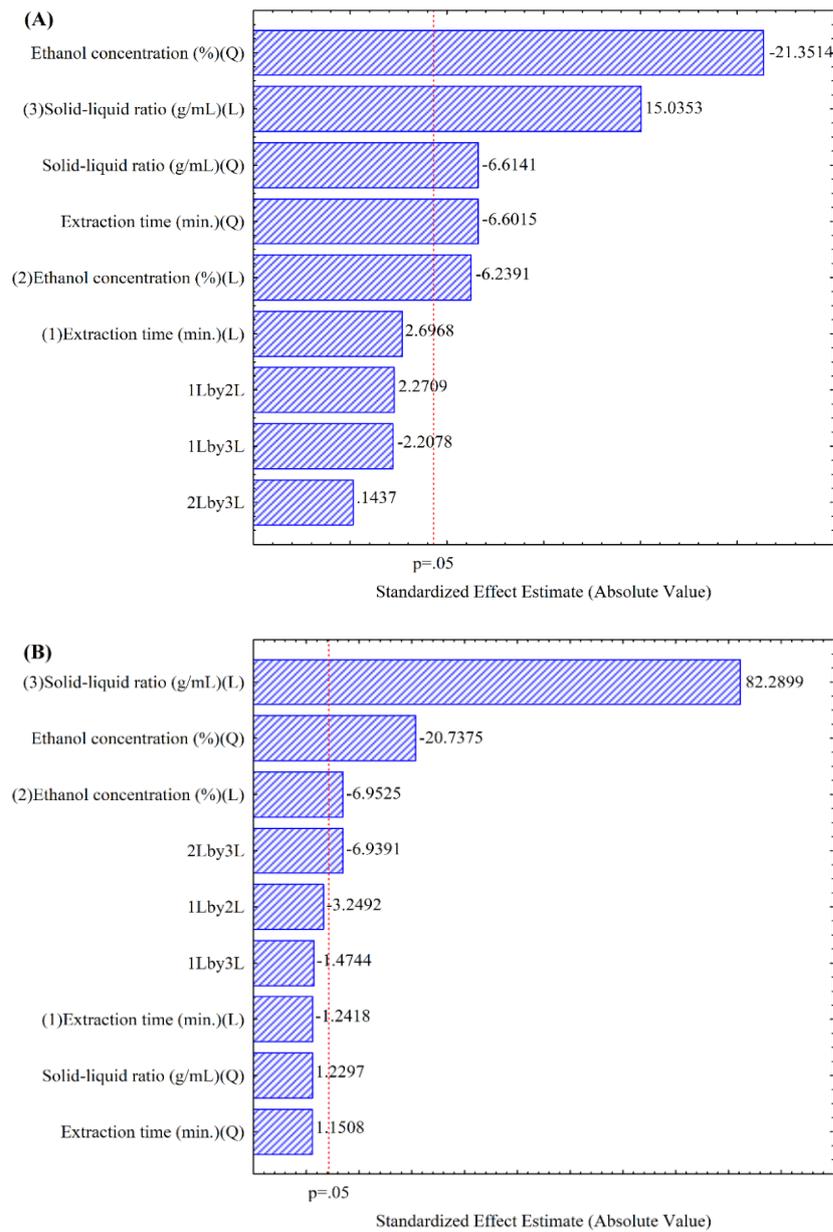
A análise dos dados experimentais de compostos fenólicos totais (FT) e capacidade antioxidante (radical DPPH•) dos extratos do bagaço de umbu-cajá revelou que tanto a concentração de etanol como a relação bagaço-solvente (g/mL) tiveram um efeito significativo ($p < 0,05$) tanto na FT como na capacidade antioxidante (Figura 1).

Para o FT, a concentração de etanol, a relação bagaço-solvente e o tempo de sonicação demonstrou um efeito quadrático negativo, enquanto que a relação bagaço-solvente mostrou um efeito linear positivo. Assim, à medida que a concentração de etanol aumenta, a recuperação de fenólicos aumenta até atingir um ponto máximo, a partir do qual começa a diminuir. Conseqüentemente, à medida que a concentração do etanol aumenta, a recuperação de fenólicos aumenta até atingir um pico. Neste ponto, começa o declínio. Em contrapartida, um aumento da razão bagaço-solvente tem um impacto negativo na recuperação eficiente dos fenólicos.

Em relação a capacidade antioxidante, a concentração de etanol demonstrou um efeito negativo (linear e quadrático), enquanto a relação bagaço-solvente apresentou um efeito linear

positivo. Adicionalmente, a interação entre o tempo de sonicação e a concentração de etanol revelou-se significativa ($p < 0,05$) para capacidade antioxidante, indicando que o efeito do tempo de sonicação na capacidade do extrato de eliminar radicais livres depende da concentração de etanol utilizada.

Figura 1. Diagrama de Pareto das variáveis de resposta: compostos fenólicos totais (A) e atividade antioxidante (B).



A extração de polifenóis do bagaço de umbu-cajá assistida por ultrassom facilitou a recuperação máxima de 878,82 mg EAG.100 g⁻¹ de peso seco, utilizando 1 g de bagaço, 36,9 mL de etanol a 55% e uma duração da sonicação de 20 minutos. Estas condições correspondem ao ensaio 14 (Tabela 2). A capacidade antioxidante também registou um pico nestas circunstâncias, atingindo 1963,02 mmol EqT .100 g⁻¹.

Tabela 2. Níveis e resultados das variáveis do planejamento do DCCR para obtenção de extrato do bagaço de *Spondias bahiensis*.

Ensaio	Variáveis independentes			Variáveis	
	X_1	X_2	X_3	Y_1	Y_2
1	10 (-1)	35 (-1)	1:10 (-1)	383,39±1,69	565,19±2,47
2	10 (-1)	35 (-1)	1:30 (+1)	465,51±16,76	1449,32±18,33
3	10 (-1)	75 (+1)	1:10 (-1)	303,93±19,74	559,99±4,32
4	10 (-1)	75 (+1)	1:30 (+1)	353,38±10,96	1341±14,76
5	30 (+1)	35 (-1)	1:10 (-1)	488,21±14,10	561,28±2,47
6	30 (+1)	35 (-1)	1:30 (+1)	463,87±6,70	1500,99±42,13
7	30 (+1)	75 (+1)	1:10 (-1)	442,83±0,56	560,12±2,46
8	30 (+1)	75 (+1)	1:30 (+1)	460,18±39,27	1199,91±14,63
9	3,2 (- α)	55 (0)	1:20 (0)	587,54±19,69	1069,99±13,54
10	36,8 (+ α)	55 (0)	1:20 (0)	511,58±2,80	1069,37±23,31
11	20 (0)	21,4 (- α)	1:20 (0)	354,41±18,03	724,29±20,96
12	20 (0)	88,6 (+ α)	1:20 (0)	193,31±20,78	657,78±6,14
13	20 (0)	55 (0)	1:3,2 (- α)	219,83±3,15	179,07±0,39
14	20 (0)	55 (0)	1:36,8 (+ α)	878,82±85,33	1963,02±32,31
15	20 (0)	55 (0)	1:20 (0)	631,64±92,94	1088,31±38,45
16	20 (0)	55 (0)	1:20 (0)	666,94±8,97	1071,74±11,05
17	20 (0)	55 (0)	1:20 (0)	672,58±24,54	1047,48±9,76

X1 - tempo de sonicação (min); X2 - concentração de etanol (%); X3 - Relação substrato-solvente (g:mL); Y1 - Compostos fenólicos totais (mgGAE.100 g⁻¹ MS); Y2 - Atividade antioxidante frente ao radical DPPH[•] (mM TE.100g⁻¹ MS).

Foram construídos modelos quadráticos para prever o FT e a capacidade antioxidante. A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para validar estes modelos (Tabela 3). A partir destes modelos de regressão, foram geradas superfícies de resposta. Os efeitos não significativos foram excluídos dos modelos, de acordo com o diagrama de Pareto (Figura 1). Os efeitos significativos foram incorporados nos modelos de previsão.

O teste ANOVA demonstrou um bom ajuste dos dados experimentais (Eq. 1) com um valor estatisticamente valor de p significativo < 0,05 (Tabela 3). No entanto, foi observada uma falta de ajuste significativa para a FT (p<0.05). Apesar desta falta de ajuste, pode afirmar-se

que o modelo (Eq. 5) tem uma elevada reprodutibilidade precisão, devido ao baixo valor do erro puro. Como tal, a falta de ajustamento pode ser considerada como um falso resultado devido a uma elevada F_{cal} por um denominador muito baixo (SILVA JÚNIOR et al., 2021). Além disso, para a capacidade antioxidante, a falta de ajuste não foi significativa, o que indica que o modelo (Eq. 6) precisamente alinhada com os dados reais (AHMED et al., 2022; SILVA JÚNIOR et al., 2021).

Tabela 3. Coeficientes de regressão e ANOVA para o modelo quadrático de superfície de resposta.

	Coeficientes									
	Intercepto	Linear			Quadrático			Interação		
	β_0	β_1	β_2	β_3	β_{11}	β_{22}	β_{33}	β_{12}	β_{13}	β_{23}
CFT	658,685*	16,192	-37,461*	90,274*	-43,626*	-141,100*	-43,709*	17,815	-17,32	1,128
DPPH	1067,185*	-6,901	-38,634*	457,270*	7,0390	-126,833*	7,52	-23,59	-10,705	-50,380*
ANOVA										
CFT										
FV	GL	SS	MS	F_{calc}	F_{tab}	p-valor	R^2	R^2_{adj}		
Regressão	5	354985,95	70997,19	5,76	3,20	0,0075	0,7410	0,4080		
Resíduos	11	135597,07	12327,01							
Falta de ajuste	9	134612,40	14956,93	30,38	19,38	0,0323				
Erro Puro	2	984,66	492,33							
Total	16	490583,01								
DPPH										
FV	GL	SS	MS	F_{calc}	F_{tab}	p-valor	R^2	R^2_{adj}		
Regressão	4	3116990,47	779247,62	131,43	3,26	0,0000	0,9799	0,9540		
Resíduos	12	71146,82	5928,90							
Falta de ajuste	10	70303,42	7030,34	16,67	19,40	0,0579				
Erro Puro	2	843,40	421,70							
Total	16	3188137,29								

Significância estatística (valor-p) relatada *para $p < 0,05$.

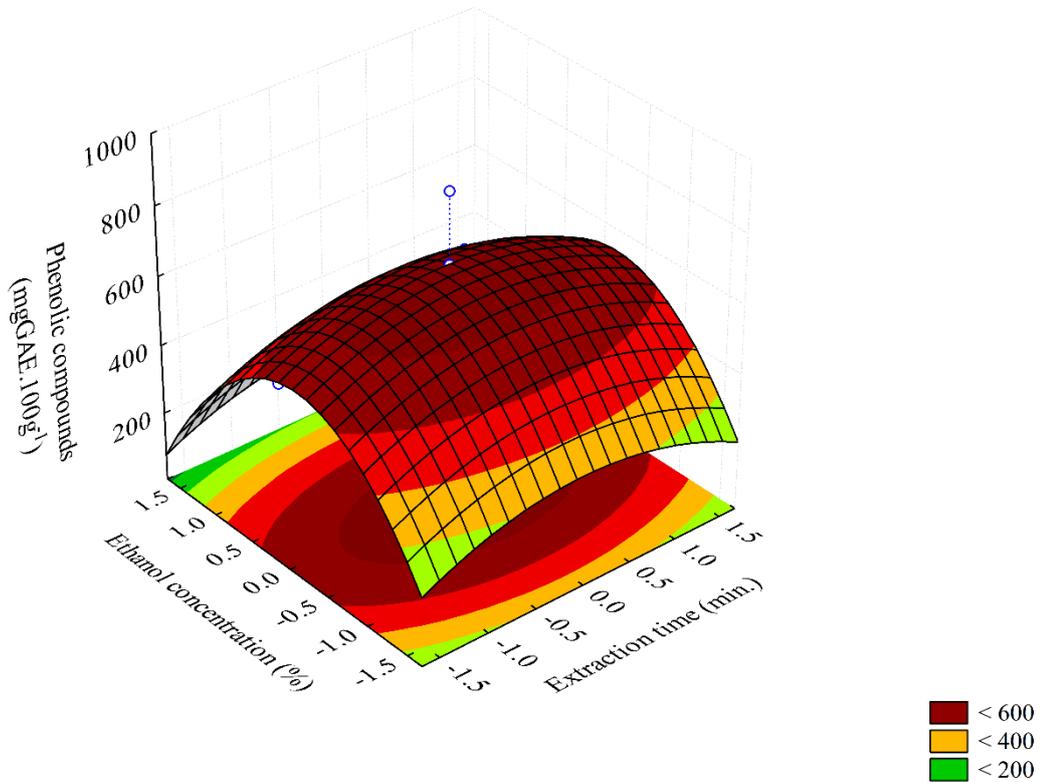
Os modelos de regressão para o FT e o DPPH- deram valores de R^2 de 0,7410 e 0,9799, e R^2 ajustado (R^2_{adj}) de 0,4080 e 0,9540, respetivamente. O teste F sugeriu que os valores de F (F_{cal}) para o FT e o DPPH- foram de 5,76 e 131,43, respetivamente, excedendo os valores de F- ($F_{tab} = 3,20$ para o FT e $F_{tab} = 3,26$ para o DPPH-) nas condições experimentais atuais. Esta constatação implica que os modelos para estas variáveis de resposta são significativos ($p < 0,05$) e possuem validade preditiva. Para obter o modelo de segunda ordem, os efeitos lineares e quadráticos significativos foram contemplados, e os modelos de regressão foram utilizados para gerar superfícies de resposta para cada variável dependente, de acordo com as Equações (5) e (6).

$$FT = 658.685 - 37.461 X_2 + 90,274X_3 - 43.626X_{21} - 141.100X_{22} - 43.709X_{23} \text{ (Eq. 5)}$$

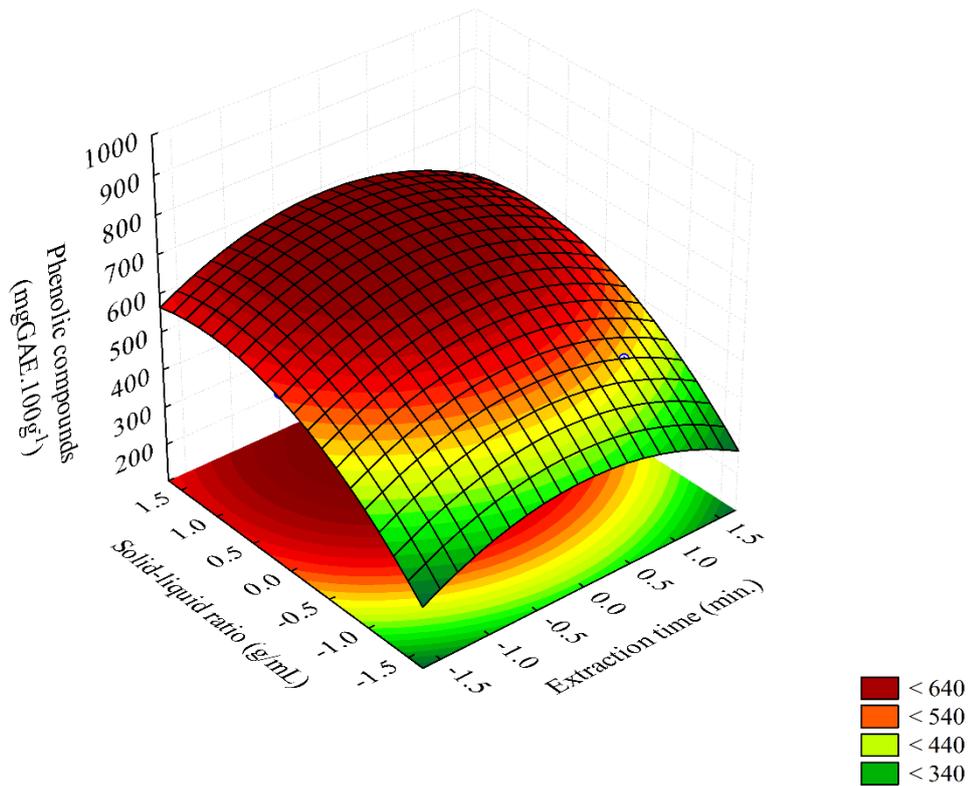
$$DPPH = 1067.185 - 38.634X_2 + 457.270X_3 - 126.833X_{22} - 50.380X_{2X3} \text{ (Eq. 6)}$$

Figura 2. Superfícies de resposta geradas para as variáveis resposta: Compostos Fenólicos totais (2 A-C) e Atividade Antioxidante (2 D-E).

