



UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE EDUCAÇÃO SUPERIOR DO OESTE – CEO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**OBTENÇÃO DE EXTRATOS DA POLPA DO
FRUTO DO TARUMÃ PARA APLICAÇÃO
COMO ANTIOXIDANTE EM HAMBÚRGUER**

LARISSA KARLA MONTEIRO

PINHALZINHO, 2020.

LARISSA KARLA MONTEIRO

**OBTENÇÃO DE EXTRATOS DA POLPA DO FRUTO DO TARUMÃ PARA
APLICAÇÃO COMO ANTIOXIDANTE EM HAMBÚRGUER**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Dra. Darlene Cavalheiro.

Coorientadora: Dra. Georgia Ane Raquel Sehn.

**Pinhalzinho, SC
2020**

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CEO/UEDESC,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Monteiro, Larissa Karla

Obtenção de extratos da polpa do fruto do tarumã para aplicação como antioxidante em hambúrguer / Larissa Karla Monteiro. -- 2021.

128 p.

Orientadora: Darlene Cavalheiro

Coorientadora: Georgia Ane Raquel Sehn

Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Chapecó, 2021.

1. Vitex megapotamica. 2. Extrato aquoso. 3. Compostos bioativos. 4. Bioatividades. 5. Oxidação lipídica. I. Cavalheiro, Darlene. II. Sehn, Georgia Ane Raquel. III. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. IV. Título.

LARISSA KARLA MONTEIRO

**OBTENÇÃO DE EXTRATOS DA POLPA DO FRUTO DO TARUMÃ PARA
APLICAÇÃO COMO ANTIOXIDANTE EM HAMBÚRGUER**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dra. Darlene Cavalheiro – Orientadora

Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC



Prof. Dr. Odivan Zanella

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul – IFRS
SERTÃO



Prof. Dra. Elisandra Rigo

Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC

Prof. Dra. Anieli Pinto Kempka

Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC

Pinhalzinho - SC, 20 de novembro de 2020.

Dedico este trabalho aos meus pais, minha irmã e cunhado, meu namorado, meus irmãos de coração que compartilharam desta conquista demonstrando apoio, amor, carinho e incentivo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por ter me dado força, perseverança, para vencer os obstáculos que apareceram durante a minha jornada, por ouvir minhas orações e me direcionar pelos melhores caminhos e assim concluir com sucesso esta importante etapa da minha vida.

Aos meus pais Noemi e Antonio, minha irmã Jaqueline e cunhado Daniel por todo amor, carinho, apoio, por terem acreditado no meu potencial, pela compreensão nos momentos difíceis, por todas as palavras que vieram em boa hora, por serem o meu suporte, meu porto seguro para vencer todos os obstáculos. Pois, mesmo com medo de me deixar em um lugar desconhecido, apesar das lágrimas e da saudade diária, me deram força e apoio para continuar, e estiveram sempre prontos para dar um abraço acolhedor ou ouvir minhas reclamações e desabafos, eu amo muito vocês!

Ao meu namorado Rafael Nazario por todo apoio, pela compreensão, por ter acreditado em mim, por sempre me dizer para continuar mesmo quando tudo estava dando errado, por ter sido meu parceiro, por, apesar da distância estar presente, obrigada por estar na minha vida, eu te amo!

À minha orientadora Prof. Dra. Darlene Cavalheiro pela oportunidade de realizar este trabalho, pela confiança, dedicação, apoio e por todos os ensinamentos compartilhados nesse momento de aprendizagem e autoconhecimento. À minha coorientadora Prof. Dra. Georgia Ane Raquel Sehn agradeço o carinho, apoio, conversas, ensinamentos e orientações. Vocês contribuíram muito para meu aprendizado intelectual e pessoal. Muito Obrigada!

Às minhas meninas, amigas, parceiras, obrigada pelas ajudas nos experimentos, nas análises, nas equações, vocês contribuíram muito para este trabalho, sou eternamente grata a vocês, esta conquista tem um pedacinho de cada uma de vocês Carolina Fischer, Adrieli Maiandra Piccinin do Amaral, Ana Karolina Cherobin, , Sabrina Schaefer, Bruna Sivieiro, Alessandra Orellana Luvizotti, Cristiane Carla Bugs, Érica Paganini Maia. muito obrigada meninas. Agradeço a parceria de laboratório Mônica Naiara Schmeier, Danielle Specht Malta, Alexandra de Carvalho, Isadora Gazoni, Pâmela Lima, pelas conversas, pelas risadas, pelo apoio mútuo.

À banca composta pelo Prof. Dr. Odivan Zanella e Prof. Dra. Elisandra Rigo agradeço pela disponibilidade, pelo conhecimento transmitido, pelas considerações realizadas para melhorar este trabalho. Muito obrigada!

Aos meus amigos por estarem ao meu lado, pelo apoio, pelas palavras de motivação, pela amizade, carinho. Aos colegas e amigos que conquiste no mestrado pelas caronas, apoio, contribuições, pelos momentos de alegria, de crescimento, de desabafo e frustrações, pela motivação, pelo conhecimento transmitido, obrigado, sempre estarão em meu coração.

Aos professores do programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UDESC, pela oportunidade e conhecimento transmitido. Aos vigilantes e prestadores de serviço pelo companheirismo e pelas boas risadas, aos alunos da UDESC – Pinhalzinho que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, obrigado.

Agradeço a técnica de laboratório IFRS – *Campus* Sertão Denise Bilibio pela ajuda na análise de cromatografia líquida, disponibilidade, amizade, conversas, paciência. Ao Prof. Dr. Alex Molina Manfredi pelo auxílio na análise de minerais.

Agradeço a Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, Centro Superior do Oeste – CEO Pinhalzinho, o Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia em Alimentos, pela bolsa de monitoria PROMOP para que eu pudesse realizar e concluir o mestrado. Também agradeço a disponibilização de todos os laboratórios da UDESC para uso durante o mestrado.

À ICL pelo fornecimento dos antioxidantes utilizados no trabalho, mostrando-se sempre solícitos.

Em suma, a todos que fizeram parte desta etapa, que contribuíram de diversas maneiras para meu crescimento pessoal e para cada detalhe deste trabalho, meu respeito, gratidão, amizade, que Deus abençoe a todos nós. Muito Obrigada!

No que diz respeito ao empenho, ao compromisso, ao esforço, à dedicação, não existe meio termo. Ou você faz uma coisa bem feita ou não faz.
(Ayrton Senna).

RESUMO

Frutas e vegetais apresentam-se como fontes de substâncias bioativas como os compostos fenólicos que apresentam atividade antioxidante capazes de retardar ou inibir a oxidação lipídica. Neste sentido, o presente estudo teve como objetivo a caracterização físico-química e a determinação da atividade antioxidante de extratos obtidos da polpa do fruto do tarumã em pó, posterior utilização de planejamento experimental para otimização do processo de extração, com aplicação do extrato em hambúrgueres de carne bovina. As amostras de tarumã foram coletadas em dois estádios de maturação, na cidade de Sertão-RS, para as quais realizou-se caracterização físico-química, análise de minerais e determinação das atividades antioxidantes e anti-inflamatória. Para a otimização do processo de extração foi empregado um planejamento experimental *Plackett-Burman*, no qual as variáveis estudadas foram o pH, a relação sólido:líquido (água), a agitação e a temperatura. O tempo de extração foi fixado em 3 horas. Os extratos obtidos foram avaliados quanto a atividade antioxidante pelos métodos ABTS e DPPH e quanto aos compostos fenólicos totais pelo método Folin-Ciocalteu. O extrato obtido na melhor condição determinada pelo planejamento foi avaliado quanto aos teores de flavonoides, antocianinas, carotenoides e identificação de compostos bioativos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Após a obtenção e caracterização dos extratos na melhor condição de extração estes foram aplicados em hambúrgueres bovinos. Os hambúrgueres foram elaborados com adição de eritorbato de sódio, licresse, extrato de tarumã, além da mistura de eritorbato de sódio e extrato de tarumã e do controle (sem antioxidantes). Amostras de todas as formulações foram avaliadas por análises físico-químicas, tecnológicas e físicas, ao longo de 180 dias de armazenamento congelado. Quanto a composição, os frutos do tarumã apresentaram diferença significativa para os teores de açúcares, sendo estes maiores nos frutos maduros. Ambos os estádios de maturação apresentaram valores significativos de potássio, cálcio e magnésio, e para a anti-inflamatória, com resultados promissores. Através do planejamento experimental foi definida a melhor condição de extração com pH 5, relação sólido:líquido de 1:30, agitação de 100 rpm, com temperatura de 80 °C, obtendo 104,21 mg EAG.100 g⁻¹ para compostos fenólicos totais, 742,71 µmol Trolox.g⁻¹ para ABTS e EC₅₀ de 2884,98 para DPPH. A partir da CLAE foi detectada a presença de ácido fumárico, ácido gálico, ácido *p*-cumárico e ácido cafeico nos extratos. Os hambúrgueres com adição do extrato de tarumã não apresentaram diferenças significativas aos demais com relação a caracterização físico-química, força de cisalhamento, atividade de água, capacidade de retenção de água e porcentagem de encolhimento. Por outro lado, apresentaram melhor comportamento comparado aos com adição de eritorbato de sódio, para perda de massa na cocção. A coloração da formulação com extrato de tarumã se manteve estável, o aumento nos valores de TBARS indicou que todas as amostras apresentaram oxidação lipídica, porém, a formulação com extrato de tarumã não diferiu da com eritorbato de sódio, indicando que o extrato apresenta potencial para redução da oxidação. No entanto, sugere-se que o extrato seja concentrado para posterior aplicação nos hambúrgueres e que estes sejam avaliados sensorialmente.

Palavras-chave: *Vitex megapotamica*. Extrato aquoso. Compostos bioativos. Bioatividades. Oxidação lipídica. Hambúrgueres.

ABSTRACT

Fruits and vegetables are sources of bioactive substances such as phenolic compounds that have antioxidant activity capable of delaying or inhibiting lipid oxidation. In this sense, the present study aimed at the physical-chemical characterization and the determination of the antioxidant activity of extracts obtained from the pulp of the tarumã fruit powder, later use of experimental planning to optimize the extraction process, with application of the extract in hamburgers of beef. The tarumã samples were collected in two maturation stages, in the city of Sertão-RS, for which physical-chemical characterization, analysis of minerals and determination of antioxidant and anti-inflammatory activities were carried out. For the optimization of the extraction process, a Plackett-Burman experimental design was used, in which the studied variables were pH, the solid: liquid (water) ratio, agitation and temperature. The extraction time was fixed at 3 hours. The extracts obtained were evaluated for antioxidant activity by ABTS and DPPH methods and for total phenolic compounds by the Folin-Ciocalteu method. The extract obtained in the best condition determined by the planning was evaluated for the levels of flavonoids, anthocyanins, carotenoids and identification of bioactive compounds by high performance liquid chromatography (HPLC). After obtaining and characterizing the extracts in the best extraction condition, they were applied to beef hamburgers. The hamburgers were made with the addition of sodium erythorbate, licresse, tarumã extract, in addition to the mixture of sodium erythorbate and tarumã extract and the control (without antioxidants). Samples of all formulations were evaluated by physical-chemical, technological and physical analyzes, over 180 days of frozen storage. As for the composition, the tarumã fruits showed a significant difference for the contents of sugars, being this higher in the ripe fruits. Both maturation stages showed significant values for potassium, calcium and magnesium, and for anti-inflammatory, with promising results. Through the experimental planning, the best extraction condition was defined with pH 5, solid: liquid ratio of 1:30, agitation of 100 rpm, with a temperature of 80 °C, obtaining 104.21 mg EAG.100 g⁻¹ for total phenolic compounds , 742.71 µmol Trolox.g⁻¹ for ABTS and EC50 of 2884.98 for DPPH. From the HPLC, the presence of fumaric acid, gallic acid, *p*-cumaric acid and caffeic acid was detected in the extracts. The hamburgers with the addition of the tarumã extract showed no significant differences from the others with respect to physical-chemical characterization, shear force, water activity, water retention capacity and shrinkage percentage. On the other hand, they showed better behavior compared to the addition of sodium erythorbate, for loss of mass in cooking. The coloring of the formulation with tarumã extract remained stable, the increase in TBARS values indicated that all samples showed lipid oxidation, however, the formulation with tarumã extract did not differ from that with sodium erythorbate, indicating that the extract has potential for oxidation reduction. However, it is suggested that the stratum be concentrated for later application in hamburgers and that these be evaluated sensorially.

Keywords: *Vitex megapotamica*. Aqueous extract. Bioactive compounds. Bioactivities. Lipid oxidation. Hamburgers.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Exportação total de carne bovina por tonelada de produto em 2020.....	24
Figura 2 - Processamento de um produto reestruturado.	25
Figura 3 - Reação ocorrida entre o ácido tiobarbitúrico e o malonaldeído (MDA) formando o composto colorido.	29
Figura 4 - Estrutura química do ácido hidrobenzóico (A) e do ácido hidroxicinâmico (B)....	31
Figura 5 - Coloração resultante da análise de DPPH (2-,2-difenil-1-picrilhidrazil).	32
Figura 6 - Coloração resultante da análise de ABTS (2,2'-azino-bis(3-etil-benzotiazolina-6-sulfônico)).....	32
Figura 7 - Frutos do tarumã <i>in natura</i> em dois estádios de maturação: verdes (A) e maduros (B).....	33
Figura 8 - Folhas do tarumã.....	34
Figura 9 - Agitador orbital <i>shaker</i> com amostras.....	35
Figura 10 - Banho de ultrassom com amostras.	36
Figura 11 - Frutos imaturos (A), maduros (B) e as polpas em pó imatura (C) e madura (D) do tarumã nos diferentes estádios de maturação.	49
Figura 12 - Cinética de extração dos compostos fenólicos totais (CFT) (A), atividade antioxidante pela captura dos radicais ABTS (B) e DPPH (C) nos extratos da polpa madura do tarumã em pó.	66
Figura 13 - Diagrama de Pareto com os efeitos dos fatores investigados no planejamento experimental para obtenção de compostos fenólicos totais - CFT (A) e atividade antioxidante pelos radicais ABTS (B) e DPPH (C) nos extratos da polpa madura do tarumã em pó.....	68
Figura 14 - Teores de antocianinas (mg ECG.g ⁻¹ de amostra), carotenoides (mg.100 g ⁻¹ amostra) e flavonoides (mg EC.g ⁻¹ de amostra) (base seca) obtidos no extrato da polpa madura do tarumã em pó.	72
Figura 15 - Compostos identificados e os tempos de retenção obtidos na análise de cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE para o extrato da polpa madura do tarumã em pó.	74
Figura 16 - Resultados da cor instrumental L* (A), a* (B), b* (C) durante o armazenamento sob congelamento das amostras de hambúrguer bovino elaborado sem e com diferentes antioxidantes.....	86

Figura 17 - Resultados da cor instrumental °Hue (A), *C (B), ΔE (C) durante o armazenamento sob congelamento das amostras de hambúrguer bovino elaborado sem e com diferentes antioxidantes.....	88
Figura 18 - Amostras das formulações dos hambúrgueres de carne bovina elaborados sem e com diferentes antioxidantes: controle – sem antioxidantes (A), eritorbato de sódio (B), licresse (C), extrato de tarumã (D) e eritorbato de sódio/extrato de tarumã (E) ao longo do armazenamento.....	91
Figura 19 - Resultados para análise de pH durante o armazenamento sob congelamento das amostras de hambúrguer bovino elaborado sem e com diferentes antioxidantes.....	92
Figura 20 - Resultados para a oxidação lipídica (TBARS) durante o armazenamento sob congelamento das amostras de hambúrguer bovino elaborado sem e com diferentes antioxidantes.....	93

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização físico-química (base úmida) dos frutos do tarumã <i>in natura</i> em dois estádios de maturação.....	44
Tabela 2 - Análise de umidade e cor das polpas dos frutos do tarumã em pó (base seca) em dois estádios de maturação.....	47
Tabela 3 - Análise de minerais (base seca) das polpas em pó dos frutos do tarumã em dois estádios de maturação.....	50
Tabela 4 - Compostos fenólicos totais, atividades antioxidantes e anti-inflamatória (base seca) das polpas em pó dos frutos do tarumã em dois estádios de maturação.....	51
Tabela 5 - Variáveis independentes e níveis (valores reais e codificados) utilizados no planejamento experimental <i>Plackett-Burman</i> para extração dos compostos bioativos da polpa madura do tarumã em pó.	58
Tabela 6 - Ensaio do planejamento experimental <i>Plackett- Burman</i>	59
Tabela 7 - Identificação do composto através da massa carga (M/Z) e tempo de retenção (TR) para cada composto.	64
Tabela 8 - Resultados dos testes preliminares para definição do equipamento (agitador orbital <i>shaker</i> ou banho ultrassom) para extração dos compostos bioativos da polpa madura do tarumã em pó (base seca).....	65
Tabela 9 - Efeitos das variáveis independentes na obtenção de compostos bioativos dos extratos da polpa madura do tarumã em pó.....	68
Tabela 10 - Ensaio do planejamento experimental e respostas do teor dos compostos fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante pela captura dos radicais ABTS e DPPH (base seca) para os extratos da polpa madura do tarumã em pó.	70
Tabela 11 - Formulação da massa dos hambúrgueres.	79
Tabela 12 - Caracterização físico-química (base úmida) dos hambúrgueres bovino elaborado com diferentes antioxidantes.	84
Tabela 13 - Caracterização física e tecnológica dos hambúrgueres sem e com diferentes antioxidantes no período de 10 dias de armazenamento.	95

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTS	Ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)).
ABS	Absorbância.
ANOVA	Análise de Variância.
Aw	Atividade de água.
CFT	Compostos fenólicos totais.
CLAE	Cromatografia líquido de alta eficiência.
CRA	Capacidade de retenção de água.
CONT	Hambúrguer de carne bovina sem adição de antioxidantes.
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil.
EAG	Equivalente de Ácido Gálico.
EC	Equivalentes de Catequina.
ECG	Equivalentes de Cianidina-3-Glucósido.
ERI	Hambúrguer de carne bovina com adição de eritorbato de sódio.
ERI/EX	Hambúrguer de carne bovina com adição de eritorbato de sódio e extrato de tarumã.
EX	Hambúrguer de carne bovina com adição extrato de tarumã.
FC	Força de cisalhamento.
G	Gramas.
L	Litro
LIC	Hambúrguer de carne bovina com adição de licresse.
kg	Quilograma.
MDA	Malonaldeído.
mg	Miligrama.
mL	Mililitro
mm/s	Milímetro por segundo.
nm	Nanômetros.
N	Newton.
pH	Potencial hidrogeniônico.
PMC	Perda de massa por cocção.
RC	Rendimento na cocção.
RPM	Rotação por minuto.

TBARS	Ácido tiobarbitúrico.
TCA	Ácido tricloroacético.
TEP	1,1,3,3-tetraetoxipropano.
TROLOX	6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico.
μmol	Micromol.
μL	Micro litro.

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem.
EC ₅₀	O EC ₅₀ representa a concentração do composto para qual 50% do efeito é observado.
X ₁	pH.
X ₂	Relação sólido:líquido.
X ₃	Agitação.
X ₄	Temperatura.
°C	Grau Celsius.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	21
2. OBJETIVOS	23
2.1 Objetivo geral	23
2.2 Objetivos específicos	23
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	24
3.1 Carnes	24
3.2 Produtos reestruturados	25
3.2.1 Hambúrguer.....	26
3.3 Lipídios no processamento de produtos cárneos	27
3.4 Oxidação lipídica em cárneos	27
3.4.1 Quantificação da oxidação lipídica em cárneos	29
3.5 Antioxidantes	30
3.5.1 Antioxidantes naturais.....	31
3.6 Determinação de atividade antioxidante	32
3.6.1 Método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil).....	32
3.6.2 Método ABTS (2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)).....	32
3.7 Tarumã	33
3.8 Metodologias para extrações	34
4. CARACTERIZAÇÃO, AVALIAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E DE BIOATIVIDADES DA POLPA DOS FRUTOS DO TARUMÃ (<i>Vitex megapotamica</i>) EM DOIS ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO	37
4.1 INTRODUÇÃO	37
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.2.1 Colheita e preparo dos frutos	38
4.2.2 Caracterização físico-química dos frutos em diferentes estádios de maturação	38
4.2.3 Preparo dos extratos	39
4.2.3.1 Obtenção da polpa dos frutos em pó	39
4.2.3.2 Método de extração	40
4.2.4 Metodologias para quantificação dos compostos fenólicos e das atividades antioxidante e anti-inflamatórias	40

4.2.4.1 Compostos fenólicos totais.....	40
4.2.4.2 Atividade antioxidante pela captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)	41
4.2.4.3 Atividade antioxidante pela captura do radical ABTS (2,2'-azino-bis(ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)).....	41
4.2.4.4 Atividade anti-inflamatória	42
4.2.5 Análise estatística.....	43
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
4.3.1 Caracterização físico-química	44
4.3.2 Umidade e cor do tarumã em pó em dois estádios de maturação	47
4.3.3 Composição de minerais	49
4.3.4 Compostos fenólicos totais (CFT), atividades antioxidante (DPPH e ABTS) e anti-inflamatória dos extratos do tarumã em pó	51
4.4 CONCLUSÃO.....	54
5. SELEÇÃO DE VARIÁVEIS NO PROCESSO DE EXTRAÇÃO E AVALIAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DA POLPA EM PÓ DOS FRUTOS DO TARUMÃ (<i>Vitex megapotamica</i>).....	55
5.1 INTRODUÇÃO	55
5.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	56
5.2.1 Colheita e preparo dos frutos	56
5.2.2 Preparo dos extratos	56
5.2.2.1 Obtenção da polpa dos frutos em pó	56
5.2.2.2 Métodos de extração.....	57
5.2.3 Estudo de variáveis no processo de extração	57
5.2.3.1 Testes preliminares e estudo de tempo de extração.....	57
5.2.3.2 Delineamento experimental de extração.....	58
5.2.4 Metodologias para quantificação dos compostos fenólicos, das atividades antioxidantes, flavonoides totais, antocianinas totais, carotenoides e identificação de compostos por CLAE.....	59
5.2.4.1 Compostos fenólicos totais.....	59
5.2.4.2 Atividade antioxidante pela captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)	60
5.2.4.3 Atividade antioxidante pela captura do radical ABTS (2,2'-azino-bis(ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)).....	60

5.2.4.4 Flavonoides totais	61
5.2.4.5 Antocianinas totais	62
5.2.4.6 Carotenoides	62
5.2.4.7 Identificação de compostos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	63
5.2.5 Análise estatística.....	64
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
5.3.1 Estudo de variáveis no processo de extração	65
5.3.1.1 Testes preliminares	65
5.3.1.2 Estudo do tempo de extração.....	66
5.3.2 Delineamento experimental de extração	67
5.3.2.1 Avaliação dos efeitos das variáveis de extração na obtenção de compostos bioativos da polpa madura do tarumã em pó	67
5.3.2.2 Flavonoides totais, antocianinas totais e carotenoides do extrato da polpa madura do tarumã em pó	71
5.3.2.3 Identificação de compostos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	73
5.4 CONCLUSÃO.....	76
6. APLICAÇÃO DO EXTRATO DE TARUMÃ (<i>Vitex megapotamica</i>) COMO ANTIOXIDANTE EM HAMBÚRGUERES BOVINOS CONGELADOS.....	77
6.1 INTRODUÇÃO	77
6.2 MATERIAIS E MÉTODOS	78
6.2.1 Obtenção dos antioxidantes e demais ingredientes	78
6.2.2 Formulação dos hambúrgueres.....	78
6.2.3 Análises do produto.....	80
6.2.3.1 Caracterização físico-químicas.....	80
6.2.3.2 Estabilidade dos hambúrgueres durante o armazenamento sob congelamento .	80
6.2.3.2.1 pH.....	80
6.2.3.2.2 Cor	80
6.2.3.2.3 Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico - TBARS	81
6.2.3.3 Caracterização física e tecnológica.....	81
6.2.3.3.1 Atividade de água	81
6.2.3.3.2 Força de cisalhamento.....	82

6.2.3. 3.3 Rendimento na cocção	82
6.2.3.3.4 Porcentagem de encolhimento	82
6.2.3.3.5 Capacidade de retenção de água	83
6.2.4 Avaliação estatística.....	83
6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	84
6.3.1 Caracterização físico-químicas	84
6.3.2 Estabilidade dos hambúrgueres durante o armazenamento sob congelamento.....	85
6.3.3 Caracterização física e tecnológica	94
6.4 CONCLUSÃO.....	97
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	98
REFERÊNCIAS	99
APÊNDICE	124

1. INTRODUÇÃO

Tratando-se de alimentos, os consumidores encontrar-se mais atentos a tudo que consomem, pois estão preocupados em ter uma vida mais saudável. Essa tendência reflete no aumento do consumo de alimentos saudáveis no Brasil, que ocupa o 4º lugar no ranking global nesta categoria. Dados demonstram que nos cinco anos anteriores à 2017, o segmento de alimentos e bebidas saudáveis cresceu 12,3% ao ano. Neste mesmo ano o segmento movimentou R\$ 92,5 bilhões no País, isso significa um aumento, considerável, de 9,5% em comparação à 2012 (CARREIRO, 2019). Para atender este público, a indústria de alimentos busca alternativas entre aditivos e ingredientes naturais em substituição aos sintéticos, garantido que o produto tenha uma qualidade igual ou até mesmo superior àquele elaborado com antioxidantes sintéticos.

Entre as indústrias alimentícias, que tem inovado na área de alimentos saudáveis, destacam-se as de produtos cárneos. Estes necessitam a aplicação de antioxidantes em sua composição para que mantenham suas características nutricionais e sensoriais durante sua vida útil. Os produtos cárneos, em geral, são ricos em lipídeos que conferem características desejáveis como sabor, suculência e aroma, porém, tais compostos os tornam mais suscetíveis a alterações como a oxidação lipídica, sendo um dos desafios da indústria minimizar este efeito. A oxidação dos lipídios leva os produtos cárneos ao estado de rancificação, com a produção de compostos indesejáveis, o que afeta a conservação, assim como a aceitabilidade pelos consumidores (FAUSTMAN *et al.*, 2010; JÚNIOR *et al.*, 2013).

Dentre as alternativas para manter a vida útil dos produtos cárneos e seus derivados, a utilização de antioxidantes extraídos de fontes naturais vem ao encontro das expectativas da indústria e dos consumidores, sendo considerada assim uma estratégia importante e inovadora. Sabe-se que muitas frutas e vegetais tem capacidade antioxidante elevada, porém, ainda é um desafio a extração, identificação e a forma correta de aplicação destes compostos em substituição aos sintéticos, para que eles desenvolvam máxima eficiência potencial (BRUM, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2009).

A extração é o processo utilizado para obtenção de compostos bioativos, na qual o solvente age na estrutura do vegetal. O processo de extração sólido-líquido é a técnica que mais tem eficiência com base na otimização das condições de processo (NOVELLO, 2015; VIEIRA, 2015; MATTOS, 2017). Ainda, a fim de otimizar o experimento de extração pode-se aplicar ferramentas como o planejamento experimental, que se demonstra vantajoso pela possibilidade

de redução no número de ensaios, mas também leva em consideração as interações entre os fatores para permitir uma otimização abrangente (LI *et al.*, 2018).

Entre as fontes vegetais pouco exploradas e conhecidas, destaca-se o tarumã (*Vitex megapotamica*), um fruto nativo, presente em alguns estados do Brasil, em especial na região sul do país. Estudos realizados por Onofre *et al.* (2016) com as folhas desta árvore demonstram sua capacidade antioxidante por possuírem fenóis, antocianinas, catequinas, entre outros compostos além da presença de compostos medicinais como o alopurinol (composto utilizado em medicamentos para o ácido úrico) encontrado na infusão das folhas (OLIVEIRA, 2017).

Nesse sentido, o presente trabalho avaliou a capacidade antioxidante dos extratos aquosos da polpa do fruto do tarumã com posterior aplicação em hambúrguer a fim de verificar sua propensão para retardar a oxidação lipídica quando comparado aos antioxidantes comerciais, o qual resultou nos capítulos a seguir:

Capítulo 1 – Revisão bibliográfica;

Capítulo 2 – Caracterização, avaliação dos compostos fenólicos totais e de bioatividades da polpa dos frutos do tarumã (*Vitex megapotamica*) em dois estádios de maturação;

Capítulo 3 – Seleção de variáveis no processo de extração e avaliação dos compostos bioativos da polpa em pó dos frutos do tarumã (*Vitex megapotamica*);

Capítulo 4 – Aplicação do extrato de tarumã (*Vitex megapotamica*) como antioxidante em hambúrgueres bovinos congelados;

Capítulo 5 – Considerações finais.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a adição do extrato obtido da polpa do fruto do tarumã, como antioxidante natural em hambúrguer bovino observando o comportamento das características físico-químicas em comparação ao produto com antioxidantes comerciais.

2.2 Objetivos específicos

Realizar a caracterização das polpas dos frutos de tarumã coletados em diferentes estádios de maturação;

Obter os extratos aquosos da polpa do fruto de tarumã e avaliar a atividade antioxidante;

Avaliar a atividade anti-inflamatória dos extratos obtidos da polpa do fruto de tarumã;

Aplicar o extrato de tarumã e antioxidantes comerciais em hambúrgueres de carne bovina;

Acompanhar as características físico-químicas, físicas e tecnológicas, e a estabilidade dos hambúrgueres bovinos durante o armazenamento sob congelamento.

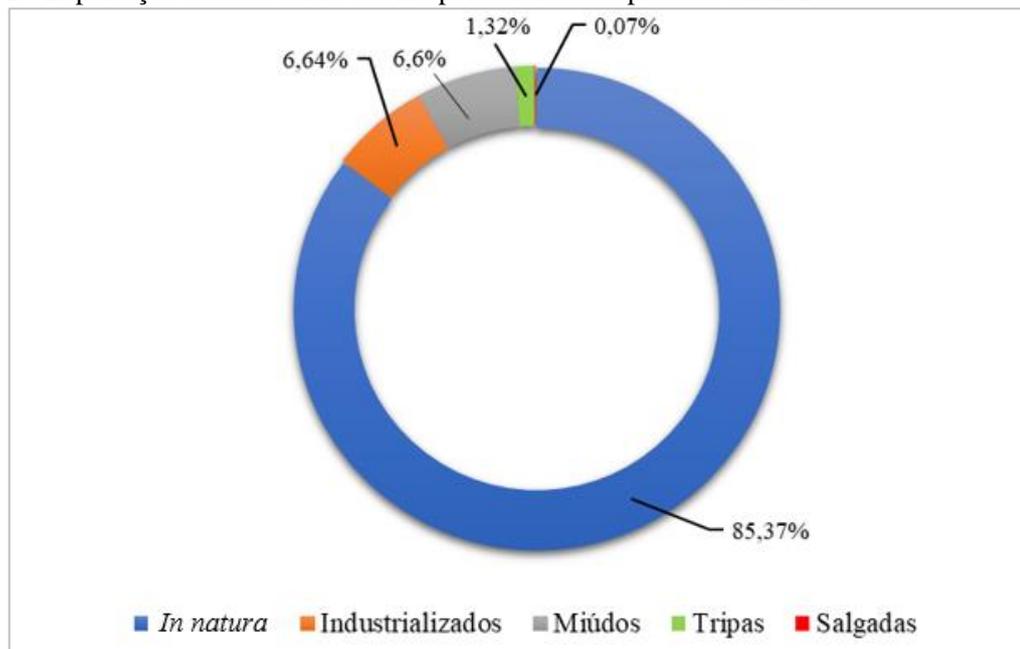
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Carnes

Em uma definição abrangente a carne é considerada todo e qualquer tecido animal propício ao consumo humano. Sendo assim, embora o tecido muscular esquelético seja o principal constituinte da carne, também é incluída a esta definição os tecidos adiposos (gorduras) e ósseos, assim como glândulas, vísceras (intestinos) e órgãos (pele, cérebro, fígado, coração, etc.), desde que saudáveis e que sejam obtidos em condições higiênico-sanitárias ótimas (EMBRAPA, 1999; PEREIRA, 2010).

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o abate de bovinos cresceu em torno de 3,6% em relação ao primeiro trimestre de 2019. Foram abatidas 8,08 milhões de cabeças de bovinos, onde obteve-se uma produção de 2,01 milhões de toneladas de carcaças (NITAHARA, 2019). Ainda segundo a Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes (ABIEC), até o mês de agosto de 2020 os volumes alcançaram 1,3 milhões de toneladas e a receita atingiu de US\$ 5,5 milhões. Esse aumento se deve principalmente à demanda da China responsável por 40,93% do volume (toneladas) exportado pelo país. As exportações totais de carne bovina do Brasil nos últimos meses (até agosto de 2020) estão apresentadas na Figura 1.

Figura 1 - Exportação total de carne bovina por tonelada de produto em 2020.



Fonte: Adaptado de ABIEC pelo autor, 2019.