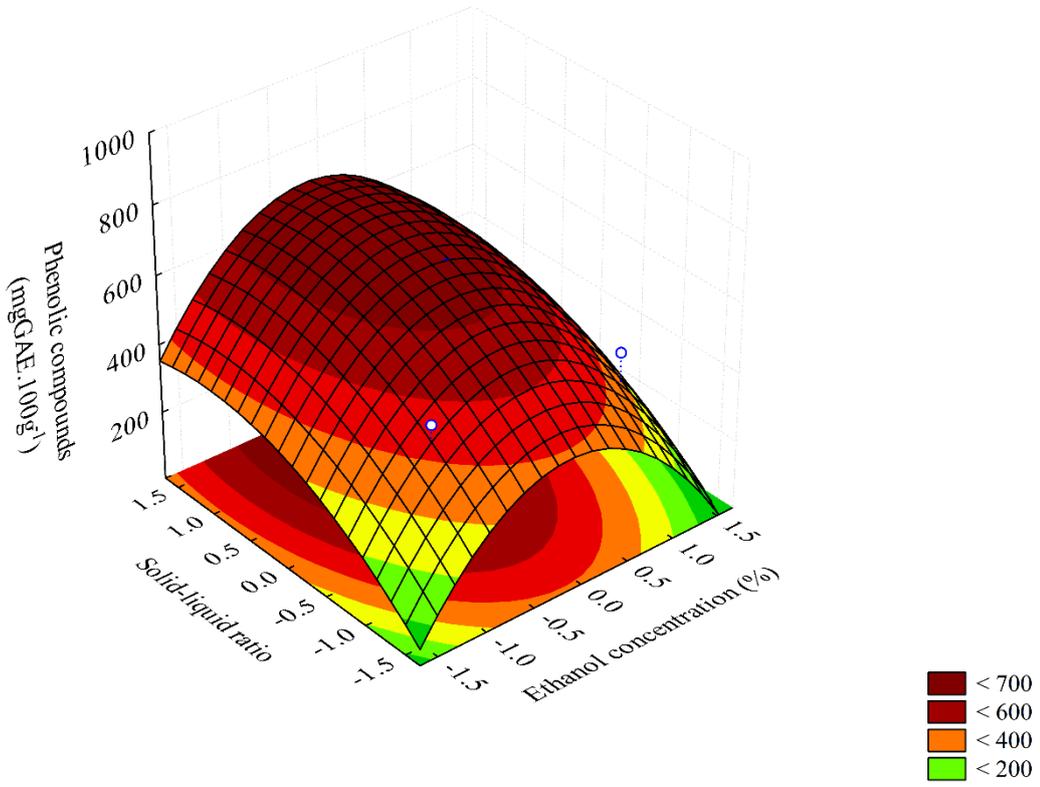
(A)



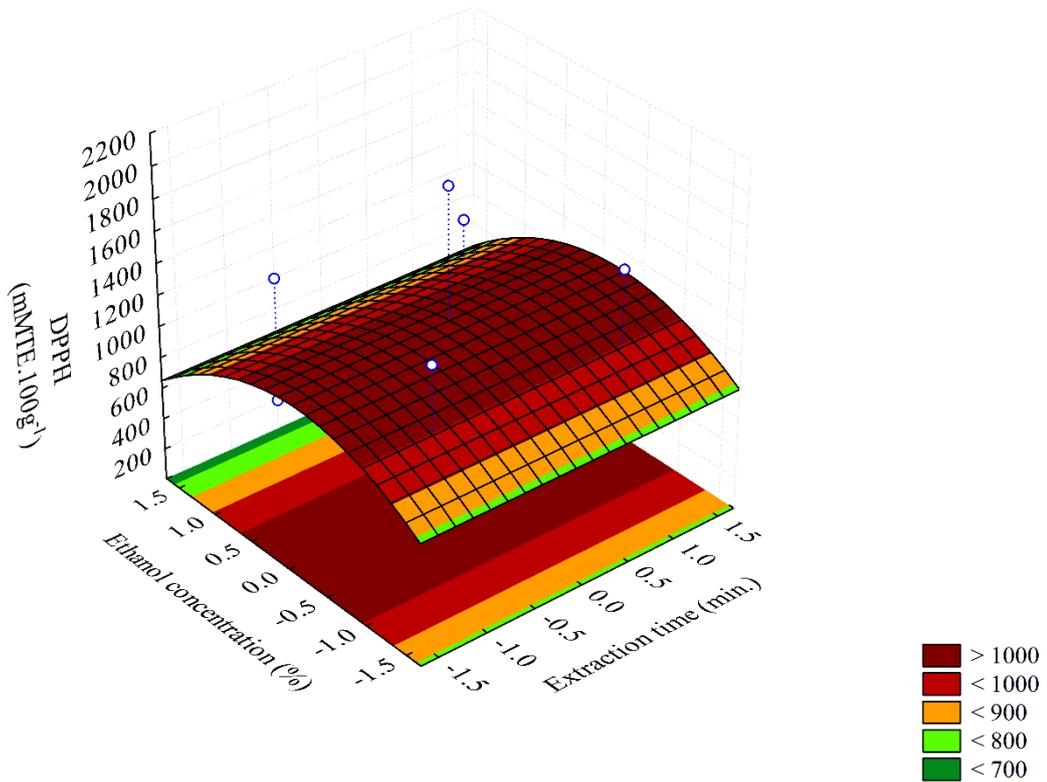
(B)



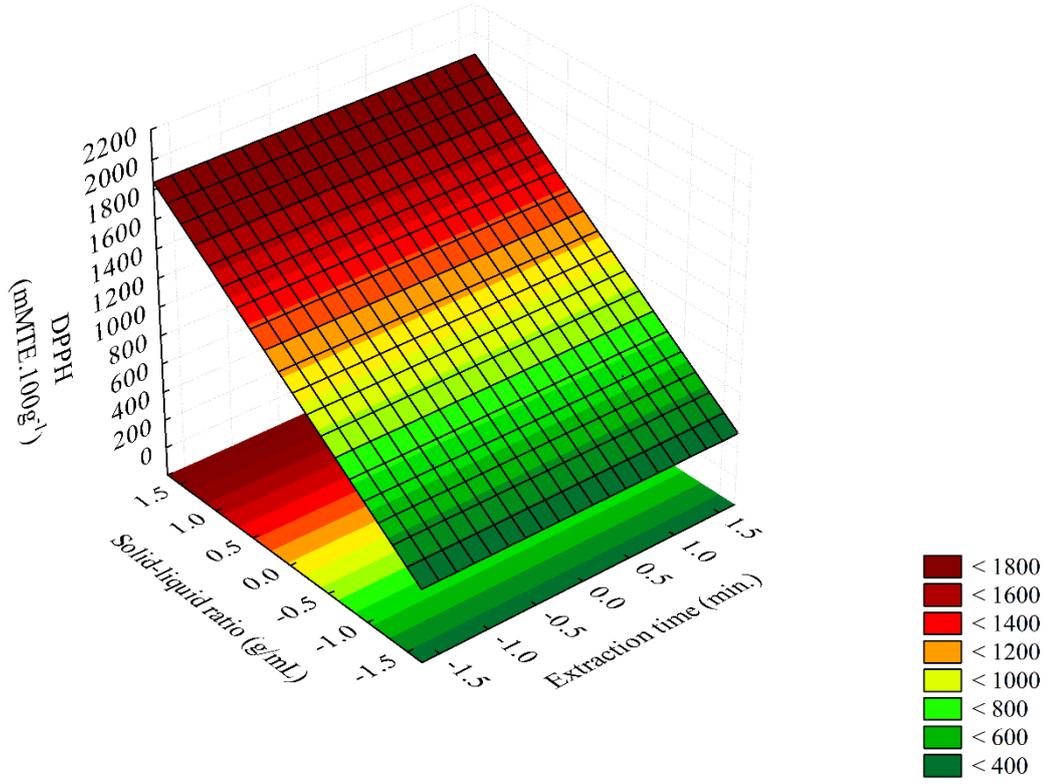
(C)



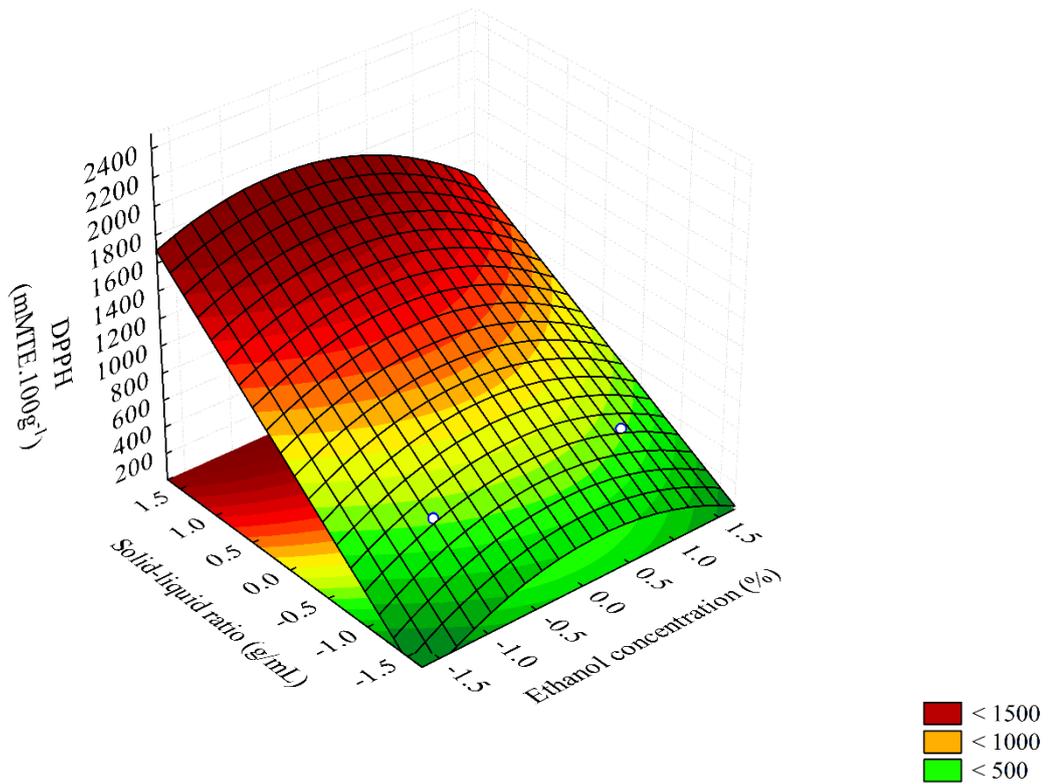
(D)



(E)



(F)



As superfícies de resposta produzidas estão representadas na Figura 2. A análise dos dados revelou que o FT foi significativamente influenciado pelas variáveis independentes sob investigação, conforme corroborado pelo diagrama de Pareto e pela análise de variância (ANOVA). A concentração de etanol, a relação bagaço-solvente e o tempo de sonicação demonstraram impacto quadrático negativo no FT dos extratos (Figura 2A-C).

Ao examinar as três superfícies de resposta, as regiões onde a recuperação de compostos fenólicos foi máxima foram discerníveis. Isto foi de aproximadamente 750 mg EAG.100 g-1 peso seco quando os valores de X1 e X2 estavam na região do ponto central (20 minutos de sonicação e etanol 55%) e X3 estava próximo do ponto axial + α (bagaço -proporção de solvente de 1:36,8). Os valores de FT obtidos na maioria dos testes superaram os relatados por Gualberto et al. (2021), que observaram FT variando entre 326.14 e 404.36 mg EAG.100 g-1 peso seco em extratos de bagaço de umbu por extração assistida por ultrassom. Por outro lado, Omena et al. (2012) relataram maiores teores de compostos fenólicos ao avaliar extratos de umbu (2,022 mg EAG.100 g-1 peso seco).

Em relação à capacidade antioxidante, as superfícies de resposta (Figura 2 D-F) implicam que as regiões que apresentam maior eliminação de radicais DPPH (aproximadamente 1800 mmol Eq.T 100 g-1 peso seco) coincidem com aquelas observadas para FT. Esses achados estão alinhados com os documentados por Gualberto et al. (2021), que observaram alta capacidade antioxidante no extrato de bagaço de umbu, obtido por extração assistida por ultrassom com etanol 80%. Desfechos semelhantes foram relatados por Ribeiro et al. (2022) e Ahmed et al. (2022), destacando melhor capacidade antioxidante em extratos de casca de umbu com 37% de etanol e extratos de *Spondias pinnata* (L. f.) Kurz com concentração de 60% de etanol.

O estudo constatou que as variáveis independentes influenciaram significativamente tanto a quantidade de FT como a capacidade antioxidante dos extratos. O tempo de sonicação é um fator influente durante a extração, uma vez que ajuda redução do consumo de eletricidade (SILVA JÚNIOR et al., 2021). Apesar do potencial para uma extração mais abrangente com exposição prolongada da matriz, o tempo de sonicação impactou minimamente as variáveis de resultado estudadas. À medida que o tempo de sonicação aumenta, não se verificam alterações substanciais no teor de FT e os valores da capacidade antioxidante, potencialmente devido à rápida saturação da solução de extração (SANTANA NETO et al., 2022) e a influência das ondas ultrassônicas que promovem a cavitação, potenciando eficiência de extração (AHMED et al., 2022; SILVA JÚNIOR et al., 2021).