3.2 Produtos reestruturados

O termo “carne reestruturada” inclui vários produtos elaborados a partir de porções cárneas magras e/ou gordas, cortadas em diversos tamanhos, trituradas e reduzidas para uma massa fina, e comercializadas como produtos crus, congelados, refrigerados, pré-cozidos e cozidos; que tentam imitar o aspecto da carne integral (Figura 2) (CARLI, 2015).

Figura 2 - Processamento de um produto reestruturado.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Os fragmentos resultantes da desintegração do músculo são misturados e em seguida moldados em porções específicas. A gordura é um dos componentes das carnes reestruturadas que possui muita variação, normalmente, um produto com este conceito contém cerca de 10% a 20%, no entanto, a demanda por alimentos com pouco conteúdo lipídico controla este componente a níveis inferiores a 3,5%. Na formulação de reestruturados ainda são adicionados ingredientes não-cárneos como cloreto de sódio, por exemplo, que auxilia no aumento da força iônica do meio e na solubilidade das proteínas miofibrilares. As proteínas vegetais como a proteína de soja texturizada e alginatos são adicionados na formulação para melhorar a coesão e textura. A adição de pequenas quantidades de água compensa as perdas ocorridas durante o processamento, e aumenta a suculência do produto (ORDÓÑEZ, 2005).

Recomenda-se que durante as etapas de moagem e mistura a temperatura fique próxima ao ponto de congelamento (-4 °C), auxiliando a solubilização das proteínas, melhorando a eficiência no processo de redução das partículas. Mas a principal função da temperatura no processamento é o controle da formação de coloração indesejada no produto, pois quanto menor a temperatura menor a probabilidade de formação de metamioglobina, responsável pelo escurecimento da carne (LOPES, 2012). Outro ponto importante é o tempo de mistura, este procedimento não deve degradar a estrutura das porções cárneas, a máxima ligação é alcançada entre 12 a 18 minutos, ultrapassar este período pode ter interferência na força de ligação e na textura do produto (ORDÓÑEZ, 2005).

3.2.1 Hambúrguer

As carnes são utilizadas como matéria-prima para diversos produtos alimentícios, dentre estes se destaca o hambúrguer, considerado um dos produtos cárneos mais consumidos no mundo. A aceitação e consumo deste produto se deve em grande parte à combinação de ser algo prático, de baixo preço e com alto valor nutricional devido à presença de proteínas, ácidos graxos essenciais, minerais e vitaminas, além de ser sensorialmente agradável (BASTOS *et al.*, 2014; ANGIOLILLO *et al.*, 2015; MIZI *et al.*, 2019).

Pela legislação em vigor denominada “Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Almôndega, de Apresuntado, de Fiambre, de Hambúrguer, de Kibe, de Presunto Cozido e de Presunto”, no anexo 4, denominado “Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Hambúrguer” (BRASIL, 2000), o hambúrguer é definido como: “Entende-se por Hambúrguer (Hamburger) o produto cárneo industrializado obtido da carne moída dos animais de açougue, adicionado ou não de tecido adiposo e ingredientes, moldado e submetido a processo tecnológico adequado.” (BRASIL, 2000, Item 2.1).

O alto teor de gordura dos produtos de origem animal em geral são um grande problema para a indústria. Estes elevados índices tornam não somente o hambúrguer, mas a sua matéria-prima e demais produtos cárneos mais susceptíveis a reação de oxidação lipídica, que pode ocorrer nas diversas etapas de processamento e armazenamento (FAUSTMAN *et al.*, 2010). A oxidação lipídica tem como consequência a alteração das propriedades dos alimentos, da qualidade sensorial, do valor nutricional, e ainda resultar na formação de substâncias que podem ser tóxicas ao organismo (MARQUES *et al.*, 2009). Portanto, o uso de ingredientes como os antioxidantes que auxiliam na prevenção ou na redução da deterioração oxidativa de produtos cárneos é essencial para que seja mantida a qualidade do alimento sem comprometer suas características nutricionais e sensoriais.

Os antioxidantes sintéticos são amplamente utilizados em produtos cárneos para auxiliar na minimização da oxidação lipídica e preservar a integridade do alimento. Dentre estes se destacam o ácido ascórbico, o eritorbato de sódio, o hidroxitolueno butilado (BHT) e o hidroxianisol butilado (BHA), além de nitritos e nitratos que atuam principalmente na conservação do produto, sendo que estes últimos demonstram estar envolvidos em alergias e possíveis problemas de saúde. Por esse motivo, substituir os antioxidantes sintéticos por naturais tem ganho destaque, pois além de contribuírem de forma similar na ação contra agentes deteriorantes, podem trazer benefícios à saúde humana devido seus índices de compostos fenólicos e atividade antioxidante (RIBEIRO *et al.*, 2019).

3.3 Lipídios no processamento de produtos cárneos

Os lipídios podem ser gorduras (sólidos) e/ou óleos (líquidos) em seu estado físico sob temperatura ambiente, sendo que a estabilidade destes tem muita importância para a qualidade do produto ao qual são incorporados. São responsáveis por diversas características, entre elas destacam-se as sensoriais, como cor, sabor e aroma, sendo que a quantidade de gordura presente no produto influencia tais características. Ainda as propriedades físico-químicas dos lipídios fazem com que estes contribuam para a textura desempenhando um papel de melhoria na viscosidade e na suculência dos produtos (CAMPAGNOL, 2011; ZAGO, 2018).

A diminuição da vida útil, a perda de nutrientes e a formação de compostos que podem ser tóxicos, somados as alterações nas características sensoriais de cor, sabor, odor e aroma são considerados indicativos da deterioração oxidativa em carnes e derivados cárneos. Quando estes produtos são expostos ao oxigênio ocorre a perda de ao menos um elétron dos constituintes como ácidos graxos e/ou aminoácidos, iniciando os processos de oxidação lipídica e/ou proteica (FALOWO; FAYEMI; MUCHENJE, 2014).

3.4 Oxidação lipídica em cárneos

Uma das principais causas de perda de qualidade dos alimentos é a oxidação lipídica, além da deterioração por micro-organismos. Alimentos à base de carne, devido à composição rica em umidade, proteína, gordura e demais nutrientes, são susceptíveis à oxidação. A oxidação lipídica é um problema para a indústria de alimentos, pois seu controle é difícil de ser realizado. As alterações desencadeadas pela oxidação são perda da cor, formação de compostos que podem ser tóxicos (cetonas, álcoois, aldeídos, ácidos), perda de nutrientes, alterações no aroma e, diminuição da vida útil do produto (SHIMOKOMAKI; OLIVO 2006).

Um dos mecanismos responsáveis por desencadear a oxidação é a auto oxidação, que ocorre em três etapas: iniciação, propagação e terminação. Na primeira etapa (iniciação) os ácidos graxos insaturados perdem o seu átomo de hidrogênio e formam um radical alquil (R^*), através da presença de catalisadores. Estes radicais alteram a posição das duplas ligações, reagindo com o oxigênio presente, obtendo-se radicais de peróxil (ROO^*), os quais atacam moléculas lipídicas através de moléculas de hidrogênio formando hidroperóxidos ($ROOH$) e um outro radical alquil. Na segunda etapa (propagação), as reações entre os radicais e o oxigênio formam radicais de peróxidos, que vão sequestrar os átomos de hidrogênio e instaurar

outras moléculas gerando hidroperóxidos. Na terceira e última etapa (terminação), ocorre a formação de radicais não estáveis, geração de aldeídos, cetonas, álcoois que são originados dos hidroperóxidos decompostos pelo aquecimento, luminosidade e metais formando estes produtos secundários, que são capazes de participar de reações em cadeias dos radicais livres, que levam à rancidez e que modificam sensorialmente os produtos (MENIN; LEÃO, 2012; MATTOS, 2017). Outra forma de iniciar o processo de oxidação é a fotoxidação ou oxidação fotossensível, este mecanismo envolve a adição do oxigênio à molécula do lipídio, sem nenhum radical livre agindo, tendo compostos como mioglobina usados com sensibilizadores (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

As reações ocorrem com frequência em alimentos que passam pelo processamento térmico, onde a temperatura promove a ruptura das células levando à liberação de substâncias tidas como pró-oxidantes. Os metais que participam do processo de iniciação auxiliam para o aumento da velocidade das reações de oxidação tornando o produto mais susceptível a oxidação (MATTOS, 2017). Estes metais presentes nas reações são oriundos do ferro da mioglobina que é a proteína responsável pela cor da carne. A oxidação do átomo central de ferro dentro do grupo heme é responsável pela descoloração, variando de vermelho (oximioglobina) a cinzento (metamioglobina) (HUAMÁN; ROSA; PRENTICE, 2019).

No processo de oxidação lipídica, os compostos que são formados (aldeídos, cetonas, malonaldeídos (MDA), óxidos de colesterol) conferem odores desagradáveis às carnes e seus derivados, destacando-se aqueles que passam por pré-cozimento, que após o armazenamento podem apresentar sabor de “requeijado”. Estes compostos também promovem alterações sensoriais de sabor e aroma originadas da oxidação, modificações na cor das carnes devido à transformação do pigmento denominado oximioglobina, que possui coloração vermelho brilhante, em metamioglobina tornando o produto com uma cor marrom-acinzentada. Ainda, pode-se citar as modificações ocorridas na textura da carne, pois a oxidação lipídica e seus compostos podem formar complexos como proteína-lipídio, entre outros, levando a desnaturação destas proteínas (HALLENSTVEDT *et al.*, 2012; UTRERA *et al.*, 2014).

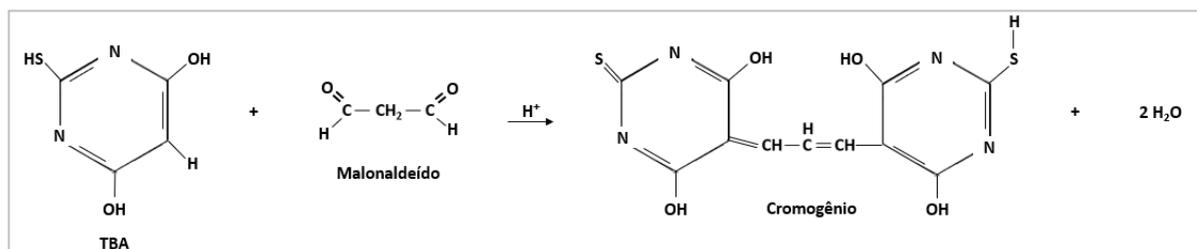
Para evitar ou diminuir estas reações oxidativas alguns cuidados devem ser tomados, como a remoção do oxigênio, inativação enzimática, proteção contra à luz e íons metálicos. Porém, em nem todas as situações estas precauções surgem efeitos. Uma das medidas mais utilizadas é adição de antioxidantes que auxiliam na estabilidade dos lipídios, sendo uma das saídas para que estes produtos estejam mais protegidos e menos susceptíveis as reações de oxidação (BRUM, 2009).

3.4.1 Quantificação da oxidação lipídica em carnes

Pode-se acompanhar a oxidação lipídica através dos produtos primários da oxidação dos ácidos graxos que são os peróxidos, que durante sua decomposição produzem compostos de diversas naturezas (aldeídos, cetonas, hidrocarbonetos, entre outros) designados como produtos da oxidação secundária, dentre os quais tem-se o malonaldeído (MDA). A natureza e proporções dos aldeídos provenientes de processos de degradação depende do tipo do ácido graxo oxidado e das condições de oxidação (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999). Um dos compostos resultantes do processo secundário que pode ser utilizado como marcador do processo oxidativo é o malonaldeído (MDA), que pode ser quantificado, através da análise de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).

O teste de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) é o método mais usual devido à sua simplicidade e rapidez, pois fornece informações em relação ao estado oxidativo dos alimentos e, conseqüentemente, às alterações sensoriais. Este teste quantifica o MDA, que é um produto da decomposição dos hidroperóxidos, formados durante a oxidação. A reação (Figura 3) que ocorre envolvendo o ácido tiobarbitúrico com o malonaldeído produz um composto de coloração vermelha, e deve ser medido por espectrofotometria em um comprimento de onda de 500 a 550 nm. Os resultados são expressos em miligramas (mg) de malonaldeído por quilograma (kg) de amostra (PAULA, 2013).

Figura 3 - Reação ocorrida entre o ácido tiobarbitúrico e o malonaldeído (MDA) formando o composto colorido.



Fonte: Adaptado de Soares (2012) pelo autor, 2019.

Os processos envolvidos na elaboração de produtos cárneos (moagem, mistura e cozimento) favorecem a formação de MDA. Para a determinação da oxidação lipídica, por meio do método TBARS, é necessário que todas as análises sejam feitas através de um único meio de extração. Sendo, desta forma, possível realizar a avaliação da eficiência da aplicação de diferentes embalagens e antioxidantes na estabilidade dos derivados cárneos (BRUM, 2009).

3.5 Antioxidantes

Os antioxidantes são compostos ou substâncias com capacidade de retardar ou prevenir significativamente as reações de deteriorações, rancidez, descoloração originadas de carboidratos, proteínas, lipídios, DNA, nos alimentos. Ao agir para evitar a oxidação, os antioxidantes realizam sua própria oxidação, sendo encontrados em menor quantidade que a substância oxidável. O efeito dos antioxidantes promove a neutralização dos efeitos relacionados à produção de radicais livres (LIMA, 2014; MATTOS, 2017).

A ação dos antioxidantes pode ocorrer na redução dos radicais livres (antioxidantes primários) ou por mecanismos que não envolvem a redução direta destes radicais (antioxidantes secundários). Os antioxidantes primários, como os compostos fenólicos, são consumidos durante a fase de iniciação da oxidação lipídica. Os antioxidantes secundários, como o ácido ascórbico, atuam por diversos mecanismos dos quais pode-se ser citar a ligação de íons metálicos, a conversão de hidroperóxidos a espécies não-radicaais. Para o controle destas reações de oxidação indesejada em alimentos, pode-se, além do uso de antioxidantes incorporados no processamento dos produtos, realizar o emprego de técnicas no próprio processo, como também nas embalagens que recebem estes produtos alimentícios (MARIUTTI *et al.*, 2007; ZAGO, 2018).

Pesquisas vêm sendo realizados para buscar vegetais, frutos, especiarias com capacidade antioxidante que sejam capazes de substituir os antioxidantes sintéticos e terem efetividade semelhante ou até mesmo superior a estes. Tem-se como exemplos os estudos de Resende; Franca; Oliveira (2019) que avaliaram farinhas de subprodutos de buriti como fontes de fibras alimentares e antioxidantes naturais; Qi *et al.* (2015) avaliaram o efeito do extrato de semente de lichia (*Litchi chinensis Sonn.*) sobre pasta de carne crua, a citotoxicidade *in vitro* e o efeito anti-obesidade do mesmo; Milani *et al.* (2012) estudaram o efeito de extratos de caqui (*Diospyros kaki L.*) cultivar Rama Forte e do extrato oleoso de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) nas características sensoriais e na estabilidade da cor de hambúrguer de carne bovina congelado.

De acordo com Lima (2014), os antioxidantes em alimentos devem atender alguns requisitos como:

- Ser compatível com o substrato;
- Não conferir odor ou sabor estranho ao produto;
- Ter efeito durante a estocagem do produto;
- Ser estável ao processo de aquecimento e de fácil incorporação no alimento.

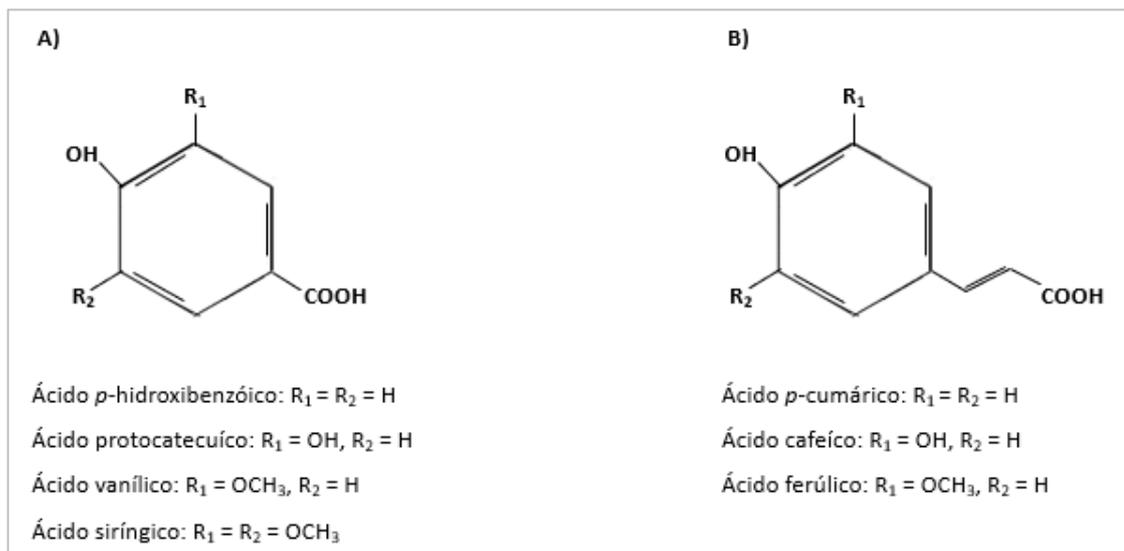
3.5.1 Antioxidantes naturais

Os antioxidantes naturais são sintetizados para manter o equilíbrio de oxirredução no processo de metabolismo de nutrientes e da função imunológica dos vegetais. Estes são fonte abundante de antioxidantes e fitoquímicos, em especial os frutos são boas fontes de antioxidantes, principalmente aqueles que possuem coloração vermelha intensa. Estudos com antioxidantes naturais encontrados em frutos tem se destacado, com o objetivo de utilização de seus compostos nos alimentos, em substituição aos antioxidantes sintéticos (CASAGRANDE, 2014; JIANG; XIONG, 2016).

Grande parte das plantas possuem em sua composição compostos fenólicos, sendo que os antioxidantes que se originam de plantas são constituídos principalmente por ácidos fenólicos, flavonoides, catequinas, nos quais comprovadamente tem-se atividade antioxidante benéfica de proteção contra os radicais livres e estabilidade oxidativa em alimentos (LIMA, 2014).

Os ácidos fenólicos são classificados de acordo com a estrutura química e tem como característica, além do anel de benzeno, um grupo carboxílico e um ou mais grupos de hidroxila ou metoxila, que conferem ação antioxidante. Este ácido (Figura 4) possui dois grupos, os derivados de ácido hidrobenzóico que inclui, por exemplo, o ácido gálico, e, os derivados de ácido hidroxicinâmico, nos quais os compostos aromáticos com três carbonos formam uma cadeia lateral, como os ácidos caféicos (ANGELO; JORGE, 2007).

Figura 4 - Estrutura química do ácido hidrobenzóico (A) e do ácido hidroxicinâmico (B).



Fonte: Adaptado de Angelo; Jorge (2007) pelo autor, 2019.

3.6 Determinação de atividade antioxidante

3.6.1 Método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

A molécula de DPPH tem como característica um radical livre estável em virtude da deslocalização do elétron desemparelhado por toda a molécula, este deslocamento confere a molécula uma coloração violeta. O ensaio tem como base a medida da capacidade antioxidante de uma substância sequestrar o radical DPPH, reduzindo-o a hidrazina. Quando uma substância que age como doador de átomos de hidrogênio é adicionada à solução de DPPH, a hidrazina é obtida com mudança na coloração de violeta para amarelo pálido (Figura 5) (ALVES *et al.*, 2010).

Figura 5 - Coloração resultante da análise de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

3.6.2 Método ABTS (2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico))

Neste método realiza-se a determinação dos compostos hidrofílicos e lipofílicos que são solubilizados em meios orgânicos e aquosos, e captura-se o radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) através de uma reação química, eletroquímica ou enzimática dependendo da natureza dos compostos antioxidantes (Figura 6). É considerado um método simples e pode ser determinado em diferentes faixas de pH, sendo uma metodologia importante para se observar o efeito do pH em mecanismos de oxidação (MAGALHÃES *et al.*, 2008; ALVES *et al.*, 2010).

Figura 6 - Coloração resultante da análise de ABTS (2,2'-azino-bis(3-etil-benzotiazolina-6-sulfônico)).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

3.7 Tarumã

O tarumã, também conhecido como “azeitona do mato”, “azeitona brava”, “sombra de touro”, “cinco folhas” e “copiúba”, é uma árvore considerada de grande porte, em média 10 a 20 metros de altura, pertencente à família Lamiaceae, espécie *Vitex megapotamica*. Tem ocorrência em várias regiões do Brasil, além de ser encontrada no Paraguai, Uruguai e Argentina. Florescem durante os meses de setembro a novembro e amadurecem entre os meses de novembro e janeiro. Os frutos (Figura 7) são drupas (apenas uma semente), e tem coloração verde quando imaturos e vermelha ou roxa quando estão maduros. A polpa é succulenta e de sabor doce, são comestíveis, podendo ser consumidos *in natura*, porém, os frutos tem pouca exploração sendo utilizados apenas como matéria-prima de produtos como geleias e licores (CALDEIRA *et al.*, 2004; VIANNA, KOEHLER, 2007; COSMO *et al.*, 2009).

Figura 7 - Frutos do tarumã *in natura* em dois estádios de maturação: verdes (A) e maduros (B).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

As folhas do tarumã (Figura 8) possuem fenóis, antocianinas, taninos, catequinas, flavonoides, xantonas, esteroides, cumarinas, ácidos orgânicos, fenóis, e outros diversos compostos, a infusão destas é utilizada na medicina popular como depurativo do sangue, para combater a pressão alta, o colesterol, entre outras doenças (ONOFRE *et al.*, 2016). Segundo estudo realizado por Oliveira (2017), o chá obtido das folhas apresenta o composto alopurinol, que é muito utilizado como princípio de remédios utilizados para doenças ocasionadas pelo excesso de ácido úrico.

Segundo estudo de Onofre *et al.* (2016), as folhas do tarumã possuem potencial antioxidante, em particular nos extratos mais polares nos quais extrai maiores quantidades de constituintes fenólicos. Porém, não há relatos, na literatura, da aplicação dos extratos obtidos das folhas em produto alimentício, com intuito de avaliar o potencial antioxidantes. Outro ponto

destacado pelos autores é a falta de estudos que avaliam os frutos do tarumã em relação à sua composição fenólica, e sua capacidade antioxidante.

Figura 8 - Folhas do tarumã.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Apesar dos frutos de muitas espécies nativas serem descritos na literatura, são poucos os trabalhos realizados que exploram a capacidade antioxidante destes. Assim, diante da grande diversidade da flora brasileira faz-se importante a descoberta de suas propriedades bioativas para que estes possam ser explorados. Grande parte dos estudos sobre o tarumã estão relacionados a trabalhos na área da saúde (BRANDT *et al.*, 2009; BRUM *et al.*, 2013; HAMANN *et al.*, 2016).

3.8 Metodologias para extrações

Quando se trata de extrações oriundas de vegetais, os métodos utilizados devem ser escolhidos de acordo com a estrutura da parte de interesse da matriz (caules, folhas, frutos), e o que se deseja extrair. Os processos mais comuns são os métodos convencionais como arraste e prensagem, porém, os processos de extração vão muito além disso, chegando a métodos mais tecnológicos como o fluido pressurizado e a extração assistida por ultrassom, entre outros (NOVELLO, 2015; VIEIRA, 2015).

Nos estudos com o objetivo de extrair compostos bioativos muitos são os métodos como: nenhum tipo de agitação (ABAZA *et al.*, 2011), centrifugação (RUFINO *et al.*, 2007a), agitador de tubos (SPAGOLLA *et al.*, 2009), banho ultrassônico (SAHIN; SAMLI, 2013), agitador orbital *shaker* (SARKIS *et al.*, 2014). Diversos solventes também são utilizados para processos de extração destes compostos sendo o metanol considerado o melhor em rendimento,

porém não é aconselhável para extratos com futuras aplicações em alimentos (KALLITHRAKA *et al.*, 1995). Os extratos obtidos com metanol devem passar por um processo de evaporação para posterior aplicação em alimentos, sendo que este processo pode ocasionar a degradação de compostos bioativos.

Dentre os métodos de extração de compostos bioativos de frutos, verduras e legumes, o mecanismo sólido-líquido é a técnica mais utilizada. No processo sólido-líquido ocorre a migração dos compostos de interesse, presentes na matriz, para o solvente. Este tipo de extração é considerado um método fácil, de baixo custo, e tem sua eficiência com base na otimização das condições de processo, como temperatura, razão sólido/líquido, solvente e tempo da extração (MATTOS, 2017).

A aplicação da chamada química verde, que tem como objetivo principal a utilização de métodos ecologicamente corretos, no que tange a utilização de solventes de baixa toxicidade em processos de extração. Dentre estes métodos, a aplicação de solventes como a água tem sido muito estudada e utilizada devido sua disponibilidade e características que vão ao encontro das diretrizes da química verde (KO *et al.*, 2014; JIN *et al.*, 2017; CARVALHO *et al.*, 2018).

A extração com auxílio de agitador orbital *shaker* (Figura 9), utilizando solventes, é um método de fácil manuseio, rápido e de baixo custo. A agitação favorece a circulação convectiva do solvente, e isso aumenta a eficiência de extração, pois as chances do contato soluto/solvente, no processo, são aumentadas. Este método é utilizado para matéria-prima moída e fina (VEGGI *et al.*, 2009; SILVA, *et al.*, 2016).

Figura 9 - Agitador orbital *shaker* com amostras.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Outro equipamento que auxilia muito na extração é o banho de ultrassom (Figura 10), que se destaca pela eficiência e redução no tempo de processo. Este equipamento é largamente

utilizado na extração de compostos oriundos de vegetais. O processo utiliza energia de ondas sonoras, as quais, quando propagadas no meio líquido, realizam o fenômeno denominado cavitação, isso auxilia na transferência de massa do solvente consequentemente aumentando o rendimento (LAZAR *et al.*, 2016). Sistemas de solventes compostos de etanol, água, proporcionam rendimentos satisfatórios quando comparados a adição de apenas um solvente durante a extração de compostos polifenólicos com propriedades antioxidantes (ESCLAPEZ *et al.*, 2011; CAVALHEIRO, 2013).

Figura 10 - Banho de ultrassom com amostras.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Para identificar e isolar compostos bioativos em matrizes naturais, o mais indicado é a realização da extração com solventes de diferentes polaridades, objetivando a máxima eficiência de extração. Em relação às partículas das matrizes vegetais, estas, quanto menores, maiores são as chances de que a extração aconteça. Os solventes utilizados, necessariamente, precisam apresentar afinidade com o soluto, serem atóxicos, de baixo custo, não inflamáveis, entre outras características. (ORDÓÑEZ, 2005; CAVALHEIRO, 2013; ZAGO, 2018).

Diversos fatores interferem na eficiência do processo de extração por solvente, dentre estes, destaca-se, o solvente, a concentração do solvente, o tempo, a temperatura da solução, a massa da matriz, o tipo de amostra, entre outras. Todas as variáveis citadas, tem influência direta nos resultados de uma extração, desta forma, devem ser investigadas com o propósito de maximizar dos resultados (THOO *et al.*, 2010). Segundo Yanishlieva *et al.* (1997) a eficiência do processo de extração e os teores da atividade antioxidante dos extratos dependem do tipo de solvente, devido a interação e a polaridade dos compostos. Celant; Braga; Vorpagel (2016), em estudo onde avaliaram o conteúdo dos compostos bioativos em amoras de diferentes cultivares, obtiveram resultados onde a quantidade de compostos dependia da cultivar do fruto, indicando que existem particularidades referentes a concentração dos grupos de fenólicos nos diferentes cultivares.

4. CARACTERIZAÇÃO, AVALIAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E DE BIOATIVIDADES DA POLPA DOS FRUTOS DO TARUMÃ (*Vitex megapotamica*) EM DOIS ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO

4.1 INTRODUÇÃO

O tarumã (*Vitex montevidensis*) tem ocorrências em diversas regiões brasileiras, possui cor negra-violácea quando maduro, a polpa é suculenta e de sabor adocicado. Estudos realizados com as folhas desta árvore demonstram sua capacidade antioxidante, além da presença de compostos medicinais como o alopurinol (composto utilizado em medicamentos para o excesso de ácido úrico) encontrado na infusão das folhas (ONOFRE *et al.*, 2016; OLIVEIRA, 2017). No entanto, ainda não são encontrados na literatura estudos relacionados com estes frutos em nenhum estágio de maturação.

Frutos são boas fontes de antioxidantes, com destaque para os que possuem coloração vermelha intensa à roxo (CASAGRANDE, 2014; JIANG; XIONG, 2016), além de importantes fontes de elementos essenciais, como minerais (GONDIM *et al.*, 2005). Fenômenos relacionados com a maturação de frutos incluem a degradação das clorofilas (a e b), a degradação de pigmentos, a síntese de novos pigmentos (carotenoides), as alterações de sabor, a diminuição da acidez, as elevações nos teores de sólidos solúveis e as mudanças de textura. No amadurecimento, o fruto está completamente desenvolvido, com aparência externa e qualidade interna adequadas para o consumo (DOMINGUES; ONO; RODRIGUES, 2001).

Os compostos fenólicos apresentam efeitos benéficos sobre as propriedades fisiológicas, como antialérgico, anti-inflamatório, antimicrobiano, com destaque para a atividade antioxidante (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006). Os antioxidantes mantêm o processo oxidativo em níveis normais no organismo humano, impedindo o desenvolvimento dos radicais livres e inibindo os danos ao sistema biológico (BARBOSA *et al.*, 2010).

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo realizar a caracterização centesimal, análise de minerais, quantificação de compostos fenólicos e análise de propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias das polpas dos frutos do tarumã colhidos em estádios de maturação distintos.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1 Colheita e preparo dos frutos

Os frutos do tarumã foram coletados no ano de 2019, nas áreas pertencentes ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul – IFRS *Campus* Sertão, na cidade de Sertão/RS, Brasil (Latitude 28° 2' 26" S, Longitude 52° 16' 25" O), em dois estádios de maturação, determinados através do cálculo do *ratio* (sólidos solúveis totais/acidez total titulável).

Os frutos foram encaminhados ao Laboratório de Qualidade de Alimentos da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), *Campus* Pinhalzinho/SC, Brasil, onde foram limpos, através da remoção de folhas; sanitizados com solução de hipoclorito de sódio (200 mg.kg⁻¹) durante 15 minutos, lavados em água corrente, suspensos em peneiras para remoção do excesso de água, e armazenados em sacos de polietileno para embalagem a vácuo de dimensões 20 cm x 25 cm, em seguida dispostos em sacos plásticos metálicos com fecho zip e mantidos sob refrigeração (aproximadamente 5 °C) em geladeira convencional (Electrolux, Brasil) até as análises de caracterização. Os frutos restantes foram armazenados a -86 °C em Ultrafreezer (ULT 335/710 D Vertical, Indrel, Brasil).

4.2.2 Caracterização físico-química dos frutos em diferentes estádios de maturação

Após a higienização, os frutos foram despulpados e triturados em liquidificador industrial de alta rotação (Spolu, Brasil), acondicionados em sacos de polietileno para embalagem a vácuo de dimensões 20 cm x 25 cm, em seguida dispostos em sacos plásticos metálicos com fecho zip e mantidos sob refrigeração até o momento das análises. As amostras foram avaliadas, em triplicata, através das determinações de: umidade (método 925.45 (b)); extrato etéreo pelo método *Soxhlet* (método 920.39 (c)); proteína (método 920.152), fator de conversão de 5,75; cinzas (método 940.26); fibra alimentar total (método 985.29); sólidos solúveis totais (°Brix) (método 932.14 (c)); açúcares redutores (% em glicose) (método 925.36); açúcares não-redutores (método 925.35); pH (método 981.12); e acidez total titulável (método 942.15 (a)) (AOAC, 2016). Por fim, os carboidratos foram calculados pela diferença no somatório total. A coloração das amostras foi avaliada objetivamente pela reflectância, usando colorímetro Minolta, (modelo CR-410, HunterLab, Brasil), seguindo a metodologia definida pelo fabricante, através do sistema CIELAB; com os valores de L* (luminosidade) variando de preto (0) a branco (100), a* (de verde (-a*) a vermelho (+a*)) e b* (de azul (-b*) a amarelo

(+b*) utilizadas para definir um espaço de cor tridimensional. O valor de croma ($C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$) e o ângulo de Hue ($^{\circ}\text{Hue} = \tan^{-1} b^*/a^*$), que indica a cor observada, também foram calculados. O aparelho foi previamente calibrado com padrões branco e preto. Para as medidas de cor utilizou-se as polpas em pó obtida por liofilização, descrito no item 4.2.3.

A análise de minerais foi realizada de acordo com o método 985.35 da AOAC (2016), com adaptações. As cinzas, foram preparadas em mufla a 550 °C, por período de 4 a 6 horas, o que garantiu a mineralização completa da amostra (1 mL de ácido nítrico 1% foi adicionado nas amostras para auxiliar no processo) e obtenção de cinzas claras isentas de carvão. Após, as cinzas foram dissolvidas utilizando ácido nítrico 1%, filtradas em papel filtro quantitativo (JP41-Faixa preta, 15 cm, Quanta) em balão volumétrico de 50 mL, lavando o cadinho com a amostra e o bastão utilizado para solubilização com água deionizada. Preparou-se a triplicata de amostras e um branco dos reagentes. As amostras dissolvidas e avolumadas foram transferidas para tubos tipo Falcon de 50 mL e estes acoplados no equipamento para determinação dos teores de Ca, Ti, Fe, Zn, K, Mg, Cd, Ni, Pb, Cu, Na em espectrômetro de absorção atômica em chama (modelo SpectrAA 220) e lâmpadas 44 de cátodo oco (VARIAN®).