Além disso, a extração de compostos bioativos do bagaço de umbu-cajá por meio de ultrassom foi influenciada pela concentração de etanol. É plausível que os compostos fenólicos do bagaço de umbu-cajá tenham maior afinidade por solventes de polaridade intermediária, sugerindo que concentrações de etanol entre 40% e 60% podem proporcionar uma extração eficiente desses compostos. De Santana Neto et al. (2022) relataram comportamento semelhante, alcançando extração eficiente de compostos polifenólicos em resíduos de *Spondias mombin* L. com concentrações de etanol entre 40% e 70%. Da mesma forma, Ahmed et al. (2022) obtiveram maiores valores de capacidade antioxidante utilizando faixa de concentração de etanol de 40% a 60%.

A escolha e a natureza do solvente são fundamentais no processo de extração, pois o solvente deve possuir alta afinidade e excelente capacidade de solvatação (AHMED et al., 2022). Neste estudo, o uso de etanol 55% melhorou a taxa de extração de compostos fenólicos do extrato, atribuível ao equilíbrio entre água e etanol na solução extratora, que favorece a dissolução e recuperação de polifenóis (SANTANA NETO et al., 2022; SILVA JÚNIOR et al., 2021).

A eficiência de extração dos compostos antioxidantes também foi influenciada pela proporção de solvente bagaço, conforme mostrado na Tabela 2 e Figura 2. À medida que o volume de solvente aumentou, resultando em uma proporção bagaço-solvente de 1:36,8 (g/mL), um maior recuperação de fenólicos foi alcançada. Ribeiro et al. (2022) observaram comportamento semelhante, adquirindo extratos de casca de umbu enriquecidos em compostos bioativos utilizando uma relação resíduo-solvente de 1:38 (g/mL).

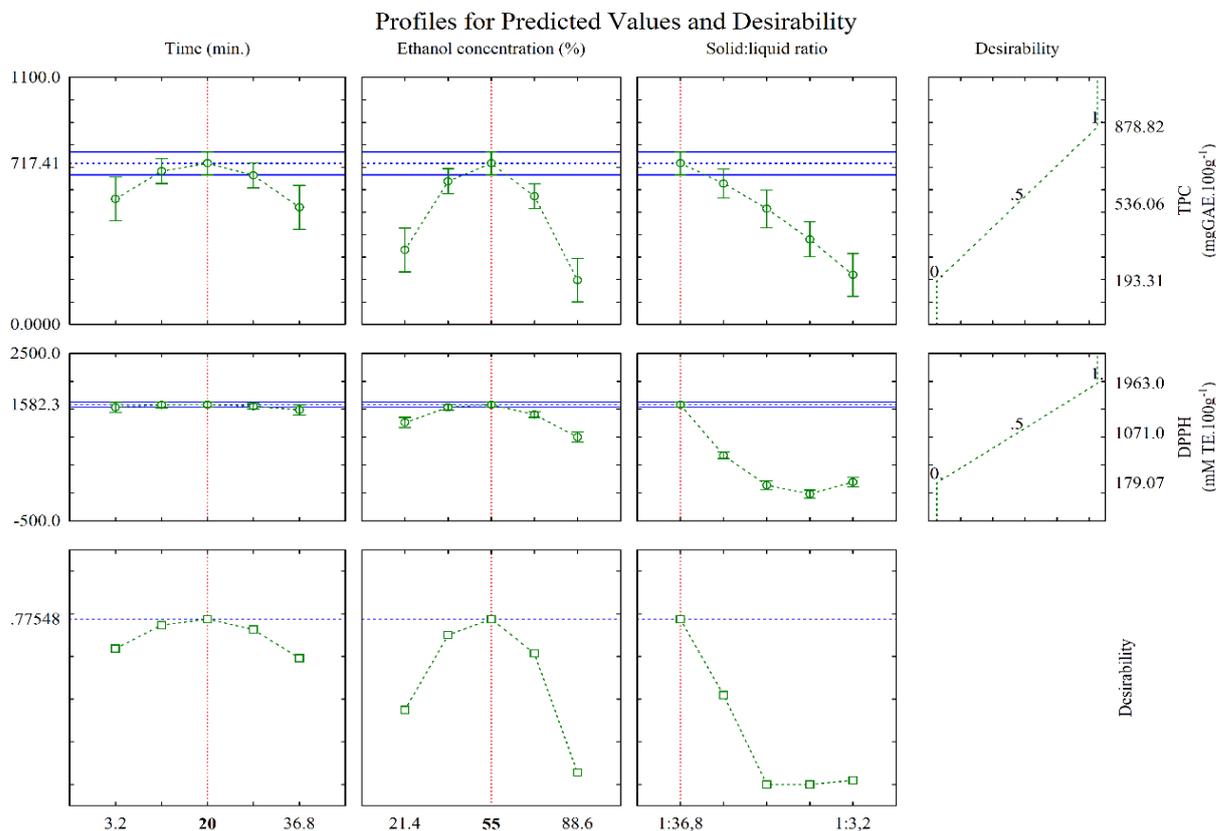
De acordo com Jovanović et al. (2017), a extração aprimorada pode ser atribuída à alta solubilidade dos polifenóis em soluções hidroalcoólicas, especialmente na forma glicosídica, o que facilita uma maior taxa de difusão com uma maior proporção soluto-solvente. Além disso, a extração melhorada poderia estar ligada ao excesso de compostos bioativos na matriz, que intensificam a viscosidade e impedem a difusão de polifenóis, uma restrição primária da transferência de massa dentro da matriz sólida durante o processo de extração (JOVANOVIĆ et al., 2017; MOHAMMADPOUR et al., 2019).

3.2. Desejabilidade e validação do modelo matemático

A função desejabilidade (Figura 3) foi empregada para determinar as condições ótimas para a recuperação de compostos fenólicos nos extratos. Os modelos de superfície de resposta,

incorporados à função desejabilidade, permitiram identificar o ponto de máxima eficiência do processo, considerando as variáveis de resposta (FT e capacidade antioxidante).

Figura 3. Perfil dos valores preditos e desejabilidade para o teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante do radical DPPH• do extrato do bagaço do bagaço de *Spondias bahiensis*.



De acordo com a análise de desejabilidade, os parâmetros ideais para extração de compostos fenólicos do bagaço de umbu-cajá utilizando extração assistida por ultrassom são os seguintes: tempo de sonicação (X1) = 20 minutos; concentração de etanol (X2) = 55%; e relação bagaço:solvente (X3) = 1:36,8 (g/mL). Nestas condições, os valores projetados para FT e capacidade antioxidante frente ao DPPH• foram 686,98 mg EAG.100 g-1 de peso seco e 1835,40 mmol Eq.T 100 g-1 peso seco, respectivamente (Tabela 4). A desejabilidade global alcançada foi de 0,77548.

Para validar as condições ótimas, foi obtido um extrato em triplicata de acordo com as condições de desejabilidade. Os resultados experimentais de FT e capacidade antioxidante foram justapostos aos valores previstos. O extrato derivado em condições otimizadas rendeu valores de 839,65 mg EAG.100 g-1 peso seco (PS) para FT e 1.938,00 mmol Eq.T 100 g-1 PS para capacidade antioxidante. Embora os resultados estejam de acordo com as previsões do

modelo, foi observada uma diferença significativa entre os dados experimentais e previstos do FT ($p < 0,05$).

Com base nos desvios relativos (%RD) obtidos para cada variável resposta, pode-se concluir que a metodologia de otimização do processo foi satisfatória, uma vez que as respostas experimentais superaram os valores previstos para as condições ótimas de tempo de sonicação, concentração de etanol e relação bagaço solvente. Tais condições permitiram maior eficiência de recuperação dos polifenóis do bagaço de umbu-cajá, obtendo um extrato com alto poder antioxidante.

Tabela 4. Resultado da quantificação do teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante do radical DPPH[•] do extrato otimizado do bagaço de *Spondias bahiensis*.

Parâmetro	Valor predito	Valor experimental	*Desvio relativo (%)
FT (mg EAG.100g ⁻¹ ms)	686,98 ^a	839,65 ^b ±24,48	18,18
DPPH [•] (mM Eq.T.100g ⁻¹ ms)	1835,40 ^a	1938,00 ^a ±39,42	5,29

*Desvio relativo = $|(Valor\ experimental - Valor\ predito)/Valor\ experimental| \times 100$. Diferentes letras minúsculas na mesma linha indicam diferença significativa entre as amostras ($p < 0,05$).

3.3 Caracterização e Bioacessibilidade de Fenólicos do Extrato Otimizado

Os compostos fenólicos totais do extrato foram de 839,6 mg EAG.100 g⁻¹ PS. Este resultado superou os valores encontrados por Moreira et al. (2012) em polpas de umbu-cajá de quatro genótipos, assim como por Sousa et al. (2022) em seu extrato de bagaço de cajá. Este resultado também corrobora com os achados de Dias et al. (2019), que, ao submeter sementes de umbu à extração assistida por ultrassom utilizando solução de etanol e água, obtiveram as maiores concentrações de FT em comparação com os outros métodos e solventes utilizados.

O potencial antioxidante do umbu-cajá está diretamente atrelado ao seu alto teor de compostos fenólicos totais, o que fomenta a capacidade antioxidante do extrato em estudo (OMENA et al., 2012). Os fenólicos agem como doadores de hidrogênio, que podem auxiliar na absorção e neutralização de radicais livres, e como agentes sequestrantes, diminuindo o efeito pró-oxidativo do ferro ou cobre, dificultando a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (PISOSCHI et al., 2021; AHMED et al., 2022).

O uso combinado de métodos para determinação da capacidade antioxidante *in vitro* fornece um panorama mais confiável da capacidade antioxidante total do extrato, como foi utilizado DPPH[•], ABTS[•], FRAP e atividade quelante de íons ferrosos (RUFINO et al., 2010).

O extrato otimizado apresentou valores médios de capacidade antioxidante de 1.938,0 mmol Eq.T 100 g⁻¹ PS, 2.681,8 mmol Eq.T 100 g OS e 571,3 mmol Eq.T 100 g⁻¹ PS para

DPPH•, ABTS•+ e métodos FRAP, respectivamente. Gualberto et al. (2021) obtiveram valores semelhantes para ensaios DPPH• e ABTS•+ em extrato de bagaço de umbu, enquanto o extrato em estudo obteve valor de FRAP superior aos observados por Omena et al. (2012) em seus extratos de umbu e por Santana Neto et al. (2022), em seu extrato de bagaço de cajá. Estas descobertas sugerem que o extrato tem alta capacidade de eliminar radicais livres e boa capacidade redutora férrica.

A atividade quelante de íons ferrosos do extrato variou de 58,5 a 62,4%, com média de 60,45%. Este parâmetro está correlacionado com a capacidade de sequestrar íons metálicos, particularmente íons de ferro e cobre, que podem iniciar reações de oxidação. Os resultados observados no estudo excederam aos relatados por Hazra et al. (2008) em extratos de *Spondias pinnata*, indicando bom potencial para prevenir a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO) através da quelação de íons metálicos.

O perfil fenólico do extrato e da fração intestinal da digestão simulada *in vitro* do extrato e a bioacessibilidade de cada fenólico identificado são apresentados na Tabela 5. A Figura 4 mostra os cromatogramas representativos da análise do perfil fenólico. Foram identificados 11 compostos, sendo 8 flavonóides e 3 ácidos fenólicos. O extrato apresentou maiores concentrações de quercetina 3-glucosídeo (6,34 mg/L) e ácido gálico (2,71 mg/L). Enquanto a fração intestinal apresentou maiores concentrações de ácido gálico (5,34 mg/L), catequina (1,99 mg/L), epicatequina galato (1,47 mg/L) e procianidina B2 (1,19 mg/L), e menores concentrações dos demais compostos analisados.

Os fenólicos presentes no extrato não digerido foram degradados ou transformados em novas substâncias durante o processo simulado de digestão gastrointestinal. Consequentemente, é razoável postular que as enzimas digestivas e os ácidos do trato gastrointestinal podem ter facilitado as transformações químicas no extrato, levando à geração de outros compostos fenólicos ou metabólitos secundários. Do mesmo modo que as etapas de digestão podem ter aumentado a extrabilidade da matriz, produzindo uma maior concentração de determinados grupos fenólicos na fração intestinal do extrato (BOUAYED et al., 2011; ZHANG et al., 2020).

Com isso, foi possível mensurar a bioacessibilidade de cada composto fenólico. A bioacessibilidade denota a quantidade de um nutriente que é liberado de uma matriz alimentar durante a digestão e fica disponível para absorção no trato gastrointestinal, já que nem sempre a quantidade total dos compostos ingeridos estão disponíveis para serem absorvidos e metabolizados pelo corpo humano (GUNATHILAKE; RANAWEERA; RUPASINGHE, 2018; MCCLEMENTS; PENG, 2020).

A bioacessibilidade da maioria dos fenólicos individuais no extrato foi alta (Tabela 5), como catequina (1243,75 %), galato de epicatequina (918,75 %), procianidinas B2 (915,38 %), ácido gálico (319,76 %) e procianidinas B1 (136,36 %). Estes flavonóides tendem a resistir à hidrólise ácida e chegar intactos no intestino, o que reflete na alta bioacessibilidade destes compostos (GUNATHILAKE; RANAWEERA; RUPASINGHE, 2018). Além disso, a expressiva bioacessibilidade da catequina pode ser atribuída à despolimerização parcial das proantocianidinas, que são compostos poliméricos e oligoméricos de catequina e epicatequina e quando expostos ao ambiente intestinal são hidrolisados a fenólicos monoméricos (DUTRA et al., 2017; DANTAS et al., 2023; SILVA et al., 2024).

A bioacessibilidade dos compostos observados em estudo apresentou valores superiores aos encontrados por Dutra et al. (2017) ao determinar o perfil fenólico da fruta e polpa, tanto do umbu-cajá como da siriguela, e por Dantas et al. (2019) em polpa de cajá. Indicando a eficiência da extração assistida por ultrassom mesmo em uma matriz complexa e fibrosa como o bagaço de umbu-cajá. Além disso, sugere-se que o extrato do bagaço de umbu-cajá pode ser uma rica fonte de compostos fenólicos bioacessíveis, podendo ser utilizados como conservantes alimentares alternativos aos sintéticos.

Tabela 5. Conteúdo fenólico (mg/L) e bioacessibilidade (%) do extrato hidroetanólico do bagaço de umbu-cajá obtido nas condições otimizadas.

Conteúdo fenólico	Extrato de <i>Spondias bahiensis</i>		Bioacessibilidade (%)
	Extrato	Fração intestinal	
Ácido gálico	2.71±0.47	5.34±0.38	197.05
Ácido siríngico	0.22±0.08	0.08±0.02	36.36
Ácido clorogênico	0.34±0.01	< LOD	< LOD
Procianidina A2	0.13±0.01	0.10±0.02	76.92
Procianidina B1	0.11±0.01	0.15±0.03	136.36
Procianidina B2	0.13±0.02	1.19±0.34	915.38
Catequina	0.16±0.03	1.99±0.06	1243.75
Galato de epicatequina	0.16±0.01	1.47±0.00	918.75
Miricetina	0.44±0.08	< LOD	< LOD
Quercetina 3-Glucosídeo	6.34±0.35	0.03±0.00	0.47
Kaempferol 3-glicosídeo	0.16±0.04	0.01±0.00	6.25

LOD: limite de detecção.

Figura 4. Cromatogramas representativos da análise do perfil de fenólicos do extrato do bagaço de umbu-cajá.

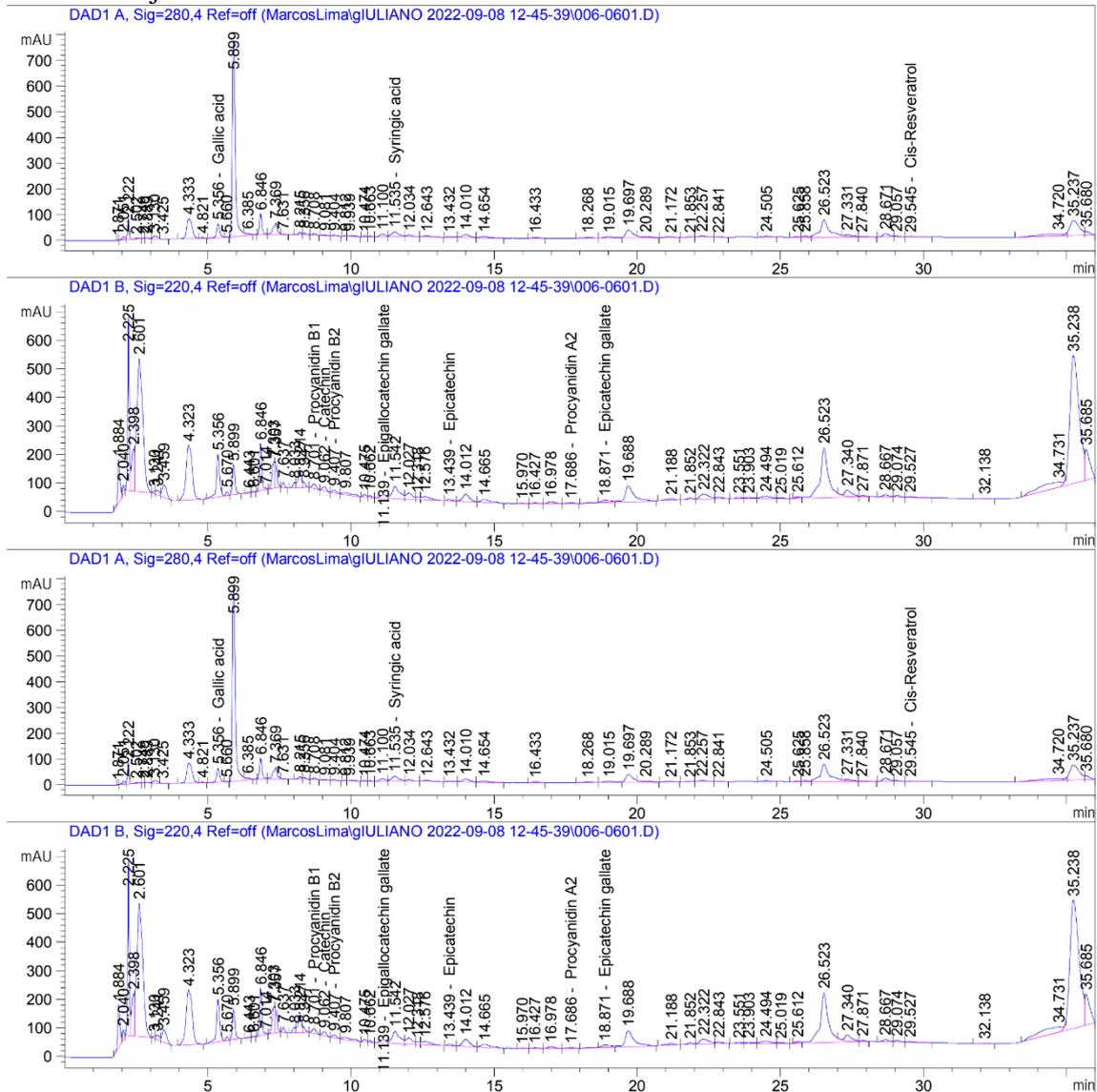
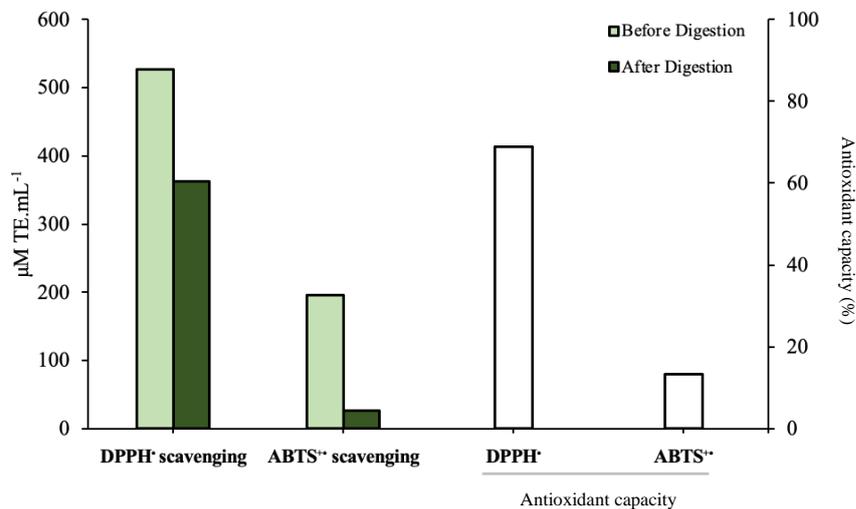


Figura 5. Capacidade antioxidante (%) do extrato hidroetanólico do bagaço de umbu-cajá otimizado íntegro ■ e da fração intestinal da digestão *in vitro* simulada ■.



Alterações na capacidade antioxidante das amostras foram verificadas após a digestão *in vitro* (Figura 5). O extrato apresentou diminuição do potencial inibitório do DPPH• e ABTS•+ na fração intestinal, de forma que a capacidade antioxidante do extrato (%) a partir do DPPH• se apresentou aproximadamente cinco vezes maior que a do ABTS•+. Isto sugere a predominância de compostos fenólicos no extrato que podem doar elétrons para reduzir os radicais DPPH• durante o processo de digestão simulado.

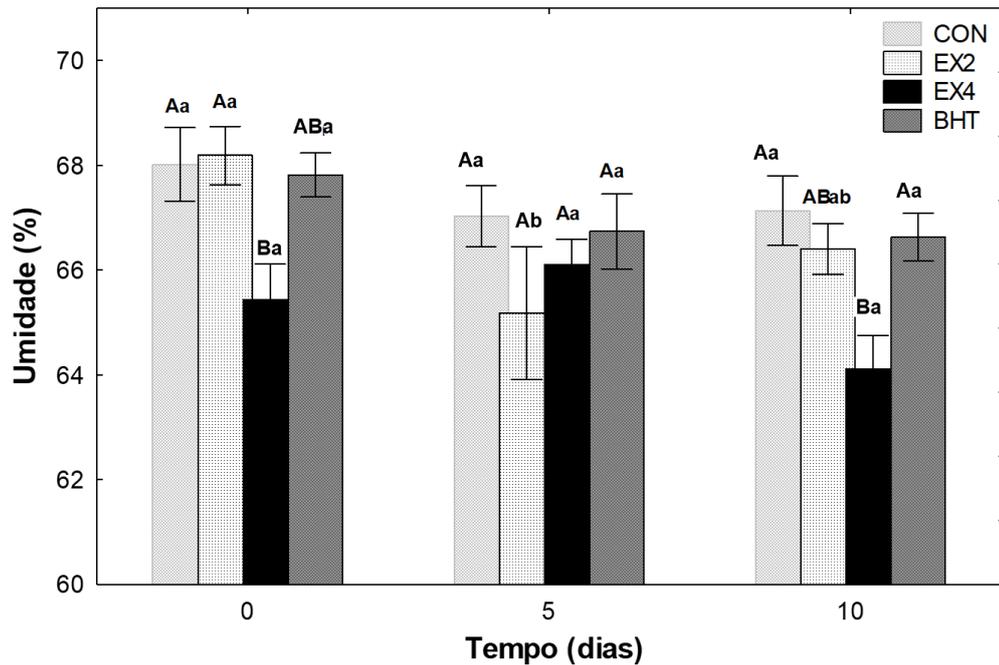
Em contraste, a capacidade antioxidante de 13,23% para ABTS•+ implica que menos compostos fenólicos reagiram com o radical ABTS•+ durante o mesmo curso. As transformações no extrato devido ao processo de digestão simulado, conforme mencionado anteriormente, podem explicar os resultados observados para a capacidade antioxidante.

3.4 Teor de umidade, pH e cor instrumental

A incorporação do extrato de umbu-cajá não influenciou na umidade das almôndegas quando comparado aos demais tratamentos ao longo do armazenamento (Figura 6a). Observou-se uma diminuição no teor de umidade das amostras EX4 no tempo 0 e 10 em relação aos demais tratamentos. Possivelmente, as diferenças observadas no teor de umidade das almôndegas EX4 estão relacionadas ao maior conteúdo de sólidos totais adicionados à formulação por meio do extrato do resíduo do umbu-cajá. Comportamento similar foi observado por Antonini et al. (2020) ao acrescentar sementes de chia na formulação de hambúrguer bovino. A ausência de mudanças significativas no teor de umidade das amostras ao longo do armazenamento mostra a eficiência do processo de embalagem, evitando-se o ressecamento do produto.

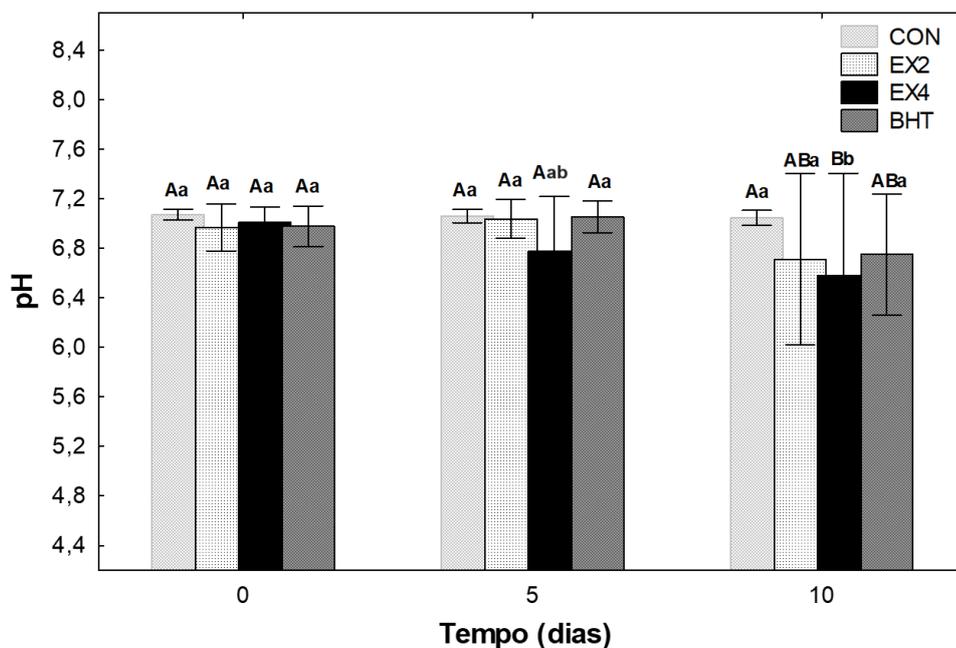
Em relação ao pH, os tratamentos apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) apenas no tempo 10, sendo mais expressivo nos tratamentos EX2 e EX4 (Figura 6b). Podendo indicar que a concentração de extrato adicionada às almôndegas caprinas contribuíram para o maior declínio de pH. Comportamento semelhante foi observado por Turan e Şimşek (2021) nas amostras de hambúrguer bovino adicionadas de extrato de amora preta. Manzoor, Ahmad e Yousuf (2022) ao aplicar extrato de casca de manga em salsicha de frango e Rahman et al. (2021) ao aplicar extrato de cominho preto em hambúrguer bovino, também verificaram redução do pH em todos os tratamentos ao longo do armazenamento, principalmente nos tempos mais avançados. Este declínio pode refletir no retardo do crescimento microbiano sob condições de pH baixo.

Figura 6a. Teor de umidade de almôndegas ao longo do armazenamento.



Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre si para cada tratamento ao longo do tempo e médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si para os diferentes tratamentos em cada intervalo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 6b. pH de almôndegas ao longo do armazenamento.

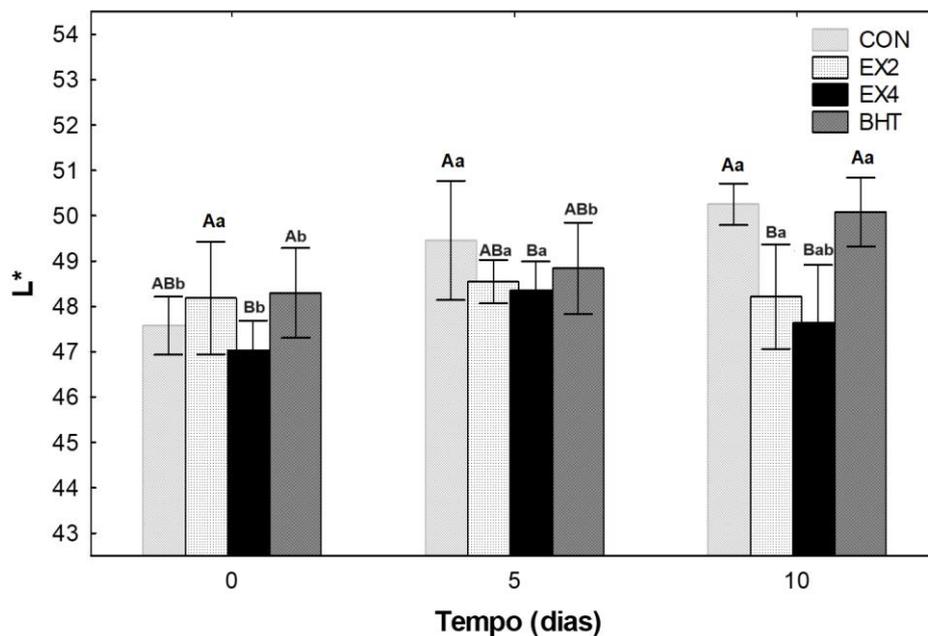


Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre si para cada tratamento ao longo do tempo e médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si para os diferentes tratamentos em cada intervalo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A cor é um importante parâmetro de aceitação sensorial, sua alteração pode estar relacionada ao desenvolvimento de processo oxidativo em produtos cárneos. De acordo com os parâmetros analisados, a incorporação do extrato de umbu-cajá não foi capaz de inibir o escurecimento das almôndegas caprinas até o final do armazenamento (Figura 7). Os valores de a^* diminuíram gradativamente conforme o tempo de armazenamento progrediu em todas as amostras, mas a perda de vermelhidão das amostras de controle ocorreu muito mais rapidamente.