4.2.3 Preparo dos extratos

4.2.3.1 Obtenção da polpa dos frutos em pó

Os frutos *in natura* inteiros não utilizados nas análises de caracterização foram perfurados com auxílio de uma agulha de 2 mm de diâmetro. Optou-se por realizar a perfuração, antes do congelamento das amostras, para facilitar a evaporação da água presente na polpa dos frutos. Os frutos foram congelados inteiros para que não passassem por um prévio processo de oxidação pela exposição da polpa, o que poderia afetar os teores de compostos bioativos.

Os frutos foram congelados em Ultrafreezer (ULT 335/710 D Vertical, Indrel, Brasil) durante 24 horas a -86 °C, desidratados a -60 °C sob pressão de 0,05 mTorr de vácuo em liofilizador (TFD 5503, IIShin, Holanda) durante 24 horas e em seguida despolpados. As polpas foram novamente congeladas em Ultrafreezer (-86 °C/24 horas) e novamente submetidas à liofilização (-60 °C/0,05 mTorr/24 horas) até atingir uma umidade entre 14% e 15%. Após, as polpas foram trituradas em liquidificador industrial de alta rotação (Spolu, Brasil), homogeneizadas em peneira (32 *mesh*), e armazenadas em embalagens metálicas com o uso de vácuo, sob congelamento (-86 °C).

4.2.3.2 Método de extração

A extração foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Rufino *et al.* (2007a), com modificações, para análises de DPPH, ABTS e compostos fenólicos totais. Foram quantificados em um Becker de 100 mL, 1 g de tarumã em pó, adicionados 40 mL de metanol 50%, homogeneizados em agitador (Vórtex Mixer K45-2810, Kasvi, Brasil) e mantidos em repouso por 60 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, transferidos para tubos adequados e centrifugados em centrífuga (SL-700, Solab, Brasil), a 15.000 rpm, por 15 minutos. O sobrenadante foi transferido para um balão volumétrico de 100 mL. A partir do resíduo da primeira extração, foram adicionados 40 mL de acetona 70%, homogeneizados e mantidos em repouso por 60 minutos à temperatura ambiente. Centrifugados novamente a 15.000 rpm, por 15 minutos, transferindo o sobrenadante para o balão volumétrico contendo o primeiro sobrenadante e completando o volume para 100 mL com água destilada. Os extratos foram congelados a -86 °C em Ultrafreezer (ULT 335/710 D Vertical, Indrel, Brasil) até análise.

4.2.4 Metodologias para quantificação dos compostos fenólicos e das atividades antioxidante e anti-inflamatórias

4.2.4.1 Compostos fenólicos totais

A quantificação do conteúdo de compostos fenólicos totais seguiu o método Folin-Ciocalteu. Em uma alíquota de 0,5 mL do extrato foi adicionado 2,5 mL de solução aquosa de Folin-Ciocalteu na concentração de 1:10 e 2,0 mL de carbonato de sódio a 7,5%. A mistura foi mantida no escuro por 2 horas em temperatura ambiente e em seguida foi realizada a leitura, em triplicata, da absorbância a 760 nm em espectrofotômetro (Cirrus 80 SA, Femto, Brasil). Um branco foi utilizado para calibrar o equipamento (ao invés da amostra uma alíquota de 0,5 mL de água destilada) conforme descrito por Singleton; Orthofer; Lamuela-Raventos (1999) e Roesler *et al.* (2007) com modificações.

A quantificação dos compostos fenólicos totais foi realizada através da curva padrão construída com ácido gálico (Apêndice 1). Os resultados da quantidade total de fenólicos dos extratos foram expressos em equivalentes de ácido gálico por 100 gramas de amostra (mg EAG.100 g⁻¹).

4.2.4.2 Atividade antioxidante pela captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

As análises das amostras foram realizadas segundo descrito por Rufino *et al.* (2007a). Foi construída uma curva padrão com o radical DPPH (Apêndice 2). Para a leitura das amostras, em ambiente escuro, uma alíquota de 0,1 mL de cada diluição do extrato foi adicionada em tubos de ensaio com 3,9 mL do radical DPPH e homogeneizada em agitador (Vórtex Mixer K45-2810, Kasvi, Brasil). Álcool metílico foi usado como branco para calibrar o espectrofotômetro (Cirrus 80 SA, Femto, Brasil). As leituras foram realizadas à 515 nm, em triplicata. A diminuição da leitura da absorbância das amostras está correlacionada com o controle.

A leitura da absorbância final para o cálculo do EC₅₀ foi realizada após a estabilização da absorbância (tempo EC₅₀). A partir das absorbâncias obtidas nas diluições e suas devidas concentrações foi gerada uma curva (Apêndice 3) e obtida a equação da reta. A absorbância do controle foi dividida por 2 e o resultado desta divisão é utilizado em substituição ao valor de Y na equação da reta da curva das diluições, sendo então calculada a atividade antioxidante. O resultado é expresso em mg.L⁻¹, que corresponde à amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH (EC₅₀).

4.2.4.3 Atividade antioxidante pela captura do radical ABTS (2,2'-azino-bis(ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico))

O método de descoloração do ABTS foi realizado de acordo com metodologia descrita por Rufino *et al.* (2007b). O radical gerado através da reação de ABTS com a solução de persulfato de potássio (K₂S₂O₈) foi incubado a temperatura ambiente no escuro durante 16 horas previamente a análise. Uma solução de 5 mL do radical ABTS juntamente com 88 µL de solução de persulfato de sódio, foi incubada a temperatura ambiente no escuro durante 16 horas previamente a análise. Em seguida, a solução de 16 horas foi misturada e diluída na concentração de 1:10 com álcool etílico até atingir um valor de absorbância de 0,70 ± 0,05, determinado em 734 nm. Para as leituras das amostras foi construída uma curva padrão com o radical Trolox (Apêndice 4).

Para o cálculo da atividade antioxidante foram realizadas diluições do extrato a ser analisado. Alíquotas de 30 µL de cada diluição dos extratos foi adicionada, em duplicata, a tubos de ensaio com 3 mL do radical ABTS e homogeneizada por 1 minuto em agitador (Vórtex Mixer K45-2810, Kasvi, Brasil). Após 6 minutos de mistura a leitura da absorbância foi

realizada (734 nm), e o álcool etílico foi utilizado como branco para calibrar o espectrofotômetro (Cirrus 80 SA, Femto, Brasil). A partir das absorvâncias obtidas das diferentes diluições dos extratos, foi plotada a absorvância no eixo Y e a concentração (mg.L^{-1}) no eixo X (Apêndice 5).

A partir da equação da reta obtida na curva das diluições e da absorvância obtida na concentração de 1000 μM de Trolox na curva padrão substituída na equação das diluições, calculou-se a atividade antioxidante. O resultado foi expresso em $\mu\text{M Trolox.g}^{-1}$ de amostra.

4.2.4.4 Atividade anti-inflamatória

O preparo do extrato foi baseado no método de Wang *et al.* (2019). Foi quantificado 2 g da polpa do tarumã em pó nos dois estádios de maturação e dissolvidos em água destilada até completar 100 mL. As misturas foram deixadas ao abrigo de luz e a temperatura ambiente por 12 horas e, posteriormente, foram centrifugadas em centrífuga (SL-700, Solab, Brasil) por 15 minutos a 6000 rpm. Os sobrenadantes foram coletados, identificados e armazenados a $-86\text{ }^{\circ}\text{C}$ em Ultrafreezer (ULT 335/710 D Vertical, Indrel, Brasil) por 4 horas. Após os extratos foram mantidos em freezer de geladeira convencional (Electrolux, Brasil) até a análise (máximo 12 horas).

A determinação da capacidade de remoção do radical óxido nítrico (NO) foi baseada no método de Hazra; Biswas; Mandal (2008). 1 mL de cada extrato foi misturado com 3 mL de nitroprussiato de sódio (SPN) 10 mM em tubos de ensaio; as misturas foram mantidas em banho-maria digital (SSD 5L, Solidsteel, Brasil) a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 2 horas. Posteriormente, foram retiradas alíquotas de 0,5 mL e misturadas com 1 mL de sulfonamida 0,33% em outros tubos de ensaio; as novas misturas foram mantidas em banho-maria a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 5 minutos; em seguida foram adicionados 1 mL de cloreto de alfa-naftiletilenodiamina (NED) 0,1% em cada amostra e a mistura foi mantida em banho-maria a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 30 minutos. Finalmente, a absorvância das amostras foi lida em espectrofotômetro (Cirrus 80 AS, Femto, Brasil) a 540 nm. Para obter a concentração equivalente de Trolox foi utilizada a curva padrão do Trolox (Apêndice 6), e os resultados foram expressos em $\mu\text{M Trolox.g}^{-1}$ de amostra.

4.2.5 Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o Software STATISTICA 13.2 Trial (*Statsoft*), pela análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de média de Tukey a 5% de significância.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Caracterização físico-química

Os resultados relacionados à composição físico-química da polpa dos frutos do tarumã nos dois estádios de maturação, imaturos e maduros, estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Caracterização físico-química (base úmida) dos frutos do tarumã *in natura* em dois estádios de maturação.

Análise	Estádios de maturação	
	Imaturos	Maduros
Umidade (%)	84,53 ± 0,38 ^a	81,05 ± 0,74 ^b
Cinzas (%)	1,40 ± 0,13 ^a	1,28 ± 0,17 ^a
Extrato Etéreo (%)	1,13 ± 0,03 ^a	1,17 ± 0,02 ^a
Proteína (%)	0,97 ± 0,06 ^a	0,87 ± 0,06 ^a
Fibra Alimentar Total (%)*	3,44 ± 0,02 ^a	3,01 ± 0,31 ^a
Carboidratos (%) (por diferença)	8,54 ± 0,43 ^b	12,20 ± 0,71 ^a
pH	5,61 ± 0,11 ^b	6,02 ± 0,06 ^a
Sólidos Solúveis (°Brix)	12,93 ± 0,35 ^b	18,77 ± 0,31 ^a
Acidez Total Titulável (%)	1,43 ± 0,07 ^a	1,11 ± 0,11 ^b
Açúcares redutores (%)	40,66 ± 2,78 ^b	53,49 ± 5,09 ^a
Açúcares não-redutores (%)	41,27 ± 0,84 ^b	43,80 ± 1,24 ^a
<i>Ratio</i> **	9,34	16,15

Valores expressos como média ± desvio padrão; *Fração inclusa nos carboidratos; ***Ratio*: sólidos solúveis/acidez total titulável; Médias seguidas de mesma letra, na mesma linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey no nível de 5% de significância.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Assim como a maioria das frutas e hortaliças, o tarumã apresentou altos valores de umidade, em ambos estádios de maturação. Para o imaturo a umidade apresentou valor superior, pois durante o período de amadurecimento da fruta ocorre a transferência de água da casca para o interior do fruto, onde a polpa retém e armazena a água, uma parte é retida pelas sementes e outra parte é perdida durante o processo a transpiração dos frutos (RUFINO, 2008). Os valores para o teor de umidade dos frutos do tarumã apresentaram-se da mesma ordem de grandeza de frutos como a amora (87,92%) e o mirtilo (87,70%), como encontrados nos estudos de Souza *et al.* (2014). Deve-se ressaltar que as condições climáticas, períodos de chuvas intensas ou seca extrema, interferem na umidade dos frutos o que se pode notar neste estudo.

Os teores de cinzas, extrato etéreo e proteínas não apresentaram diferença significativa entre os dois estádios de maturação ($p \leq 0,05$). As cinzas dos alimentos estão relacionadas aos minerais como N, P, K, Mg e Ca presentes nos frutos, os quais são influenciados por diversos fatores como a condição climática e umidade (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Comparado as oleaginosas os teores de extrato etéreo em frutas e hortaliças possuem baixas quantidades de lipídeos (ROCHA *et al.*, 2008). Souza *et al.* (2014), ao avaliarem as características de frutos como amora e mirtilo obtiveram teores de lipídeos entre 0,42% a 0,19%, valores abaixo dos encontrados no presente estudo.

O teor de fibra alimentar total encontrado foi estatisticamente igual ($p \leq 0,05$) no fruto imaturo e no maduro. A maior parte deste teor de fibra encontra-se possivelmente na forma de fibra solúvel, como a pectina. Quando comparado os resultados com frutos de coloração similares, a polpa do tarumã apresenta valores de fibras e carboidratos próximos aos encontrados por Souza *et al.* (2014) para amora (4,47% e 10,18%, respectivamente).

O pH aumentou dos frutos imaturos para maduros, possivelmente pela diminuição dos ácidos orgânicos totais, pois durante o amadurecimento os ácidos presentes são degradados (AYOUR *et al.*, 2017). Segundo Santos; Santos; Azevedo (2014), as variações no pH de frutos envolvem fatores climáticos e ambientais, também os teores de ácidos orgânicos como o málico, o cítrico e o tartárico, importantes na formação de propriedades dos frutos. O aumento nos valores de pH deve-se à redução da acidez titulável (AMARANTE *et al.*, 2017). Comparado aos estudos de Martineli *et al.* (2018) para uvas *in natura* da cultivar Vitória (4,05), o pH é inferior ao encontrado para o tarumã, porém ao observarmos o resultado da acidez vemos que quando o pH possui um valor mais alto a mesma diminui, colaborando com o encontrado em nosso estudo.

A acidez total titulável foram significativamente maiores no fruto imaturo comparado ao maduro, corroborando com os dados do pH. Os ácidos orgânicos são utilizados como substratos para os processos respiratórios e estes são consumidos durante o metabolismo de amadurecimento e pela liberação de açúcares, resultando em uma diminuição na acidez (AZZOLINI; JACOMINO; BRON, 2004; CHITARRA; CHITARRA, 2005; PIMENTEL *et al.*, 2010) e, conseqüentemente, aumento do pH. Estudos de Mascarenhas *et al.* (2010) para cultivares de uvas de mesa obtiveram resultados inferiores a encontrados no presente estudo (com variação de 0,74 a 0,94 para cultivares Benitaka e Isabel, respectivamente).

O teor de sólidos solúveis (°Brix), açúcares redutores e açúcares não redutores apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$), sendo maiores nos frutos maduros. O aumento destes teores com o amadurecimento é promovido por processos de biossíntese e pela degradação de polissacarídeos em açúcares mais simples, evidenciando o processo de amadurecimento destes frutos (NERIS; LOSS; GUEDES, 2017). Os resultados do presente estudo são maiores referentes ao °Brix daqueles encontrados por Lima *et al.* (2008) para polpa de jaboticaba de duas variedades (variando de 14,90 a 14,13). O °Brix mede de modo indireto o teor de açúcares dos frutos (SANTOS *et al.*, 2011).

Os teores de açúcares ao longo do amadurecimento tendem a aumentar, sendo superiores para os frutos maduros, devido os açúcares presentes na polpa estarem relacionado com o teor de sólidos solúveis (MONTEIRO *et al.*, 2018). Segundo Maieves *et al.* (2015), valores maiores para um tipo de açúcar (redutor e não redutor) como o caso do presente estudo indica que açúcares como glicose e frutose (redutores) são os açúcares predominantes no fruto, e que açúcares não redutores como a sacarose não são os principais

Valores de *ratio* entre 12 e 13 são ideais para o início de processamento industrial de sucos de frutas caso seja a proposta, porém, a faixa de *ratio* pode ter uma variação entre 6 e 20 (VIÉGAS, 1991). A relação entre esses resultados se faz importante, pois indica a contribuição dos compostos para doçura oriunda dos açúcares e acidez dos frutos, outro ponto, é que este índice pode ser um marcador da fase de maturação (PRASSANA; PRABHA; THARANATHAN, 2010; NEVES *et al.*, 2015). Com base nesses valores, o tarumã pode ser considerado maduro. Durante o amadurecimento os ácidos presentes são degradados e o teor de açúcares aumenta, logo a proporção de açúcares/ácidos alcança um resultado maior, indicando a maturidade dos frutos (AYOUR *et al.*, 2017).