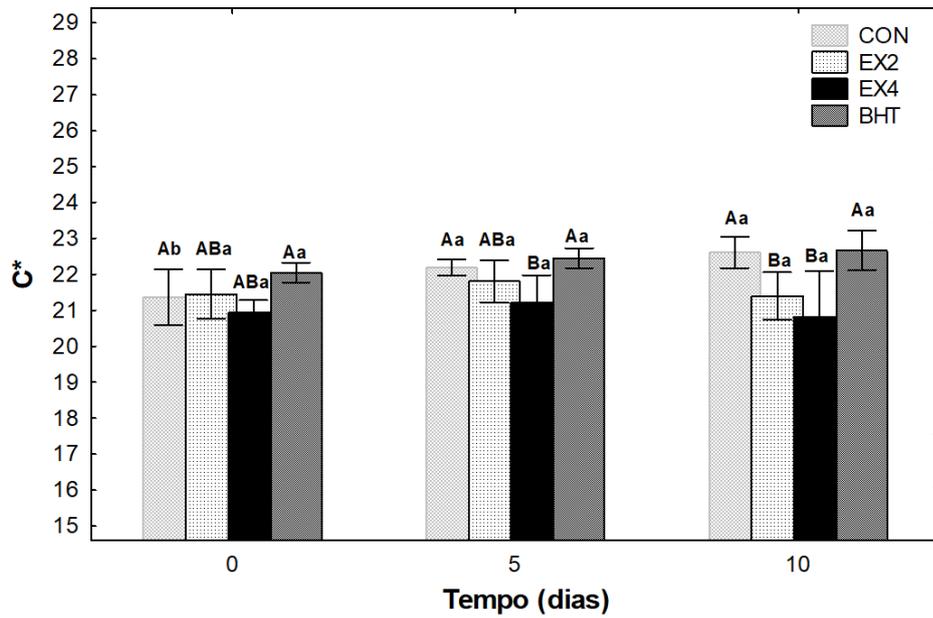
A descoloração de carnes vermelhas que ocorre durante o armazenamento refrigerado geralmente está associada ao acúmulo de metamioglobina na superfície da carne, tornando mais opaca a pigmentação (NISHAD et al., 2018; MANZLOOR; AHMAD; YOUSUF, 2022). Esta tendência é natural no processo de degradação da carne, dada a formação de pigmentos originados da oxidação lipídica e proteica, assim como observado por Souza et al. (2022) ao analisar o emprego do extrato de resíduos do maracujá em hambúrguer bovino e por Santana Neto et al. (2021) em seu estudo ao aplicar extrato de resíduos de cajá em hambúrguer de frango.

Figura 7a. Avaliação colorimétrica (L^*) de almôndegas ao longo do armazenamento.



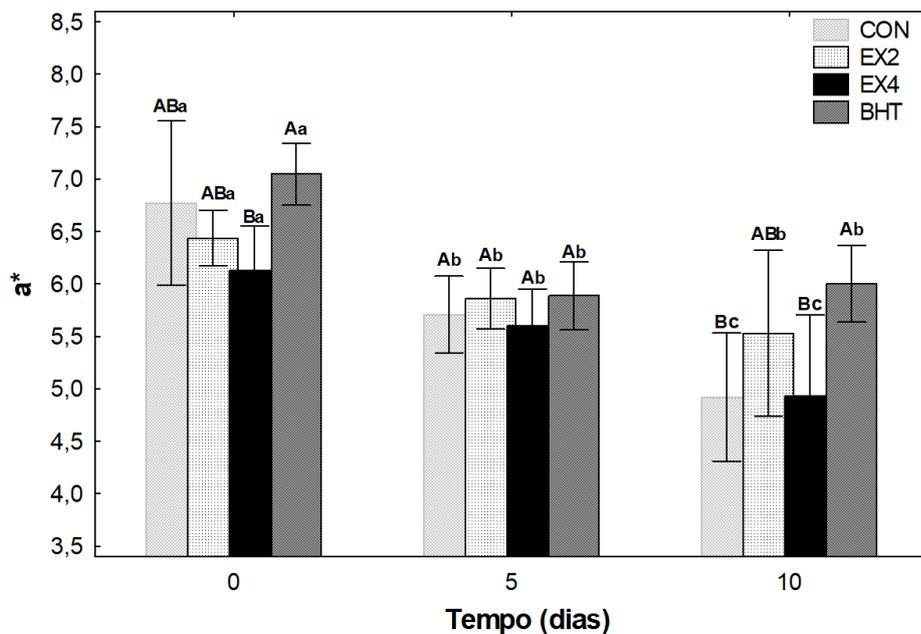
Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre si para cada tratamento ao longo do tempo e médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si para os diferentes tratamentos em cada intervalo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 7b. Avaliação colorimétrica (C^*) de almôndegas ao longo do armazenamento.



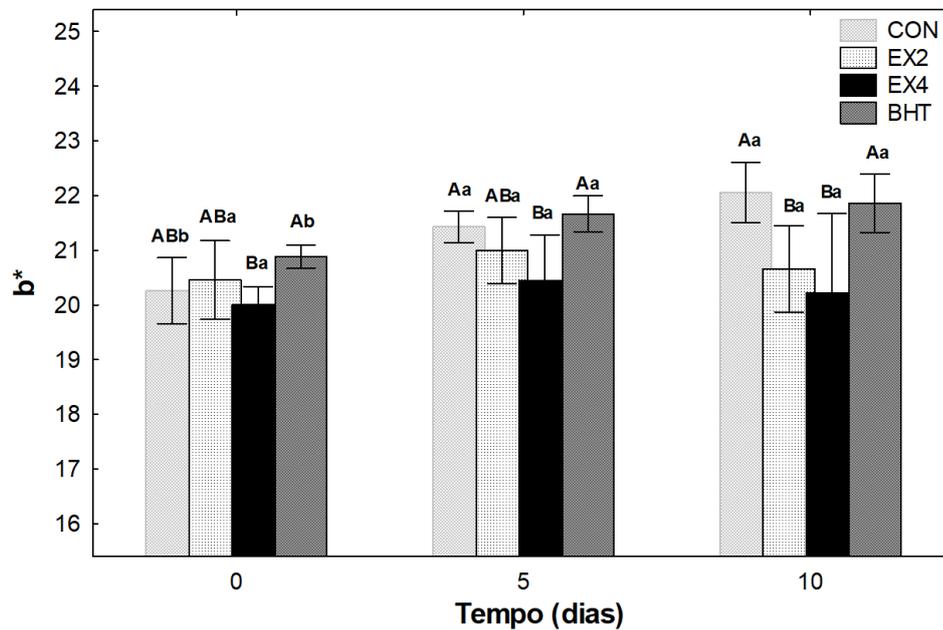
Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre si para cada tratamento ao longo do tempo e médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si para os diferentes tratamentos em cada intervalo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 7c. Avaliação colorimétrica (a^*) de almôndegas ao longo do armazenamento.



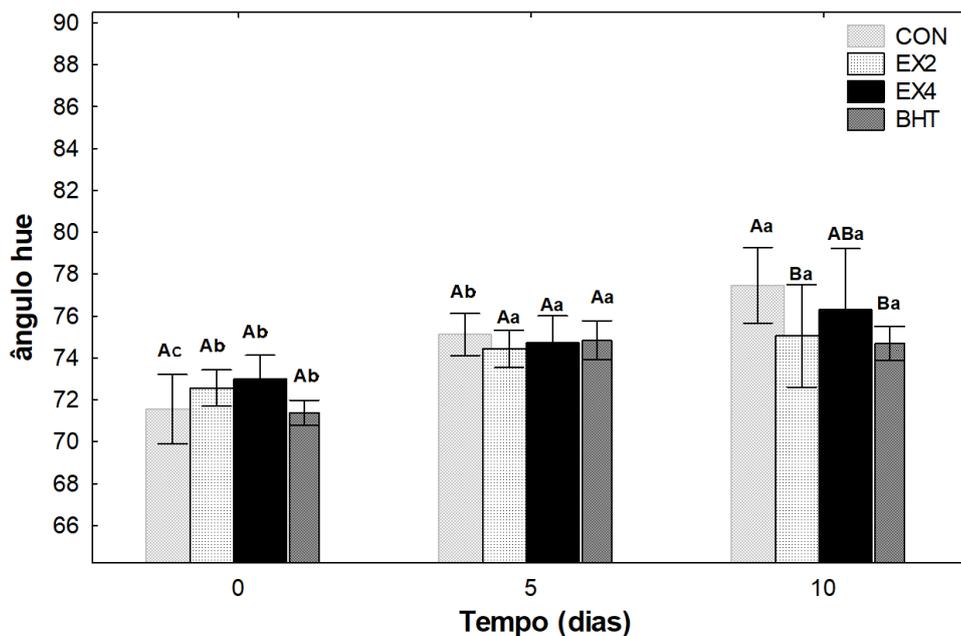
Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre si para cada tratamento ao longo do tempo e médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si para os diferentes tratamentos em cada intervalo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 7d. Avaliação colorimétrica (b^*) de almôndegas ao longo do armazenamento.



Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre si para cada tratamento ao longo do tempo e médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si para os diferentes tratamentos em cada intervalo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 7e. Avaliação colorimétrica (ângulo hue) de almôndegas ao longo do armazenamento.



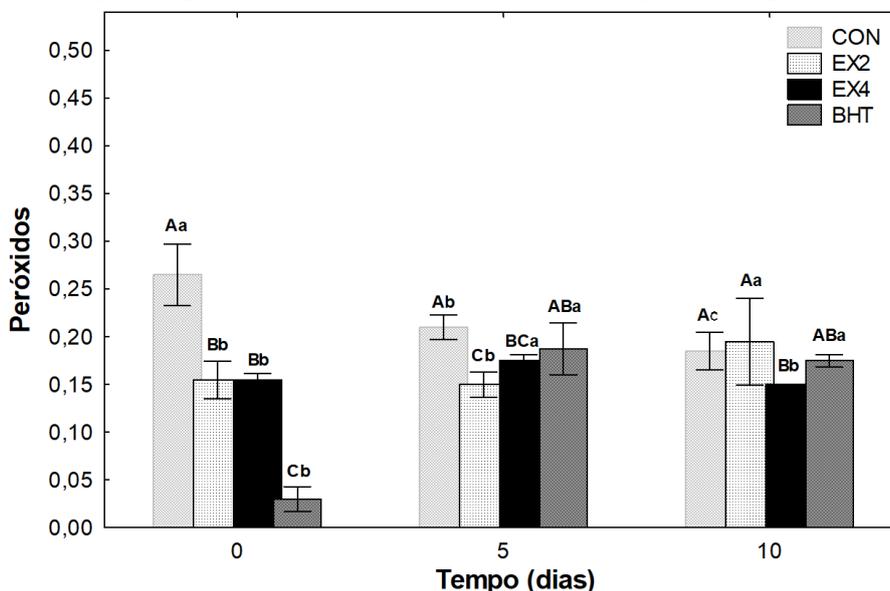
Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre si para cada tratamento ao longo do tempo e médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si para os diferentes tratamentos em cada intervalo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.5. Oxidação lipídica

O índice de peróxidos e TBARS são dois importantes indicadores de oxidação lipídica em produtos cárneos. Embora haja efeito positivo da diminuição da temperatura sob a velocidade da reação, ainda ocorre deterioração do alimento resultante da oxidação mesmo em condições de refrigeração (TURGUT; IŞIKÇI; SOYER, 2017). O efeito da concentração do extrato do bagaço de umbu-cajá e armazenamento refrigerado na evolução da oxidação lipídica de almôndegas caprinas foi avaliada através da quantificação de compostos primários (Figura 8) e secundários (Figura 9).

Foi possível observar que tanto o tempo de armazenamento quanto a adição de extrato nas almôndegas caprinas influenciaram significativamente ($p < 0,05$) o índice de peróxidos (Figura 3). Exceto para o tratamento controle, as almôndegas apresentaram uma tendência de aumento da quantidade de peróxidos no tempo 05 e um leve declínio ao final do armazenamento, que pode ser atribuído a formação de produtos secundários da oxidação lipídica, como os malonaldeídos. Ainda foi possível notar que o índice de peróxidos mais alto foi encontrado no tratamento controle logo após processamento com 0,27 mmolO₂/kg.

Figura 8. Avaliação de peróxidos (mmol O₂/Kg) de almôndegas ao longo do armazenamento.

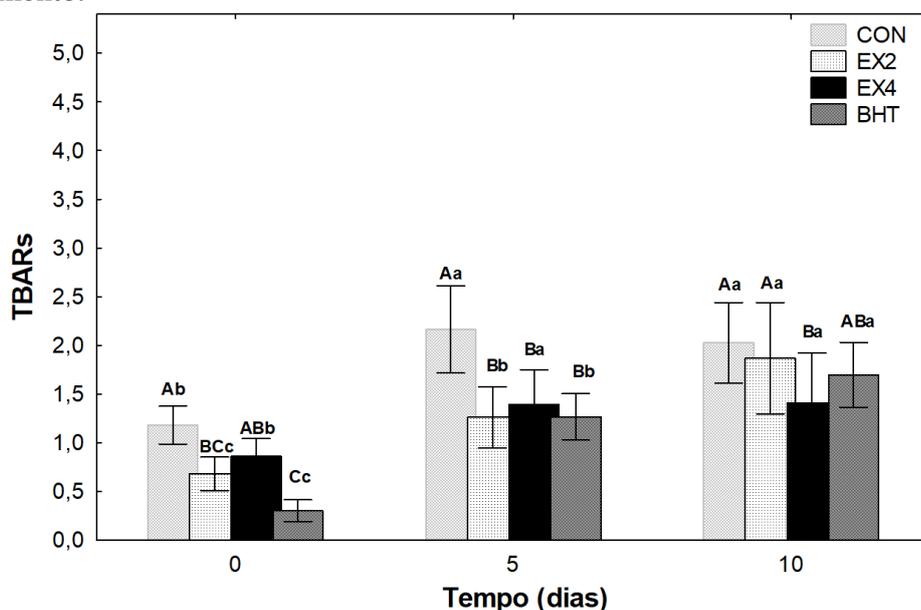


Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre si para cada tratamento ao longo do tempo e médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si para os diferentes tratamentos em cada intervalo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Já o menor valor também foi obtido logo após o processamento para o tratamento BHT (0,03 mmolO₂/kg). Para as formulações com adição do extrato do resíduo de umbu-cajá, o comportamento entre elas foi semelhante, finalizando o armazenamento com valores de

peróxidos estatisticamente iguais entre si ($p>0,05$). O aumento dos valores de IP com o armazenamento pode ser indício de processos oxidativos com formação de aldeídos, cetonas, ácidos e hidrocarbonetos, sabor e odor de ranço indesejável (BRUSTOLIN et al., 2021). De acordo com Cagdas e Kumcuoglu (2015), o limite de IP aceitável para consumo humano é de 10 meqO₂/kg, valor não atingido em todos os tempos e tratamentos.

Figura 9. Avaliação de TBARs (mg MDA/kg amostra) de almôndegas ao longo do armazenamento.



Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre si para cada tratamento ao longo do tempo e médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si para os diferentes tratamentos em cada intervalo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em relação a avaliação de TBARS, observou-se crescimento dos valores em todas as amostras ao longo do tempo de armazenamento (Figura 9). No décimo dia de armazenamento, o tratamento controle apresentou o maior acúmulo de malonaldeído, enquanto o tratamento EX4 apresentou menor acúmulo no mesmo tempo, isto pode estar relacionado com a capacidade em retardar as reações de oxidação lipídica atribuídas ao ácido gálico e demais polifenóis presente no extrato (SOUSA et al., 2022).

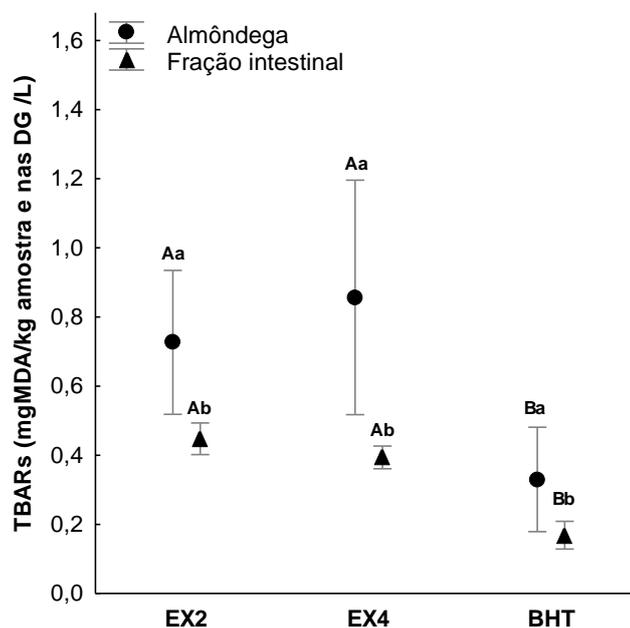
Ghimire, Paudel e Poudel (2022) ao analisar o efeito de extrato de romã em carne moída de búfalos durante o armazenamento e Rahman et al. (2021) ao analisar o efeito do cominho preto no armazenamento refrigerado de hambúrgueres bovinos, também apresentaram aumento mais expressivo de malonaldeído em torno do quinto dia de armazenamento.

De acordo com Özcan et al. (2018), produtos à base de carne com TBARS inferior a 1 mg MDA/kg são considerados frescos em termos de rancidez lipídica, enquanto Esmaili

(2020) indica que níveis superiores a este valor geralmente resultam em odores desagradáveis e são considerados como o início da sensibilidade organoléptica dos lipídios. Com exceção do tratamento controle, todas as amostras no quinto e décimo dia apresentam valores que podem indicar o início do surgimento das alterações desagradáveis decorrentes da oxidação das almôndegas caprinas.

A legislação brasileira não estipula um limite máximo para a quantidade de malonaldeído em produtos cárneos. Entretanto, Zhang et al. (2019) consideram o limite aceitável para TBARS em produtos cárneos é de 2,5 mg MDA/kg de amostra enquanto Campo et al. (2006) estipulam valores limites de TBARS iguais a 2,0 mg MDA/kg de amostra. Indicando que o extrato do resíduo de umbu-cajá é uma substância com potencial antioxidante tão eficaz quanto o BHT, uma vez que os valores de TBARS foram maiores apenas para as amostras controle ao final do armazenamento.

Figura 10. Avaliação de TBARS (mg MDA/kg amostra) de almôndegas íntegras (●) e fração intestinal (▲) da digestão *in vitro* simulada.



Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre si para cada tratamento e médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si no processo de digestão pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Também foi avaliada quanto dos produtos gerados a partir da oxidação lipídica poderiam ser absorvidos por um possível consumidor, caso ingerisse as almôndegas do tratamento EX2, EX4 e BHT no tempo 0, a partir da simulação de digestão gastrointestinal *in vitro*. Os valores de malonaldeídos presentes na fração intestinal dos três tratamentos

mostraram-se inferiores ao observado nas almôndegas, a qual o tratamento considerado com maior quantidade de malonaldeídos foi EX2>BHT>EX4 (Figura 10). Aksoy, Arici e Yaman (2022), também analisou esta tendência de declínio de malonaldeído na fração intestinal em produtos cárneos tratados com amostras de hardaliye.

A baixa quantidade de malonaldeído presente na fração intestinal sugere uma possível diminuição desse composto ao longo do processo digestivo, resultando em uma quantidade relativamente baixa disponível para absorção após a ingestão. Isso pode ser atribuído também à eficácia dos agentes antioxidantes (como polifenóis e BHT) em se liberar da matriz alimentar durante a digestão, o que contribui para reduzir a presença desse composto no intestino.

Portanto, estes resultados indicam que as concentrações adicionadas do extrato do resíduo de umbu-cajá às almôndegas, apesar de distintas, proporcionam proteção semelhante frente às reações de oxidação lipídica, inclusive são tão eficientes quanto o antioxidante sintético BHT.

3.6. Oxidação proteica

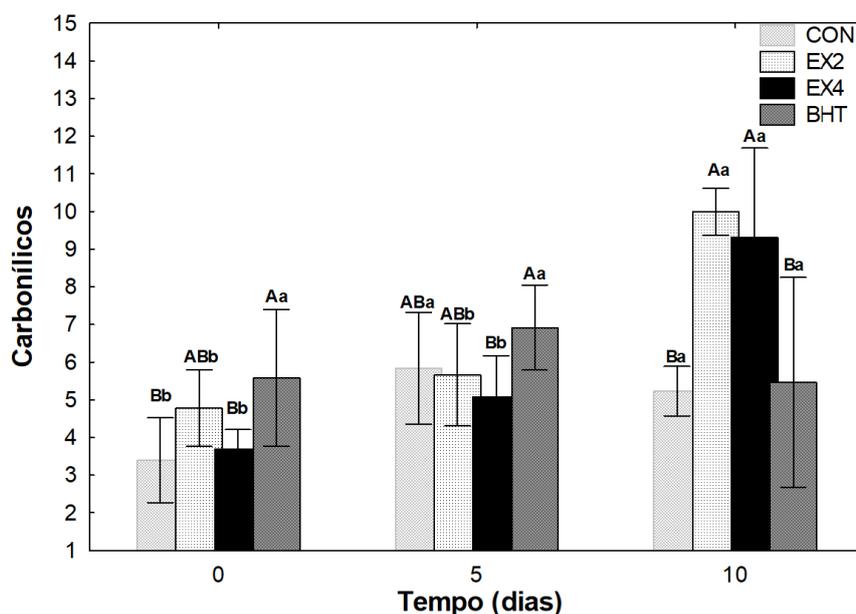
A oxidação de lipídios e proteínas estão intimamente ligadas, embora alguns indicadores nem sempre estejam bem correlacionados. Além disso, a oxidação na carne é fortemente influenciada pela origem da carne, o músculo utilizado, o tratamento aplicado, os ingredientes que compõe o produto final e os antioxidantes intrínsecos que protegem a carne da oxidação de lipídios e proteínas (GUYON; MEYNIER; LAMBALLERIE, 2016).

A oxidação de proteínas pode ser induzida pela presença de compostos de oxidação de lipídios quando os hidroperóxidos são decompostos para formar carbonilas e aldeídos. Além disso, a oxidação de proteínas em produtos cárneos depende da oxidação de cadeias laterais presentes em aminoácidos. Desta forma, a formação de carbonilas torna-se um dos principais indicadores estabilidade oxidativa proteica (NAWAZ et al., 2022; MANZOOR; AHMAD; YOUSUF, 2022; SANTANA NETO et al., 2021). Para acompanhar a evolução da oxidação proteica nas almôndegas caprinas ao longo do armazenamento foram quantificados os compostos carbonílicos e os resultados estão apresentados na Figura 10.

Observou-se que apenas o tratamento BHT não sofreu influência do tempo de armazenamento das almôndegas caprinas ($p>0,05$). No entanto, os tratamentos EX2 e EX4 foram afetados com a adição do extrato de umbu-cajá ($p<0,05$). O alto teor de ácido gálico e catequina presente no extrato de umbu-cajá pode ser atribuído ao potencial de inibição da formação de compostos carbonílicos totais nas proteínas miofibrilares das almôndegas ao longo do armazenamento (SOUSA et al., 2022).

Apesar disso, as amostras controle iniciaram a oxidação proteica mais rapidamente, enquanto as demais apresentaram um pico por volta do décimo dia de armazenamento, comportamento também observado por Sousa et al. (2022). Este comportamento pode estar associado ao efeito protetor dos polifenóis presentes no extrato do bagaço do umbu-cajá, bem como do BHT.

Figura 11. Avaliação de compostos carbonílicos (nM carbonila/mg ptn) de almôndegas ao longo do armazenamento.



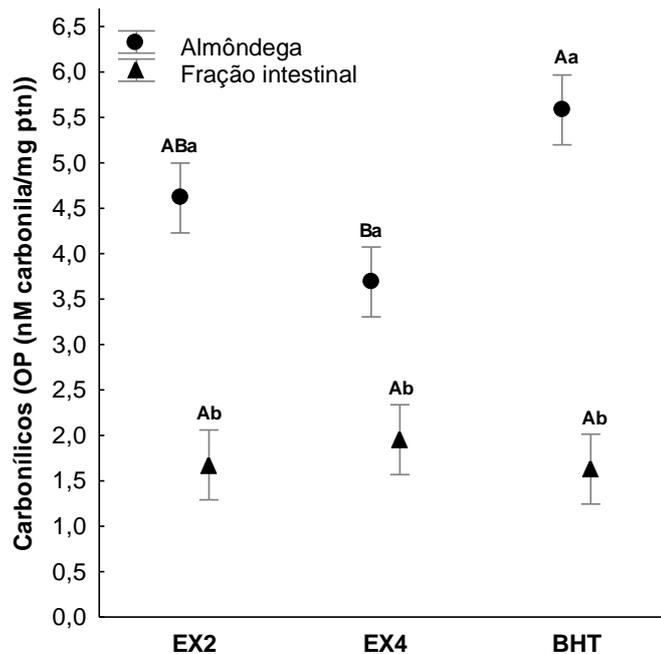
Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre si para cada tratamento ao longo do tempo e médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si para os diferentes tratamentos em cada intervalo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Quando submetidas à digestão simulada *in vitro*, as almôndegas do tratamento EX2, EX4 e BHT no tempo 0, apresentaram uma redução importante do conteúdo de carbonílicos na fração intestinal (Figura 12). Embora o tratamento EX4 tenha demonstrado um efeito protetor superior na almôndega íntegra, os valores expressos na fração intestinal nos três tratamentos não mostraram diferença estatisticamente significativa, o que sugere numa baixa disponibilidade deste composto para absorção após a ingestão.

Deste modo, estes resultados indicam que independente das concentrações adicionadas do extrato do bagaço de umbu-cajá às almôndegas, proporcionam proteção semelhante frente às reações de oxidação proteica, inclusive são tão eficientes quanto o antioxidante sintético BHT. Reforçando o potencial tecnológico do extrato como conservante alimentar e seu

potencial bioativo na promoção da saúde, ao agir como antioxidante e minimizar os riscos de acúmulo de substâncias potencialmente tóxicas.

Figura 12. Compostos carbonílicos de almôndegas íntegras (●) e fração intestinal (▲) da digestão *in vitro* simulada.



Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre si para cada tratamento e médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si no processo de digestão pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.7. Análise de componentes principais

A análise de componentes principais foi aplicada para avaliar o comportamento do extrato do bagaço de umbu-cajá em almôndegas caprinas pré-cozidas, em comparação ao uso de antioxidante sintético (BHT) e um controle (sem antioxidante). Esta análise foi realizada utilizando umidade, pH, cor instrumental, peróxidos, TBARS e carbonílicos como variáveis (Figura 13).

Figura 13. Gráfico de pontuação de Análise de Componentes Principais com base nos parâmetros de estabilidade e qualidade das almôndegas caprinas.

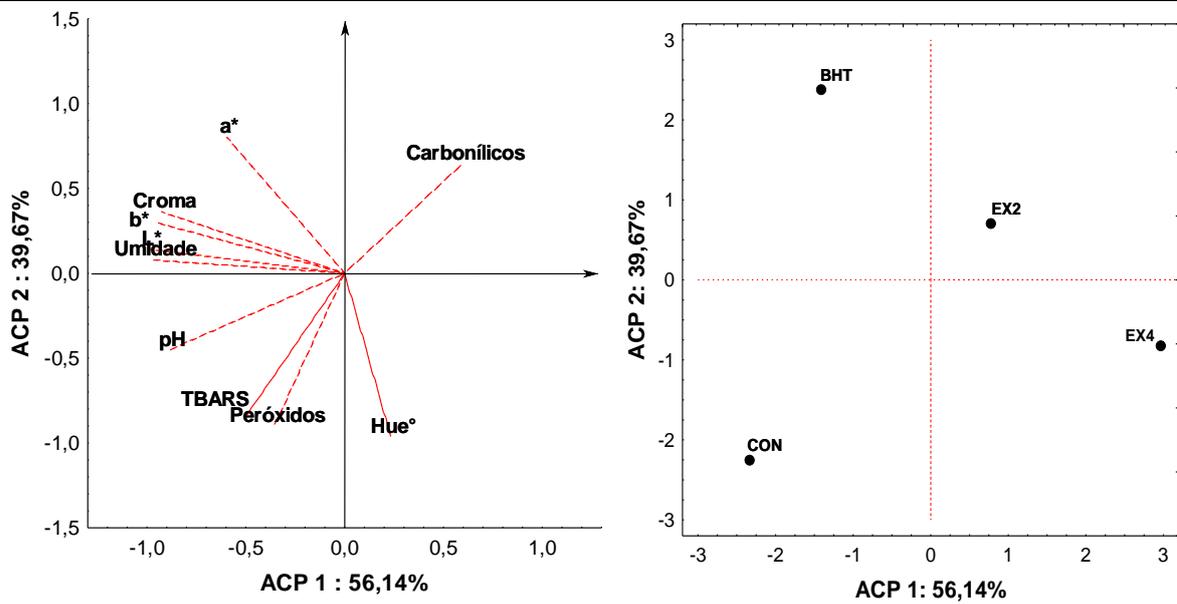


Tabela 6. Carga fatorial dos componentes principais

Variáveis	Carga fatorial	
	CP 1	CP 2
Umidade	- 0,971	0,077
pH	- 0,886	- 0,452
L*	- 0,989	0,141
a*	- 0,596	0,802
b*	- 0,948	0,295
C*	- 0,926	0,362
Hue	0,233	- 0,961
TBARS	- 0,504	- 0,848
Peróxido	- 0,354	- 0,899
Carbonílicos	0,596	0,648