O aumento nos teores de sólidos solúveis e a diminuição da acidez é coerente com o encontrado por Fawole e Opara (2013) para frutos de romã. Monteiro *et al.* (2018), ao analisarem a polpa de sapota-do-Solimões (*Quararibea cordata* Vischer) em estádios de maturação diferentes, observaram um aumento dos sólidos solúveis e uma diminuição na acidez titulável atribuídos ao consumo dos ácidos orgânicos como substratos para a respiração, reações bioquímicas como a hidrólise do amido, entre outras reações importantes que ocorrem neste período.

4.3.2 Umidade e cor do tarumã em pó em dois estádios de maturação

Para a realização das demais análises os frutos passaram pela secagem por liofilização para obtenção da polpa do tarumã em pó. Os pós elaborados foram analisados com relação a umidade e cor (Tabela 2). Não existe legislação para farinhas de frutos, ao comparar com os resultados obtidos por Almeida *et al.* (2019) para farinhas da casca de jabuticaba estes autores encontraram teores de 10,57% de umidade. Ao comparar a umidade do pó com as das polpas dos frutos *in natura* observa-se que o pó obtido do fruto maduro apresenta maior umidade do que a do fruto imaturo, isso pode ter ocorrido devido a facilidade deste em absorver água rapidamente quando exposta ao ambiente.

A secagem dos frutos foi realizada através do método de liofilização. Segundo Nunes *et al.* (2016) este processo pode preservar a função da maioria dos compostos bioativos presentes nos frutos. A secagem por liofilização minimiza a ocorrência de reações que provocam degradação do produto, além de garantir manutenção de propriedades organolépticas e nutricionais (MOSQUERA-VIVAS; AYALA-APONTE; SERNA-COCK, 2019).

Tabela 2 - Análise de umidade e cor das polpas dos frutos do tarumã em pó (base seca) em dois estádios de maturação.

Análise	Estádios de maturação	
	Imaturos	Maduros
Umidade (%)	13,93 ± 0,25 ^b	15,11 ± 0,36 ^a
Cor		
L*	27,55 ± 0,37 ^a	21,59 ± 0,22 ^b
a*	3,15 ± 0,12 ^b	7,15 ± 0,11 ^a
b*	21,80 ± 0,16 ^a	18,63 ± 0,14 ^b
C*	22,03 ± 0,17 ^a	19,96 ± 0,15 ^b
°Hue	81,77 ± 0,25 ^a	69,00 ± 0,27 ^b

Valores expressos como média ± desvio padrão; L*= luminosidade. L*= 100 (branco total); L*= 0 (preto total). Cor L*, Minolta. a* positivo= tendência para cor vermelha; a* negativo= tendência para cor verde. Cor a*, Minolta. b* positivo= tendência para cor amarela; b* negativo= tendência para cor azul. Cor b*, Minolta. C*= cromaticidade, •C* = 0 (cinzento), maior valor indica maior pureza ou intensidade da cor. Ângulo °HUE = tonalidade, 0° = vermelho; 90° = amarelo; 180° = verde; 270° = azul. Médias seguidas de mesma letra, na mesma linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey no nível de 5% de significância.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

A coloração de frutas e legumes reflete a presença de componentes pigmentados, como a clorofila, os carotenoides e as antocianinas. Os compostos que possuem pigmentos são destaques em relação a sua capacidade antioxidante (CÖMERT; MOGOL; GÖKMEN, 2020).

A variação de coloração entre as polpas em pó é dada através dos valores obtidos pelas coordenadas L^* , a^* , b^* e os índices colorimétricos C^* e $^{\circ}H$ (Tabela 2) e observadas visualmente na Figura 11. A redução da luminosidade (L^*) está relacionada com o grau de maturação dos frutos, caracterizando coloração mais escura quando maduro e com baixa intensidade luminosa; pois quanto mais longe de 100 (branco total) mais escura é a amostra. O parâmetro a^* aumentou para a polpa em pó dos frutos maduros e como os resultados são positivos estes indicam tendência para coloração vermelha. Para coordenada b^* ocorreu uma redução do estágio imaturo para o maduro, isso devido o desenvolvimento do fruto e consequente maturação, sendo que valores positivos indicam tendências de cor amarela ao final da maturação.

A perda de coloração verde dos frutos é uma alteração comum devido a degradação de pigmentos como clorofila presentes nas células vegetais. O pH é um agente responsável por esta degradação, na qual ocorre o extravasamento dos ácidos orgânicos, promovendo a oxidação deste pigmento. A partir destas reações são então formados outros compostos, como as antocianinas que são responsáveis pela coloração azul e vermelho (CHITARRA; CHITARRA, 2005; MAIEVES *et al.*, 2017).

A cromaticidade (C^*) das amostras apresentaram variação para os pós, o que pode ser explicado pela presença de alguns pigmentos em pequenas quantidades, oriundos das cascas dos frutos já que estas não foram retiradas para obtenção das polpas em pó. No entanto a polpa em pó dos frutos imaturos apresenta um valor de C^* maior que pode indicar uma coloração mais intensa quando comparados a cor mais opaca da polpa em pó dos frutos maduros. O ângulo de Hue ($^{\circ}H$) apresentou tendência à tonalidade vermelha em ambas as amostras. Canuto *et al.* (2010), indicam que as polpas de açaí apresentam tonalidade amarelo-avermelhada por apresentar um ângulo $^{\circ}H$ 48,7, o que corrobora com os valores obtidos para tarumã que foram superiores em ambos os estádios de maturação, com tendência à cor vermelha (Figura 11 - C e D).

Segundo estudos de Cömert; Mogol; Gökmen (2020), ao resumir o conteúdo de grupos antioxidantes e compostos pigmentados como clorofila, carotenoides, antocianinas em frutos e legumes, os autores relacionam a capacidade antioxidante com a coloração dos frutos. Aqueles com coloração escura possuem valores acima de $^{\circ}H$ 180 e, consequentemente, podem apresentar capacidade antioxidante elevada por terem altos níveis de antocianinas e compostos fenólicos totais. Frutos que possuem alta capacidade antioxidante podem apresentar ângulo

menores que °H 20; faixas entre °H 20 e °H 180 indicam uma capacidade antioxidante considerada baixa. Relacionando as considerações feitas pelos autores, o presente estudo estaria dentro da faixa com baixa capacidade antioxidante com relação aos valores obtidos para a tonalidade dos frutos de tarumã em pó.

Figura 11 - Frutos imaturos (A), maduros (B) e as polpas em pó imatura (C) e madura (D) do tarumã nos diferentes estádios de maturação.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

4.3.3 Composição de minerais

A composição centesimal de frutas é importante para definir os teores de nutrientes que se encontram no alimento, dentre estes os minerais fazem parte e são elementos importantes para saúde do corpo humano, e a deficiência destes nutrientes pode causar doenças relacionadas a desmineralização óssea (osteoporose) (MENDES-FILHO; CARVALHO; SOUZA, 2014).

O mineral majoritário (Tabela 3) determinado neste estudo, foi o potássio, para os dois estádios de maturação, apresentando maior quantidade na polpa madura em pó. Este elemento é considerado importante regulador de contrações musculares. Em seguida vem o cálcio diretamente relacionado a formação óssea e prevenção de osteoporose e o magnésio que é mediador das contrações musculares e transmissões de impulsos nervosos, além de auxiliar na fixação do cálcio (GRILLO *et al.*, 2020).

Comparando os resultados obtidos com os encontrados por Gomes *et al.* (2019) para polpas de uvas Niágara e Bordo, que apresentam os respectivos conteúdos de potássio (433,69 mg.100 g⁻¹ e 623,89 mg.100 g⁻¹), cálcio (12,01 mg.100 g⁻¹ e 8,72 mg.100 g⁻¹) e magnésio (10,45 mg.100 g⁻¹ e 5,90 mg.100 g⁻¹), observa-se valores superiores para uvas Niágara em relação a todos os elementos, para uvas Bordo os resultados obtidos para cálcio e magnésio são inferiores aos encontrados para as polpas em pó do tarumã. Gordon *et al.* (2012), ao analisarem frutos de açaí em estágio de maturação diferentes, obtiveram resultados para potássio (4271 mg.100 g⁻¹ para imaturos e 930 mg.100 g⁻¹ para maduros), cálcio (962 mg.100 g⁻¹ para imaturos e 930 mg.100 g⁻¹ para maduros), e magnésio (397 mg.100 g⁻¹ para imaturos e 172 mg.100 g⁻¹ para maduros) superiores ao deste trabalho em ambos os estádios de maturação. Estes autores descrevem que com o avanço do grau de maturação do açaí os macronutrientes diminuem, com exceção para o sódio e o zinco.

Tabela 3 - Análise de minerais (base seca) das polpas em pó dos frutos do tarumã em dois estádios de maturação.

Minerais (mg.100 g ⁻¹)	Estádios de maturação	
	Imaturos	Maduros
Potássio (K)	118,90 ± 4,61 ^b	158,04 ± 5,65 ^a
Cálcio (Ca)	9,15 ± 0,90 ^a	9,13 ± 0,96 ^a
Magnésio (Mg)	8,75 ± 0,13 ^a	8,60 ± 0,30 ^a
Zinco (Zn)	0,27 ± 0,08 ^a	0,24 ± 0,06 ^a
Ferro (Fe)	0,06 ± 0,03 ^a	0,03 ± 0,01 ^a

Valores expressos como média ± desvio padrão; Médias seguidas de mesma letra, na mesma linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey no nível de 5% de significância.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Os teores de zinco e ferro encontrados para a tarumã são superiores aos valores obtidos por Gomes *et al.* (2019) em polpas de uvas Bordo (0,016 mg.100 g⁻¹ e 0,019 mg.100 g⁻¹, respectivamente), para uvas Niágara (0,08 mg.100 g⁻¹ e 0,18 mg.100 g⁻¹, respectivamente) somente teor de ferro é superior ao encontrado para o tarumã. Os microelementos são necessários em pequenas quantidades e a deficiência desses elementos tem efeitos na saúde humana (CAMPBELL, 2014).

4.3.4 Compostos fenólicos totais (CFT), atividades antioxidante (DPPH e ABTS) e anti-inflamatória dos extratos do tarumã em pó

Os compostos fenólicos totais (Tabela 4) foram maiores para o pó obtido dos frutos imaturos, o que está relacionado ao avanço da maturação dos frutos, na qual ocorre a conversão dos compostos solúveis em insolúveis devido a ligação dos polissacarídeos na parede celular dos frutos. Nos frutos, estes compostos além de atuarem na proteção contra pragas nas plantas, demonstram ter influência no valor nutricional e na qualidade sensorial, além de cores, texturas e sabores específicos (EVERETTE *et al.*, 2010; BENCHIKH *et al.*, 2014).

Estudos realizados por Casarin *et al.* (2016) para farinha de amora-preta apresentou 344,94 mg de ácido gálico.100 g⁻¹ de amostra valor inferior de compostos fenólicos, quando comparados aos da polpa em pó do tarumã nos dois estádios de maturação. Entre os frutos citados anteriormente de coloração semelhante ao tarumã ressalta-se que este apresentou valores intermediários para os CFT.

Essas diferenças estão relacionadas a diversidade dos compostos fenólicos, a natureza do composto, o método de extração e a eficiência deste, tamanho das amostras, tempo e armazenamento. A solubilidade dos fenólicos tem variação conforme a polaridade do solvente utilizado, grau de polimerização, e as interações dos demais compostos presentes (ANGELO; JORGE, 2007).

Tabela 4 - Compostos fenólicos totais, atividades antioxidantes e anti-inflamatória (base seca) das polpas em pó dos frutos do tarumã em dois estádios de maturação.

Análise	Estádios de maturação	
	Imaturos	Maduros
CFT	474,91 ± 10,15 ^a	383,16 ± 4,44 ^b
ABTS	319,98 ± 0,29 ^a	287,74 ± 1,70 ^b
DPPH	1019,25 ± 17,25 ^b	2583,50 ± 36,50 ^a
Anti-inflamatória	35,58 ± 0,16 ^a	33,73 ± 0,31 ^b

Valores expressos como média ± desvio padrão; CFT: Compostos Fenólicos Totais (mg EAG.100 g⁻¹ amostra); ABTS: Atividade antioxidante pelo radical ABTS (µM TROLOX.g⁻¹ de amostra); DPPH: Atividade antioxidante pelo radical DPPH, expresso em EC₅₀ (mg.L⁻¹); Anti-inflamatória: (µmol TROLOX.g⁻¹ de amostra). Médias seguidas de mesma letra, na mesma linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey no nível de 5% de significância.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Com relação a atividade antioxidante, determinada pelos métodos ABTS e DPPH, observou-se que os frutos, no estágio imaturo possuem maiores valores quando comparados com aqueles do estágio maduro (Tabela 4). Deve-se ressaltar que a atividade antioxidante medida pelo método de captura dos radicais DPPH, dada pelo valor de EC_{50} , é calculada pela concentração de extrato em $mg.L^{-1}$ com capacidade de redução de 50% da concentração inicial de DPPH, ou seja, quanto menor o valor de EC_{50} , maior a atividade antioxidante. O extrato proveniente da polpa em pó do tarumã imaturo apresentou maior capacidade antioxidante, com valor estatisticamente diferente ($p \leq 0,05$) do extrato obtido da polpa em pó do tarumã madura.

Estudos de Macharek; Hanchi (2017), ao analisarem frutos de limão em estádios de maturação diferentes, constataram que os frutos imaturos apresentaram valores de DPPH maiores do que quando avaliados na fase de maturação completa. Estes autores relacionam essa diminuição ao maior conteúdo de compostos fenólicos totais que podem acabar afetando estes resultados. Estes fatores podem ter influenciado nos valores do presente estudo, já que o extrato da polpa em pó imatura foi superior em ambas análises.

Para a atividade antioxidante analisada pelo radical ABTS foram obtidos valores maiores para as polpas imaturas em pó do que para as polpas maduras em pó, sendo que quanto maior o valor da concentração (μM Trolox. g^{-1}) maior é o potencial antioxidante do extrato. Assim, como no método de DPPH, o extrato proveniente da polpa imatura em pó apresentou maior atividade antioxidante, com valores de μM Trolox. g^{-1} estatisticamente diferente ($p \leq 0,05$) do extrato obtido da polpa madura do tarumã em pó.

Estudos de Gordon *et al.* (2012) em frutos de açaí em diferentes estádios de maturação apresentaram atividade antioxidante pelo método de captura do radical ABTS de $17,0 \mu M$ Trolox. $100 g^{-1}$ amostra seca para frutos imaturos e $2,78 \mu M$ Trolox. $100 g^{-1}$ amostra seca para frutos maduros. Os resultados encontrados para as polpas do tarumã foram inferiores aos do açaí, porém, observou-se o mesmo comportamento de redução da atividade antioxidante com o aumento do grau de maturação. Essas diferenças ocasionadas pelo processo de desenvolvimento dos frutos podem ser atribuídas ao conteúdo de compostos fenólicos encontrados nas amostras imaturas (GORDON *et al.*, 2012).

Esse comportamento foi observado por outros autores, como Castrejón *et al.* (2008), que relataram que os teores de compostos fenólicos e a atividade antioxidante apresentaram variação significativa, diminuindo ao longo do amadurecimento para amostras de mirtilo (*Vaccinium corymbosum* L.). Certa quantidade de fenóis é acumulada em frutos não amadurecidos, justificando o fenômeno da proteção dos frutos de doenças que possam ser transmitidas durante a pré-maturação. Com o avanço do processo de amadurecimento, os fenóis

tendem a se oxidar e colaboram para biossíntese de antocianinas que se acumulam durante este período (BELWAL *et al.*, 2019).

A atividade anti-inflamatória foi avaliada obtendo valores maiores para o extrato obtido da polpa em pó dos frutos imaturos quando comparada aos frutos maduros. Gómez-Maqueo *et al.* (2019) analisaram a atividade anti-inflamatória pelo ensaio de eliminação do radical óxido nítrico (NO %) para duas variedades de peras espinhosas (*Opuntia ficus-indica* L.) obtiveram resultados para polpa das variedades Pelota e Sanguinos de 300,6 mmol Trolox.g⁻¹ e 273,6 mmol Trolox.g⁻¹, respectivamente, resultados superiores ao obtidos no presente estudo para as polpas do tarumã em pó.

Estes autores (GÓMEZ-MAQUEO *et al.*, 2019) utilizaram o processo de alta pressão hidrostática com fatores controlados o que pode ter aumentado o potencial dos extratos da peras, outro fator que pode ter influenciado para estes valores é o solvente utilizado para extração que foi metanol, que pode ser considerado mais eficaz para extração dos compostos que inibem a produção do radical NO (utilizado no presente estudo), resultados que entram em concordância com os obtidos por Umamahesh *et al.* (2019) e Boora *et al.* (2014) os quais relaram que a utilização do metanol como solvente apresenta melhores resultados quando comparados aos extratos aquosos. Porém, as características de cada fruto podem interferir nos resultados, devido o comportamento de cada espécie durante a interação com o solvente.