Tabela 7. Variabilidade dos componentes principais

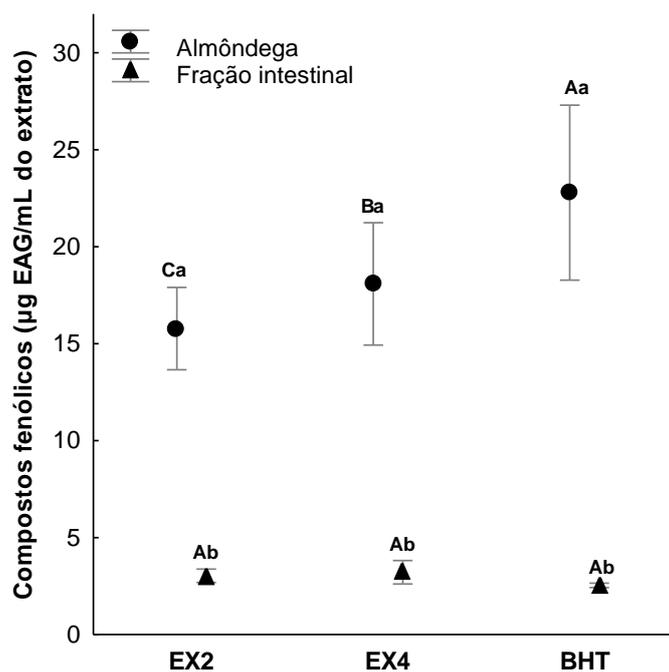
	Autovalores	% variação	Autovalores acumulados	% acumulado
1	5,614	56,142	5,614	56,142
2	3,966	39,665	9,580	95,808

3.8. Compostos fenólicos e atividade antioxidante

Ao determinar o teor de fenólicos totais nas almôndegas caprinas no seu estágio inicial e nas frações intestinais da digestão simulada, houve uma redução significativa destes compostos nesta última (Figura 14). A diminuição da bioacessibilidade é um aspecto comum em alguns alimentos, especialmente aqueles com matrizes complexas, como as almôndegas, constituídas de lipídios e proteínas, que são capazes de ligar-se aos fenólicos (DANTAS et al., 2023).

Como também, pode estar relacionada com a degradação destes compostos durante a acidificação gástrica e neutralização intestinal, a qual a mudança de pH é determinante na estabilidade dos fenólicos, ou até mesmo por oxidação enzimática, podendo ser parcialmente ou completamente degradadas em moléculas menores não detectáveis (NIGNPENSE et al., 2021; AKSOY; ARICI; YAMAN, 2022).

Figura 14. Compostos fenólicos de almôndegas antes (●) e depois (▲) da digestão *in vitro*.

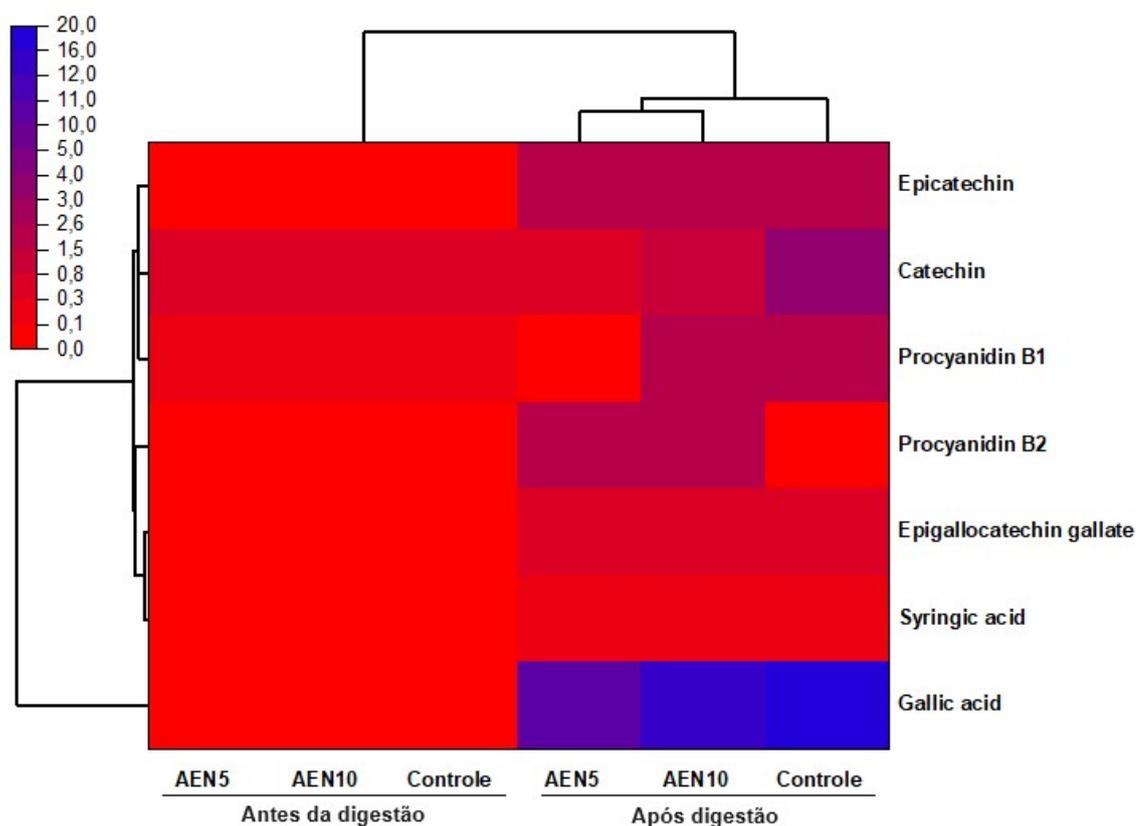


Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre si para cada tratamento e médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si no processo de digestão pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Entretanto, ao submeter a determinação do perfil fenólico das almôndegas antes e após a digestão simulada *in vitro*, os resultados revelaram um mapa de calor (Figura 15),

evidenciando a variação na detecção da quantidade de fenólicos na fração intestinal disponível para absorção.

Figura 15. Mapa de calor do perfil de fenólicos das almôndegas antes e após digestão simulada *in vitro*.



Onde, AEN5 corresponde ao tratamento EX2 (almôndega com extrato natural adicionado de volume equivalente a 0,5 g de sólidos totais do extrato/kg de produto); AEN10 corresponde ao tratamento EX4 (almôndega com extrato natural adicionado de volume equivalente a 1,0 g sólidos totais do extrato/kg de produto) e CONTROLE corresponde ao tratamento BHT (almôndega adicionada de 0,2 g de butilhidroxitololueno (BHT)/kg do produto).

Quanto à atividade antioxidante, foi avaliada a partir dos ensaios de ABTS e DPPH (Figura 16 e 17), devido às modificações de pH alterarem a estrutura dos compostos fenólicos que influenciam na determinação da atividade antioxidante e as condições experimentais dos métodos serem distintas (AKSOY; ARICI; YAMAN, 2022).

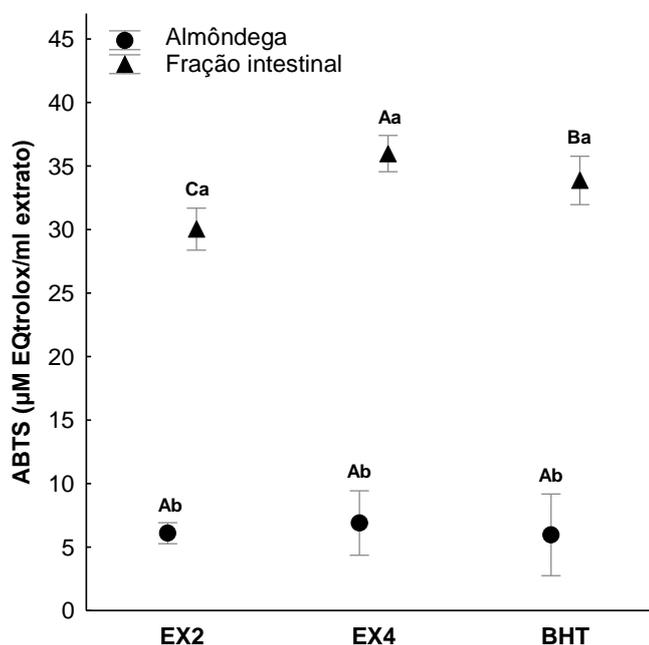
Quando submetidas a ambos os ensaios, todos os tratamentos demonstraram aumento na capacidade antioxidante das frações intestinais em comparação com o alimento íntegro. Este comportamento também foi observado por estudos que analisaram a capacidade antioxidante

in vitro em hambúrguer bovino com adição de chia e gojiberry (ANTONINI et al., 2020) e em produtos cárneos com adição de hardaliye (AKSOY; ARICI; YAMAN, 2022).

A mudança de pH do meio ácido para ligeiramente alcalino pode melhorar a capacidade antioxidante da matriz alimentar, causando desprotonação das porções hidroxila nos anéis aromáticos dos compostos fenólicos (BOUAYED et al., 2011). Além disso, as carnes contêm naturalmente antioxidantes hidrofílicos e lipofílicos, que contribuem moderadamente para promoção de um ambiente antioxidante (ANTONINI et al., 2020).

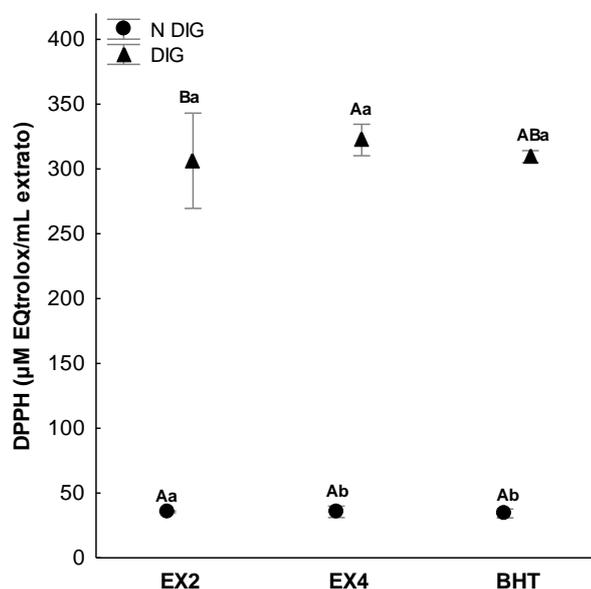
Desta forma, a dose do extrato de umbu-cajá utilizada foi capaz de promover uma ação antioxidante não só na estabilidade oxidativa das almôndegas, mas também na diminuição dos malonaldeídos e carbonílicos na fração intestinal simulada. Como também, capaz de manter o equilíbrio redox contra oxidantes prejudiciais, prevenindo doenças gastrointestinais ligadas à geração de espécies reativas de oxigênio durante os processos de digestão (BOUAYED et al., 2011).

Figura 16. Atividade antioxidante (ABTS) de almôndegas antes (●) e depois (▲) da digestão *in vitro*.



Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre si para cada tratamento e médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si no processo de digestão pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 17. Atividade antioxidante (DPPH) de almôndegas antes (●) e depois (▲) da digestão *in vitro*.



Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre si para cada tratamento e médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si no processo de digestão pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4. Conclusão

O método de extração assistida por ultrassom mostrou-se eficaz na extração de polifenóis do bagaço de umbu-cajá. As condições de extração foram otimizadas com 20 minutos de sonicação, concentração de etanol de 55% e relação bagaço/solvente de 1:36,8. Estes parâmetros facilitaram a extração eficiente dos compostos fenólicos contidos no resíduo de umbu-cajá, gerando um extrato rico em fenólicos bioacessíveis e com substancial capacidade antioxidante. As descobertas sugerem que certos grupos de moléculas antioxidantes no extrato são facilmente acessíveis ao metabolismo humano após o consumo.

A aplicação do extrato de bagaço de umbu-cajá em diferentes concentrações em almôndegas caprinas pré-cozidas sob armazenamento refrigerado apresenta efeito positivo no retardo da oxidação lipídica, mostrando comportamento similar ao antioxidante sintético utilizado. Os níveis de produtos da oxidação proteica das almondegas adicionadas do extrato de umbu-cajá após digestão simulada foram iguais a das amostras adicionadas do antioxidante sintético. Portanto, o extrato de umbu-cajá apresenta desempenho similar ao BHT, tendo potencial para substituir parcialmente ou totalmente o conservante sintético a depender da dose utilizada, configurando-se como uma alternativa sustentável, natural e barata de conservação

de produtos cárneos, além de contribuir para a valorização dos ecossistemas deprimidos economicamente e atender à demanda por bioinsumos de origem natural.

Tais resultados são promissores para a identificação de novas fontes de aditivos naturais para aplicação nos setores alimentício e farmacêutico. Pesquisas futuras deverão investigar o impacto da utilização desses extratos como aditivos naturais em diversas matrizes alimentares, assim como, avaliar o efeito da aplicação destes extratos frente às propriedades sensoriais e microbiológicas de produtos cárneos.

REFERÊNCIAS

- ACOSTA-ESTRADA, B. A.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A.; SERNA-SALDÍVAR, S. O. Bound phenolics in foods, a review. **Food Chemistry**, v. 152, p. 46–55, 2014.
- AHMED, T. et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic content & antioxidant activity of hog plum (*Spondias pinnata* L. f. *kurz*) pulp by response surface methodology. **Heliyon**, v. 8, n. 10, p. e11109, 2022.
- AKSOY, A. S.; ARICI, M.; YAMAN, M. The effect of hardaliye on reducing the formation of malondialdehyde during in vitro gastrointestinal digestion of meat products. **Food Bioscience**, v. 47, p. 101747, 2022.
- ALIREZALU, K. et al. Phytochemical constituents, advanced extraction technologies and techno-functional properties of selected Mediterranean plants for use in meat products. A comprehensive review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 100, p. 292–306, 2020.
- ANTONINI, E. et al. Nutritional, antioxidant and sensory properties of functional beef burgers formulated with chia seeds and goji puree, before and after in vitro digestion. **Meat Science**, v. 161, p. 108021, 2020.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analyses of AOAC International**, 20 ed. Maryland: AOAC, 2016.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70–76, 1996.
- BOUAYED, J.; HOFFMANN, L.; BOHN, T. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake, **Food Chemistry**, v.128, n.1, p.14-21, 2011.
- 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.
- BRUSTOLIN, A. P. et al. Stability at 22 °C of type bologna mortadella elaborated in industrial unit. **British Food Journal**, v. 123, n. 6, p. 2123-2138, 2021.
- CAGDAS, E.; KUMCUOGLU, S. Effect of grape seed powder on oxidative stability of precooked chicken nuggets during frozen storage. **J Food Sci Technol**, v. 52, n. 5, p. 2918–2925, 2015.
- CAMPO, M. M. et al. Flavour perception of oxidation in beef. **Meat Science**, v. 72, p. 303–311, 2006.
- CRIZEL, T. M. et al. Effects of Orange by product fiber incorporation on the functional and technological properties of pasta. **Food Science and Technology**, v. 35, n. 3, p. 546-551, 2015.
- DANTAS, A. M. et al. Bioaccessibility of phenolic compounds in native and exotic frozen pulps explored in Brazil using a digestion model coupled with a simulated intestinal barrier. **Food Chemistry**, v. 274, p. 202–214, 2019.