Os extratos obtidos para as polpas em pó do tarumã são interessantes e destacam-se pelo uso de água como solvente único, podendo ser fonte de estudos futuros para aplicação destas polpas em pó como matéria-prima para a aplicação em medicamentos para indústria farmacêuticas.

4.4 CONCLUSÃO

Os frutos do tarumã apresentaram diferenças significativas com relação a composição centesimal quando avaliados em diferentes estádios de maturação. Características como a diminuição da acidez, o aumento nos teores de sólidos solúveis, do pH e nos teores de açúcares demonstraram o amadurecimento dos frutos nos períodos estudados. Os minerais majoritários nas polpas em ambos os estádios de maturação foram o potássio, sendo mais significativo a presença deste nas polpas maduras, seguido do cálcio e magnésio. A coloração mais escura destaca-se tanto do fruto *in natura* quanto na polpa em pó no estágio maduro, sendo uma matéria-prima com potencial para obtenção de um corante ou pigmento de fonte natural para alimentos, fármacos, entre outras áreas.

A atividade antioxidante e o teor de compostos fenólicos totais apresentaram os melhores resultados para os frutos imaturos, atribuídos ao maior conteúdo de compostos fenólicos totais e pela presença de compostos não-fenólicos que podem interferir nos resultados. A atividade anti-inflamatória foi maior nos frutos imaturos.

A caracterização de frutos ainda pouco estudados, como o tarumã, pode dar início a exploração das propriedades destes, principalmente em relação ao teor de açúcares, atividade antioxidante, compostos fenólicos visando posterior aplicação em produtos, tanto da indústria alimentícia como da indústria farmacêutica. Trabalhos futuros com os frutos do tarumã devem ser realizados para conhecimento do comportamento dos compostos bioativos presentes.

5. SELEÇÃO DE VARIÁVEIS NO PROCESSO DE EXTRAÇÃO E AVALIAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DA POLPA EM PÓ DOS FRUTOS DO TARUMÃ (*Vitex megapotamica*)

5.1 INTRODUÇÃO

Os frutos estão entre os alimentos mais estudados para a extração de compostos bioativos, com destaque para os que possuem coloração escura (CASAGRANDE, 2014; JIANG; XIONG, 2016). Os bioativos compreendem diversos compostos, como os antioxidantes, que se originam de plantas e são constituídos por compostos fenólicos, que por mudanças nas estruturas são chamados de polifenóis (ANGELO; JORGE, 2007). Os polifenóis são considerados importantes na qualidade e segurança de alimentos, além de serem benéficos para saúde ao longo prazo (ARAPITSAS, 2012). Dentre os fenóis existentes, destacam-se os flavonoides, ácidos fenólicos, taninos, entre outros (MANGANARIS *et al.*, 2014).

Estudo realizado por Onofre *et al.* (2016), demonstram que as folhas do tarumã (*Vitex megapotamica*) possuem potencial antioxidante e a presença de compostos medicinais. Os frutos do tarumã apresentaram compostos bioativos em seus extratos, uma das maneiras de melhorar os rendimentos destes compostos pode ser através da extração. A extração sólido/líquido é um processo na qual um solvente age na estrutura do vegetal, interagindo e retirando o composto de interesse. Para extrações de matrizes vegetais os métodos utilizados devem ser escolhidos de acordo com a parte do vegetal a ser utilizada (caules, folhas, frutos) e o composto de interesse (NOVELLO, 2015; VIEIRA, 2015). O processo de extração sólido-líquido é uma técnica amplamente utilizada, é um método fácil, de baixo custo, e tem sua eficiência com base na otimização das condições de processo, como temperatura, razão sólido/líquido, solvente e tempo da extração (MATTOS, 2017).

Para desenvolver os procedimentos e avaliar os parâmetros de um processo de extração, a aplicação de ferramentas, como o uso de planejamento experimental, apresenta inúmeras vantagens, a começar pela minimização no número de ensaios experimentais, e ainda pela possibilidade de se avaliar uma variável individualmente, ou a interação de duas variáveis, e explorar o experimento de maneira completa (SCHNITZLER; GRASSI; QUINAIA, 2009).

O presente trabalho teve como objetivo selecionar as variáveis no processo de extração de compostos bioativos da polpa em pó dos frutos maduros do tarumã (*Vitex megapotamica*), com foco na quantificação da atividade antioxidantes pelos radicais DPPH e ABTS e compostos fenólicos com posterior quantificação dos demais compostos bioativos.

5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

5.2.1 Colheita e preparo dos frutos

Os frutos do tarumã foram coletados no ano de 2019, nas áreas pertencentes ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul – IFRS *Campus* Sertão, na cidade de Sertão/RS, Brasil (Latitude 28° 2' 26" S, Longitude 52° 16' 25" O), em dois estádios de maturação, determinados através do cálculo do *ratio* (sólidos solúveis totais/acidez total titulável).

Os frutos foram encaminhados ao Laboratório de Qualidade de Alimentos da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), *Campus* Pinhalzinho/SC, Brasil, onde foram limpos, através da remoção de folhas; sanitizados com solução de hipoclorito de sódio (200 mg.kg⁻¹) durante 15 minutos, lavados em água corrente, suspensos em peneiras para remoção do excesso de água.

5.2.2 Preparo dos extratos

5.2.2.1 Obtenção da polpa dos frutos em pó

Os frutos *in natura* inteiros foram perfurados com auxílio de uma agulha de 2 mm de diâmetro. Optou-se por realizar a perfuração, antes do congelamento das amostras, para facilitar a evaporação da água presente na polpa dos frutos durante o processo de desidratação. Os frutos foram congelados para evitar um prévio processo de oxidação pela exposição da polpa, o que poderia afetar os teores de compostos bioativos.

Os frutos foram congelados em Ultrafreezer (ULT 335/710 D Vertical, Indrel, Brasil) durante 24 horas a -86 °C, desidratados a -60 °C sob pressão de 0,05 mTorr de vácuo em liofilizador (TFD 5503, IIShin, Holanda) durante 24 horas e em seguida despolpados. As polpas foram novamente congeladas em Ultrafreezer (-86 °C/24 horas) e novamente submetidas à liofilização (-60 °C/0,05 mTorr/24 horas) até atingir uma umidade entre 14% e 15%. Após, as polpas foram trituradas em liquidificador industrial de alta rotação (Spolu, Brasil), homogeneizadas em peneira (32 *mesh*), e armazenadas em embalagens metálicas com o uso de vácuo, sob congelamento (-86 °C).

5.2.2.2 Métodos de extração

As extrações foram realizadas de acordo com as metodologias descritas por Gruz *et al.* (2013) e por Rufino *et al.*, (2007a) com modificações. Em um Erlenmeyer de 250 mL foram misturados 1 g da polpa em pó madura do tarumã, previamente quantificada, com 30 mL de água destilada. Após a homogeneização foi realizada leitura em pHmetro (mPA210, MS Technopon, Brasil) para ajuste do pH das amostras com o uso de uma solução estoque A de ácido cítrico 0,1M e uma solução estoque B de fosfato de sódio dibásico 0,2M conforme descrito por Gomori (1995) para obtenção dos pHs 5, 6, 7. As amostras foram conduzidas para um agitador orbital *shaker* (Luca-223, Lucadema, Brasil) com temperatura, agitação e tempo controlados. Após os sólidos suspensos foram filtrados, em seguida os extratos filtrados foram congelados a -86 °C em Ultrafreezer (ULT 335/710 D Vertical, Indrel, Brasil) até a análise.

Com base na literatura e em testes preliminares foram definidas as variáveis independentes utilizadas no planejamento experimental *Plackett-Burman* (PB) (Tabela 5). Para a realização das extrações seguindo o planejamento experimental, os parâmetros de extração foram alterados de acordo com o ponto do PB a ser avaliado (Tabela 6).

5.2.3 Estudo de variáveis no processo de extração

5.2.3.1 Testes preliminares e estudo de tempo de extração

Testes preliminares foram realizados a fim de servir como base para posterior realização do planejamento experimental visando a obtenção dos melhores resultados para a estudo do processo de otimização. Os testes também foram realizados para definição do equipamento a ser utilizado, sendo testados o agitador orbital *shaker* (Luca-223, Lucadema, Brasil) e o banho ultrassom (Q335D, Quimis, Brasil). Os parâmetros de extração corresponderam ao ponto central do delineamento experimental (pH 6,0; razão sólido/líquido de 1:40 e temperatura de 65 °C) com agitação de 200 rpm para o *shaker* e 60 kHz para o banho ultrassom, o tempo avaliado foi de 1 h a 5 h com retirada de amostras em intervalos de 1 h.

A cinética de extração foi realizada para definir o tempo para extração que obtivesse os melhores teores de compostos bioativos da polpa madura em pó. Com base na literatura que relata a extração de compostos bioativos em amplas faixas de tempo, tais como de 2 h (SEGOVIA *et al.*, 2016) a 24 h (BENGARDINO *et al.*, 2019), a faixa de tempo avaliado no presente estudo foi de 1 h à 14 h, com retirada de amostras do *shaker* em intervalos de 1 h. Os

parâmetros de extração utilizados corresponderam ao ponto central do delineamento experimental (pH 6,0; razão sólido/líquido de 1:40; agitação de 200 rpm e temperatura de 65 °C).

5.2.3.2 Delineamento experimental de extração

Com o intuito de observar a influência de determinadas variáveis no processo de extração estudado, foram definidas algumas variáveis, consideradas importantes para maximizar os resultados e a partir destas, realizou-se um delineamento experimental *Plackett-Burman* (PB), como descrito a seguir: pH (X_1); a relação entre a massa de amostra e o volume de solvente (X_2); a agitação (X_3); a temperatura (X_4) (Tabela 5). No caso do presente estudo o solvente utilizado foi água, devido a futura aplicação dos extratos em alimentos. O extrato obtido da polpa madura em pó do tarumã foi avaliado com relação aos compostos fenólicos totais e atividade antioxidante por DPPH e ABTS.

Tabela 5 - Variáveis independentes e níveis (valores reais e codificados) utilizados no planejamento experimental *Plackett-Burman* para extração dos compostos bioativos da polpa madura do tarumã em pó.

Variáveis independentes		-1	0	1
pH	X_1	5	6	7
Sólido:Líquido (g/mL)	X_2	1:50	1:40	1:30
Rotação (rpm)	X_3	100	200	300
Temperatura (°C)	X_4	50	65	80

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

A triagem foi realizada através da execução experimental de 11 ensaios, sendo, dentre estes, três utilizando o ponto central (variáveis de nível 0), os quais estão representados na Tabela 6. Os experimentos foram executados em dias diferentes e consecutivos a fim de considerar os fatores não controláveis que poderiam influenciar no processo.

Tabela 6 - Ensaio do planejamento experimental *Plackett- Burman*.

ENSAIO	pH (X1)	S:L (g/mL) (X2)	AGITAÇÃO (rpm) (X3)	TEMPERATURA (°C) (X4)
1	7 (1)	01:50 (-1)	100 (-1)	80 (1)
2	7 (1)	01:30 (1)	100 (-1)	50 (-1)
3	7 (1)	01:30 (1)	300 (1)	50 (-1)
4	5 (-1)	01:30 (1)	300 (1)	80 (1)
5	7 (1)	01:50 (-1)	300 (1)	80 (1)
6	5 (-1)	01:30 (1)	100 (-1)	80 (1)
7	5 (-1)	01:50 (-1)	300 (1)	50 (-1)
8	5 (-1)	01:50 (-1)	100 (-1)	50 (-1)
9 (C)	6 (0)	01:40 (0)	200 (0)	65 (0)
10 (C)	6 (0)	01:40 (0)	200 (0)	65 (0)
11 (C)	6 (0)	01:40 (0)	200 (0)	65 (0)

C: ponto central.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

5.2.4 Metodologias para quantificação dos compostos fenólicos, das atividades antioxidantes, flavonoides totais, antocianinas totais, carotenoides e identificação de compostos por CLAE

5.2.4.1 Compostos fenólicos totais

A quantificação do conteúdo de compostos fenólicos totais seguiu o método Folin-Ciocalteu. Em uma alíquota de 0,5 mL do extrato foi adicionado 2,5 mL de solução aquosa de Folin-Ciocalteu na concentração de 1:10 e 2,0 mL de carbonato de sódio a 7,5%. A mistura foi mantida no escuro por 2 horas em temperatura ambiente e em seguida foi realizada a leitura, em triplicata, da absorbância a 760 nm em espectrofotômetro (Cirrus 80 SA, Femto, Brasil). Um branco foi utilizado para calibrar o equipamento (ao invés da amostra uma alíquota de 0,5 mL de água destilada) conforme descrito por Singleton; Orthofer; Lamuela-Raventos (1999) e Roesler *et al.* (2007) com modificações.

A quantificação dos compostos fenólicos totais foi realizada através da curva padrão construída com ácido gálico (Apêndice 1). Os resultados da quantidade total de fenólicos dos extratos foram expressos em equivalentes de ácido gálico por 100 gramas de amostra (mg EAG.100 g⁻¹).

5.2.4.2 Atividade antioxidante pela captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

As análises das amostras foram realizadas segundo descrito por Rufino *et al.* (2007a). Foi construída uma curva padrão com o radical DPPH (Apêndice 2). Para a leitura das amostras, em ambiente escuro, uma alíquota de 0,1 mL de cada diluição do extrato foi adicionada em tubos de ensaio com 3,9 mL do radical DPPH e homogeneizada em agitador (Vórtex Mixer K45-2810, Kasvi, Brasil). Álcool metílico foi usado como branco para calibrar o espectrofotômetro (Cirrus 80 SA, Femto, Brasil). As leituras foram realizadas à 515 nm, em triplicata. A diminuição da leitura da absorbância das amostras está correlacionada com o controle.

A leitura da absorbância final para o cálculo do EC₅₀ foi realizada após a estabilização da absorbância (tempo EC₅₀). A partir das absorbâncias obtidas nas diluições e suas devidas concentrações foi gerada uma curva (Apêndice 3) e obtida a equação da reta. A absorbância do controle foi dividida por 2 e o resultado desta divisão é utilizado em substituição ao valor de Y na equação da reta da curva das diluições, sendo então calculada a atividade antioxidante. O resultado é expresso em mg.L⁻¹, que corresponde à amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH (EC₅₀).

5.2.4.3 Atividade antioxidante pela captura do radical ABTS (2,2'-azino-bis(ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico))

O método de descoloração do ABTS foi realizado de acordo com metodologia descrita por Rufino *et al.* (2007b). O radical gerado através da reação de ABTS com a solução de persulfato de potássio (K₂S₂O₈) foi incubado a temperatura ambiente no escuro durante 16 horas previamente a análise. Uma solução de 5 mL do radical ABTS juntamente com 88 µL de solução de persulfato de sódio, foi incubada a temperatura ambiente no escuro durante 16 horas previamente a análise. Em seguida, a solução de 16 horas foi misturada e diluída na concentração de 1:10 com álcool etílico até atingir um valor de absorbância de 0,70 ± 0,05, determinado em 734 nm. Para as leituras das amostras foi construída uma curva padrão com o radical Trolox (Apêndice 4).

Para o cálculo da atividade antioxidante foram realizadas diluições do extrato a ser analisado. Alíquotas de 30 µL de cada diluição dos extratos foi adicionada, em duplicata, a tubos de ensaio com 3 mL do radical ABTS e homogeneizada por 1 minuto em agitador (Vórtex Mixer K45-2810, Kasvi, Brasil). Após 6 minutos de mistura a leitura da absorbância foi

realizada (734 nm), e o álcool etílico foi utilizado como branco para calibrar o espectrofotômetro (Cirrus 80 SA, Femto, Brasil). A partir das absorvâncias obtidas das diferentes diluições dos extratos, foi plotada a absorvância no eixo Y e a concentração (mg.L^{-1}) no eixo X (Apêndice 5).

A partir da equação da reta obtida na curva das diluições e da absorvância obtida na concentração de 1000 μM de Trolox na curva padrão substituída na equação das diluições, calculou-se a atividade antioxidante. O resultado foi expresso em $\mu\text{M Trolox.g}^{-1}$ de amostra.