DANTAS, A. M. et al. Gastrointestinal digestion assays for evaluating the bioaccessibility of phenolic compounds in fruits and their derivatives: an overview. **Food Research International**, v. 170, p. 112920, 2023.

DIAS, J. L. et al. Extraction of umbu (*Spondias tuberosa*) seed oil using CO₂, ultrasound and conventional methods: Evaluations of composition profiles and antioxidant activities. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.145, p. 10-18, 2019.

DUTRA, M.D.C.P.; RODRIGUES, L.L.; DE OLIVEIRA, D.; PEREIRA, G.E.; DOS SANTOS LIMA, M. (2018). Integrated analyses of phenolic compounds and minerals of Brazilian organic and conventional grape juices and wines: Validation of a method for determination of Cu, Fe and Mn. **Food Chemistry**, v.269, p.157-165, 2018.

DUTRA, R. L. T. et al. Bioaccessibility and antioxidant activity of phenolic compounds in frozen pulps of Brazilian exotic fruits exposed to simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, v. 100, p. 650–657, 2017.

ESMAEILI, H. et al. Incorporation of nanoencapsulated garlic essential oil into edible films: A novel approach for extending shelf life of vacuum-packed sausages. **Meat Science**, v. 166, p. 108135, 2020.

ESTÉVEZ, M. Critical overview of the use of plant antioxidants in the meat industry: Opportunities, innovative applications and future perspectives. **Meat Science**, v. 181, p. 108610, 2021.

GANHÃO, R.; ESTÉVEZ, M.; MORCUENDE, D. Suitability of the TBA method for assessing lipid oxidation in meat system with added phenolic-rich material. **Food Chemistry**, v. 126, p. 772–778, 2011.

GHIMIRE, A; PAUDEL, N.; POUDEL, R. Effect of pomegranate peel extract on the storage stability of ground buffalo (*Bubalus bubalis*) meat. **LWT**, v. 154, p. 112690, 2022.

GUALBERTO, N. C. et al. Bioactive compounds and antioxidant activities in the agro-industrial residues of acerola (*Malpighiaemarginata* L.), guava (*Psidiumguajava* L.), genipap (*Genipa americana* L.) and umbu (*Spondias tuberosa* L.) fruits assisted by ultrasonic or shaker extraction. **Food Research International**, v. 147, p. 110538, 2021.

GUNATHILAKE, K.D.P.P. ; RANAWEERA, K.K.D.S. ; RUPASINGHE, H.P.V. Change of phenolics, carotenoids, and antioxidant capacity following simulated gastrointestinal digestion and dialysis of selected edible green leaves. **Food Chemistry**, v. 245, p. 371-379, 2018.

GUYON, C.; MEYNIER, A.; LAMBALLERIE, M. Protein and lipid oxidation in meat: A review with emphasis on highpressure treatments. **Trends in Food Science & Technology**, v. 50, p. 131-143, 2016.

HAZRA, B.; BISWAS, S.; MANDAL, N. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Spondias pinnata*. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v.8, n.63, 2008. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-8-63>

IDF. International Dairy Federation. Anhydrous Fat, Determination of Peroxide Value. **IDF Standard 74A**; IDF: Brussels, Belgium, 1991.

- JIA, W.; DI, C.; SHI, L. Applications of lipidomics in goat meat products: Biomarkers, structure, nutrition interface and future perspectives. **Journal of Proteomics**, v. 270, p. 104753, 2023.
- JOVANOVIĆ, A. A.; ĐORĐEVIĆ, V. B.; ZDUNIĆ, G. M.; PLJEVLJAKUŠIĆ, D. S.; ŠAVIKIN, K. P.; GOĐEVAC, D. M.; BUGARSKI, B. M. Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration, heat- and ultrasound-assisted techniques. **Separation and Purification Technology**, v. 179, p. 369–380, 2017.
- LIMA, E. D. P. A.; LIMA, C. A. A.; ALDRIGUE, M. L.; GONDIM, P. J. S. Physical and chemical characterization on the fruits of umbu-cajazeira (*Spondias* spp) in five ripening stages, frozen pulp and nectar. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 2, p. 338–343, 2002.
- MACÊDO, E. L. C.; PIMENTEL, T. C.; MORAIS, J. S.; MELO, D. S.; SOUZA, A. C.; LIMA, M. S.; SAMPAIO, K. B.; RODRIGUES, N. P. A.; DIAS, D. R.; SOUZA, E. L.; SCHWAN, R. F.; MAGNANI, M. Effects of yeast fermented soursop and umbu-cajá pulps on the colonic microbiota of middle-aged hypertensive adults. **Food Bioscience**, v. 51, p. 102309, 2023.
- MANESSIS, G. et al. Plant-derived natural antioxidants in meat and meat products. **Antioxidants**, v. 9, n. 12, p. 1–30, 2020.
- MANZOOR, A.; AHMAD, S.; YOUSUF, B. Effect of bioactive-rich mango peel extract on physicochemical, antioxidant and functional characteristics of chicken sausage. **Applied Food Research**, v. 2, p. 100183, 2022.
- MCCLEMENTS, D.J.; PENG, S.F. Current status in our understanding of physicochemical basis of bioaccessibility. **Current Opinion in Food Science**, v.31, p.57-62, 2020.
- MEHTA, B. M.; DARJI, V. B.; APARNATHI, K. D. Comparison of five analytical methods for the determination of peroxide value in oxidized ghee. **Food Chemistry**, v. 185, p. 449-453, 2015.
- MOHAMMADPOUR, H.; SADRAMELI, S. M.; ESLAMI, F.; ASOODEH, A. Optimization of ultrasound-assisted extraction of *Moringa peregrina* oil with response surface methodology and comparison with Soxhlet method. **Industrial Crops and Products**, v. 131, p. 106–116, 2019.
- MOREIRA, A. C. C. G.; NASCIMENTO, J. D. M.; ANDRADE, R. A. M. DE S.; MACIEL, M. I. S.; MELO, E. DE A. Bioactive phytochemicals in fruits from genotypes of “cajá-umbuzeiras”. **Brazilian Journal of Food & Nutrition**, v. 23, n. 2, p. 235–241, 2012.
- MOSTAFA, H. S.; AZAB, E. F. E. Efficacy of green coffee as an antioxidant in beef meatballs compared with ascorbic acid. **Food Chemistry: X**, v. 14, p. 100336, 2022.
- MULET-CABERO, A. I. et al. A standardised semi-dynamic in vitro digestion method suitable for food– an international consensus. **Food Funct.**, v. 11, p. 1702–1720, 2020.
- NAWAZ, A et al. Protein oxidation in muscle-based products: Effects on physicochemical properties, quality concerns, and challenges to food industry. **Food Research International**, v. 157, p. 111322, 2022.
- NIGNPENSE, B. E. et al. Bioaccessibility and Bioactivity of Cereal Polyphenols: A Review. **Foods**, v. 10, n. 7, p. 1595, 2021.

NISHAD, J. et al. Synergistic effects of nutmeg and citrus peel extracts in imparting oxidative stability in meat balls. **Food Research International**, v. 106, p.1026-1036, 2018.

OLIVER, C. N., AHN, B. W., MOERMAN, E.J., GOLDSTEIN, S., STADTMAN, E. R. Age-related changes in oxidized proteins. **Journal of Biological Chemistry**, v. 262, n. 12, p. 5488-5491, 1987.

OMENA, C. M. B.; VALENTIM, I. B.; GUEDES, G. DA S.; RABELO, L. A.; MANO, C. M.; BECHARA, E. J. H.; SAWAYA, A. C. H. F.; TREVISAN, M. T. S.; DA COSTA, J. G.; FERREIRA, R. C. S.; SANT'ANA, A. Ô. E. G.; GOULART, M. O. F. Antioxidant, anti-acetylcholinesterase and cytotoxic activities of ethanol extracts of peel, pulp and seeds of exotic Brazilian fruits. Antioxidant, anti-acetylcholinesterase and cytotoxic activities in fruits. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 334–344, 2012.

ÖZCAN, A. U. et al. Effect of ohmic cooking followed by an infrared cooking method on lipid oxidation and formation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) of beef muscle. **Grasas Y Aceites**, v. 69, n. 4, p. 279, 2018.

PADILHA, C.V.S.; MISKINIS, G.A.; SOUZA, M.E.A.O.; PEREIRA, G.E.; OLIVEIRA, D.; BORDIGNON-LUIZ, M.T.; LIMA, M.D.S. Rapid determination of flavonoids and phenolic acids in grape juices and wines by RP-HPLC/DAD: Method validation and characterization of commercial products of the new Brazilian varieties of grape. **Food Chemistry**, v.228, p.106-115, 2017.

PISOSCHI, A. M. et al. Oxidative stress mitigation by antioxidants - An overview on their chemistry and influences on health status. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 209, p.112891, 2021.

RAHMAN, M. H. et al. Comprehensive effects of black cumin (*Nigella sativa*) and synthetic antioxidant on sensory and physicochemical quality of beef patties during refrigerant storage. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 4, p. 100145, 2021.

RIBEIRO, L. O. et al. Umbu Fruit Peel as Source of Antioxidant, Antimicrobial and α -Amylase Inhibitor Compounds. **Molecules**, v. 27, n. 2, p. 410, 2022.

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

RUFINO, M. S. M. et al. Determination of total antioxidant activity in fruits by capturing the free radical ABTS+. **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, v. 128, p. 1-4, 2007.

SANTANA NETO, D. C. et al. Inhibition of protein and lipid oxidation in ready-to-eat chicken patties by a *Spondias mombin* L. bagasse phenolic-rich extract. **Foods**, v. 10, p. 1338, 2021.

SANTANA NETO, D.C. et al. Solid–liquid extraction of bioactive compounds from *Spondias mombin* L. by-products: optimization and identification of phenolic profile. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 39, n. 2, p. 511–525, 2022.

SEMB, T. N. Analytical Methods for Determination of the Oxidative Status in Oils. **Norwegian University of Science and Technology**, 2012. Disponível em: https://ntnuopen.ntnu.no/ntnu-xmlui/bitstream/handle/11250/245799/536470_FULLTEXT01.pdf?sequence=2&isAllowed=y. Acessado em novembro de 2020.

SHARAYEI, P.; AZARPAZHOOH, E.; ZOMORODI, S.; RAMASWAMY, H. S. Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from pomegranate (*Punica granatum L.*) peel. **LWT - FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY**, v. 101, p. 342–350, 2019.

SILVA JÚNIOR, M. E. et al. Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from ciriguela (*Spondiaspurpurea L.*) peel: Optimization and comparison with conventional extraction and microwave. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 14, p.103260, 2021.

SILVA, G. S. et al. Microencapsulation of organic coffee husk polyphenols: Effects on release, bioaccessibility, and antioxidant capacity of phenolics in a simulated gastrointestinal tract. **Food Chemistry**, v. 434, p. 137435, 2024.

SOUSA, T. C. A. et al. Oxidative stability of green weakfish (*Cynoscion virescens*) by-product surimi and surimi gel enhanced with a *Spondias mombin L.* waste phenolic-rich extract during cold storage. **Food Bioscience**, v. 50, p. 102021, 2022.

SOUZA, M. P. et al. Oxidative and storage stability in beef burgers from the use of bioactive compounds from the agro-industrial residues of passion fruit (*Passiflora edulis*). **Food Bioscience**, v. 48, p. 101823, 2022.

STOOKEY, L. L. Ferrozine-A New Spectrophotometric Reagent for Iron. **Analytical Chemistry**, v. 42, n. 7, p. 779–781, 1 jun. 1970.

TURAN, E.; ŞİMŞEK, A. Effects of lyophilized black mulberry water extract on lipid oxidation, metmyoglobin formation, color stability, microbial quality and sensory properties of beef patties stored under aerobic and vacuum packaging conditions. **Meat Science**, v. 178, p. 108522, 2021.

TURGUT, S. S.; İŞIKÇI, F.; SOYER, A. Antioxidant activity of pomegranate peel extract on lipid and protein oxidation in beef meatballs during frozen storage. **Meat Science**, v. 129, p. 111–119, 2017.

WATERHOUSE, A. L. Determination of Total Phenolics. In: **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2002. v. 6p. 11.1.1-11.1.8.

WU, C. et al. Influence of finishing systems on hydrophilic and lipophilic oxygen radical absorbance capacity (ORAC) in beef, **Meat Science**, v. 80, n. 3, 662-667, 2008.

ZHANG, B.; ZHANG, Y.; LI, H.; DENG, Z.; TSAO, R. A review on insoluble-bound phenolics in plant-based food matrix and their contribution to human health with future perspectives. **Trends in Food Science & Technology**, v.105, p.347-362, 2020.

ZHANG, Y. et al. Understanding beef flavour and overall liking traits using two different methods for determination of thiobarbituric acid reactive substance (TBARS). **Meat Science**, v. 149, p. 114-119, 2019.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados obtidos, pode-se concluir que:

- a) A recuperação de fenólicos do bagaço de umbu-cajá utilizando 55% de etanol, 20 minutos de sonicação e uma relação substrato:solvente de 1:36,8 deu origem a um extrato rico em compostos fenólicos e com elevada atividade antioxidante;
- b) Os extratos apresentaram valores intermediários de bioacessibilidade para alguns compostos fenólicos, com destaque para o ácido gálico;
- c) A aplicação do extrato de bagaço de umbu-cajá em diferentes concentrações em almôndegas caprinas pré-cozidas sob armazenamento refrigerado apresenta efeito positivo no retardo da oxidação lipídica, mostrando comportamento similar ao antioxidante sintético utilizado
- d) A incorporação dos diferentes níveis de extrato do bagaço do umbu-cajá manteve a concentração de produtos da oxidação proteica das almôndegas caprinas nos mesmos níveis das amostras adicionadas do antioxidante sintético
- e) O extrato de umbu-cajá apresenta potencial para uso como aditivo natural na indústria da carne, configurando-se como alternativa sustentável, natural e barata para conservação dos derivados cárneos

Faz-se necessário a realização de estudos posteriores que abordem a aplicação destes extratos frente às propriedades sensoriais tanto de almôndegas caprinas pré-cozidas sob refrigeração, como também em produtos cárneos em geral.