5.2.4.4 Flavonoides totais

O teor de flavonoides totais do extrato foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Zhishen *et al.* (1999), com modificações, na qual adicionou-se 0,25 mL da amostra em tubos de ensaio com 1,25 mL de água deionizada e 75 μL da solução de nitrito de sódio (NaNO_2) 5%, agitou-se em agitador de tubos (Vórtex Mixer, K45-2810 Kasvi, Brasil) e manteve-se a mistura em repouso por 6 min a temperatura ambiente (25 °C). Após, adicionou-se 150 μL da solução de cloreto de alumínio (AlCl_3) 10%, agitou-se novamente e deixou-se em repouso por mais 5 min a temperatura ambiente. Adicionou-se 0,5 mL da solução de hidróxido de sódio (NaOH) 1 mol.L^{-1} e 2,5 mL de água destilada seguida de agitação em vórtex. A medida da absorvância foi realizada em espectrofotômetro (Cirrus 80 SA, Femto, Brasil) a 510 nm.

Para determinação dos flavonoides totais foi utilizada a catequina na concentração de 0,2 a 2,0 mg.mL^{-1} para construção da curva analítica (Apêndice 7). Os valores obtidos foram expressos em concentração de miligramas de equivalentes de catequina por 100 gramas de amostra (mg EC.100 g^{-1} de amostra).

5.2.4.5 Antocianinas totais

A determinação das antocianinas totais seguiu a metodologia descrita por Zhao *et al.* (2019), com adaptações. O método diferencial de pH permite a medição precisa e rápida de antocianinas totais, mesmo na presença de pigmentos degradados polimerizados e outros compostos interferentes. As antocianinas sofrem transformações estruturais reversíveis devido às mudanças de pH, manifestadas por espectros de absorvância diferentes.

O oxônio colorido e o hemiacetal incolor são observados predominantemente em pH 1,0 e 4,5. Foi adicionado 1 mL de extrato em cada um dos dois frascos volumétricos de 10 mL, um contendo o cloreto de potássio tampão (pH 1,0) e o outro contendo o tampão acetato de sódio (pH 4,5). As misturas foram deixadas em repouso durante 15 min. em temperatura ambiente, e a absorvância medida a 510 nm e 700 nm em espectrofotômetro (Cirrus 80 SA, Femto, Brasil) contra uma cubeta de quartzo com água destilada (branco). O teor de pigmento foi calculado como equivalentes de cianidina-3-glucido. Portanto, os resultados foram convertidos em miligramas de equivalentes de cianidina-3-glucósido por grama de amostra (mg ECG.g^{-1} de amostra).

5.2.4.6 Carotenoides

Para determinação de carotenoides a metodologia utilizada foi baseada no método adaptado por Monteiro; Lima (2017) de Sims; Gamon (2002), com modificações. Quantificou-se em triplicata 2,5 g de amostra em tubos plásticos com tampa; adicionou-se 10 mL da solução extratora de acetona:TRIS (2-amino-2-hydroxymethyl-1,3-propanediol) na proporção 4:1; centrifugou-se a 2000 rpm por 5 minutos em centrífuga (SL-700, Solab, Brasil). Em seguida foi realizada a leitura da absorvância, em triplicata, do sobrenadante de cada tubo em espectrofotômetro (Cirrus 80 SA, Femto, Brasil) nos comprimentos de onda: 663 nm para clorofila a; 647 nm para clorofila b; 537 nm para antocianinas; 470 nm para carotenoides. O branco utilizado para zerar o aparelho foi obtido pela substituição da amostra pela solução acetona:TRIS. Para o cálculo do teor de carotenoides é necessário calcular o valor de clorofila a; clorofila b; antocianina; os resultados foram expressos em miligramas de carotenoides por 100 gramas de amostra (mg.100 g^{-1}).

5.2.4.7 Identificação de compostos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Os compostos do extrato dos frutos do tarumã foram caracterizados e quantificados usando um sistema HPLC conectado a um espectrômetro de massa com single quadrupolo (LCMS 2020; Shimadzu, Kyoto, Japão) equipado com uma fonte de ionização por electro pulverização (ESI) de acordo com o método descrito por Arruda *et al.* (2018) com adaptações, e orientações do manual de instrução da Shimadzu (2018). A separação cromatográfica dos compostos fenólicos foi realizada em uma coluna Shim-pack VP-ODS III (150 × 2,0 mm id, tamanho de partícula 4,6 µm, Shimadzu, Kyoto, Japão) em forno termostato a 40 °C. A temperatura do amostrador automático foi mantida a 15 °C e o volume de injeção foi de 10 µL. Fases móveis consistiam em 0,1% de ácido fórmico em água (eluente A) e acetonitrila (eluente B) a uma taxa de fluxo de 0,40 mL.min⁻¹. As condições de eluição foram as seguintes: 0-1 min, 5% B; 1-4 min, 5 a 60% de B; 4-7 min, 60-70% de B; 7-10 min, 70 a 100% de B; 10-10,50 min, 100% B; 10,50-11 min, 100-5% B; 11-15 min, 5% B.

A fonte ESI foi operada no modo de íon negativo com os seguintes parâmetros principais: tensão capilar de 3,5 kV; temperatura do bloco de calor de 200 °C; temperatura da linha de dessolvatação de 250 °C; fluxo de gás de secagem (N₂) de 15 L.min⁻¹; fluxo de gás de nebulização (N₂) de 1,5 L.min⁻¹. Para cada padrão, a molécula desprotonada [M-H]⁻ foi usada como íon de identificação do composto e determinação do tempo de retenção.

Os compostos foram caracterizados por comparação de seus padrões de dissociação HPLC-ESI (-) MS e tempo de retenção com os padrões autênticos (Tabela 7). A quantificação dos compostos fenólicos caracterizados foi realizada por comparação com a curva de calibração de cada padrão. As soluções de estoque de cada composto padrão (1 mg.mL⁻¹) foram preparadas em metanol e armazenadas. Uma solução intermediária contendo todos os padrões (10 µg.mL⁻¹) foi preparada em ácido fórmico a 0,1% em água e as diluições dessa solução foram realizadas em 5 níveis diferentes para as curvas de calibração (1-10 µg.mL⁻¹). Os dados foram adquiridos e processados pelo software Labsolution (versão 5.53 SP2, Shimadzu). Os resultados foram expressos em micrograma por mililitro de extrato injetado (µg.mL⁻¹).

Tabela 7 - Identificação do composto através da massa carga (M/Z) e tempo de retenção (TR) para cada composto.

Composto	M/Z¹	TR²
Ácido Caféico	179,05	5,287
Ácido Ferrulico	193,05	5,810
Ácido Gálico	169	2,013
Catequina	289	5,050
Rutina	609	5,467
Kaempferol	285	6,703
Mangiferin	421	5,160
Ácido fumarico	115	1,663
Quercetina	301	6,363
Ácido <i>p</i> -cumarico	163	5,673

1: Massa carga. 2: Tempo de retenção, expresso em minutos.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

5.2.5 Análise estatística

A análise estatística dos resultados foi realizada com o *Software* STATISTICA 13.2 Trial (*Statsoft*), pela análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de média de Tukey a 5% de significância. Para a análise dos resultados obtidos nos planejamentos experimentais foi utilizado o *Software* PROTIMIZA EXPERIMENTAL DESIGN com nível de significância de 10%.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Estudo de variáveis no processo de extração

5.3.1.1 Testes preliminares

Devido à falta de estudos com relação ao fruto do tarumã para extração de compostos bioativos e o desconhecimento sobre seu comportamento na extração, fez-se de extrema necessidade a realização de testes com a finalidade de avaliar as variáveis que possam interferir na obtenção de extratos contendo compostos bioativos.

Os melhores resultados para definição do equipamento para posterior realização do planejamento experimental foram obtidos no agitador orbital *shaker* (Tabela 8). Os resultados alcançados no presente estudo estão em concordância com os apresentados por Sousa (2018), que ao estudar diferentes métodos de extração para casca de café relatou maiores teores de compostos fenólicos para os extratos obtidos em *shaker* e com uso de água. O uso de agitador orbital *shaker* é considerado um método simples, eficiente e de fácil manuseio possibilitando a realização de vários ensaios conjuntamente. Outro ponto positivo do uso deste equipamento é que a agitação favorece a circulação convectiva proporcionando maior interação do solvente com o soluto de interesse, o que conseqüentemente aumenta os rendimentos das extrações (SILVA; SILVA, 2016).

Tabela 8 - Resultados dos testes preliminares para definição do equipamento (agitador orbital *shaker* ou banho ultrassom) para extração dos compostos bioativos da polpa madura do tarumã em pó (base seca).

Análise	Equipamentos	
	Agitador Orbital	Banho Ultrassom
CFT	147,32 ± 2,62 ^a	143,53 ± 2,62 ^a
ABTS	311,24 ± 2,33 ^a	237,10 ± 2,32 ^b
DPPH	2335,71 ± 85,71 ^b	2926,88 ± 48,12 ^a

Valores expressos como média ± desvio padrão; CFT: Compostos Fenólicos Totais (mg EAG.100 g⁻¹ amostra); ABTS: Atividade antioxidante pelo radical ABTS (μM TROLOX.g⁻¹ de amostra); DPPH: Atividade antioxidante pelo radical DPPH, expresso em EC₅₀ (mg.L⁻¹). Médias seguidas de mesma letra, na mesma linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey no nível de 5% de significância.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

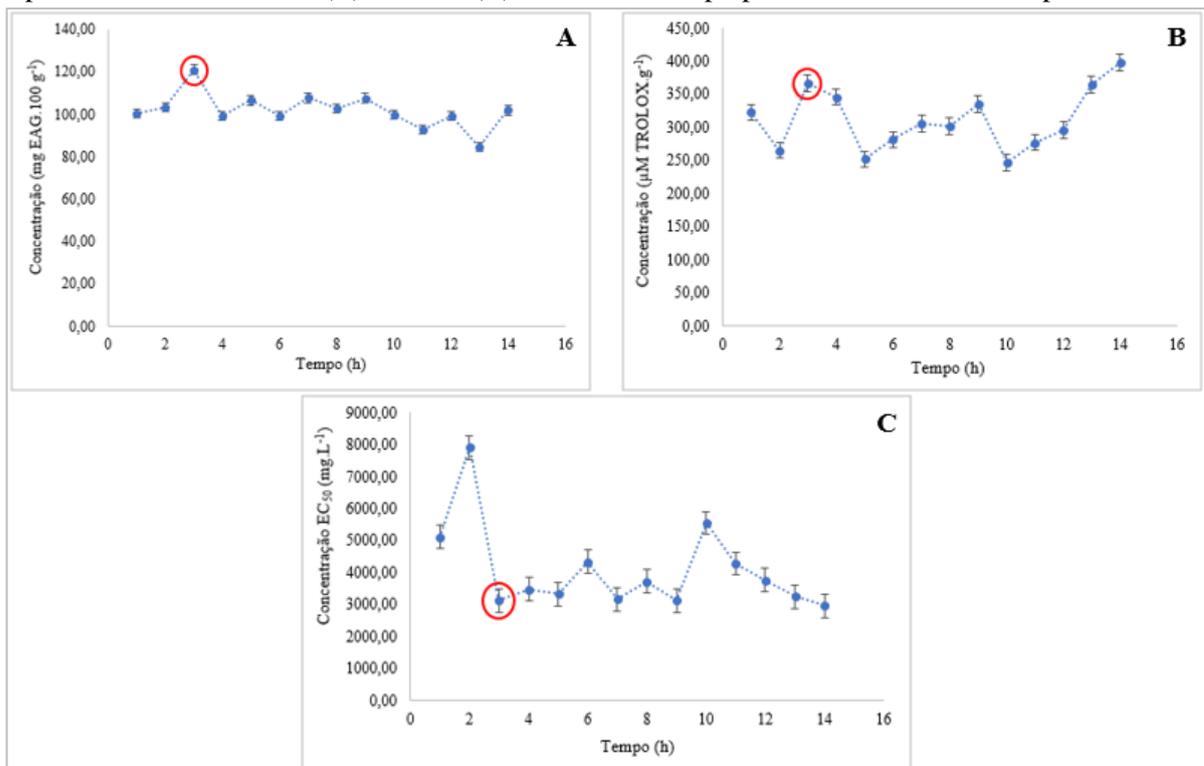
A água utilizada como solvente, apresentou resultados interessantes para este trabalho. Segundo Mukhopadhyay; Luthria; Robbins (2006), muitas extrações são realizadas com solventes orgânicos dissolvidos em água, a adição da água faz com que o material vegetal cresça, desta maneira permitindo que o solvente penetre nas partículas com facilidade aumentando a eficiência da extração.

Com o uso de água na extração não é necessário a evaporação dos solventes do extrato o que acarreta a diminuição de possíveis riscos na aplicação dos extratos em produtos alimentícios e a perda de compostos bioativos durante o processo de evaporação.

5.3.1.2 Estudo do tempo de extração

Para a cinética de extração (Figura 12) foi estabelecido a faixa de 1 hora à 14 horas de extração, sendo que ao longo deste período foi retirado um Erlenmeyer de extrato a cada hora e realizadas as análises de compostos fenólicos totais (CFT) (Figura 12 A), atividade antioxidante medida pelos radicais ABTS (Figura 12 B) e DPPH (Figura 12 C) respectivamente, observando a queda nos níveis destes compostos como referência para determinação do melhor tempo.

Figura 12 - Cinética de extração dos compostos fenólicos totais (CFT) (A), atividade antioxidante pela captura dos radicais ABTS (B) e DPPH (C) nos extratos da polpa madura do tarumã em pó.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Com três horas de extração, os resultados para as três variáveis avaliadas foram: maiores teores de CFT com 121,08 mg EAG.100 g⁻¹ de amostra e atividades antioxidantes medidas pelos radicais ABTS de 366,23 µM TROLOX.g⁻¹ de amostra e DPPH de 3123,33 EC₅₀ (mg.L⁻¹), importante ressaltar que quanto menor o valor de EC₅₀ maior a atividade antioxidante.

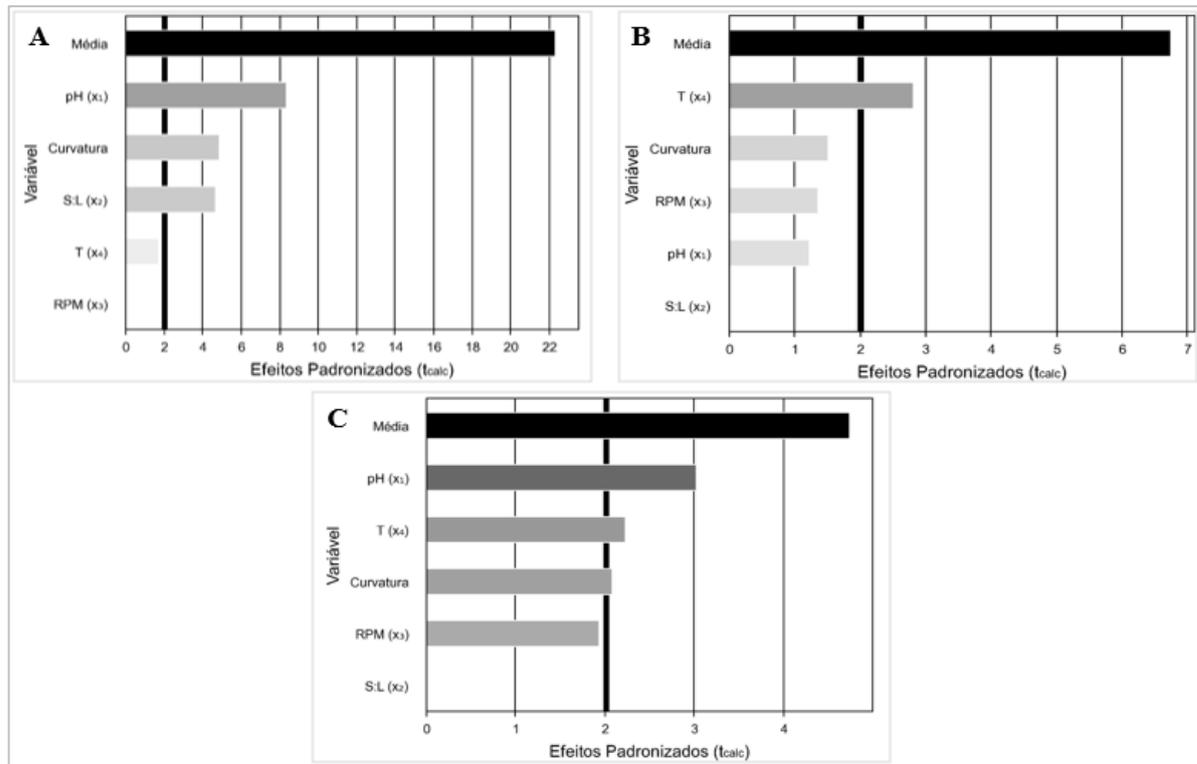
Após os resultados alcançados nos testes preliminares para o planejamento experimental definiu-se que o processo de extração seria realizado em agitador orbital *shaker* e o tempo de extração satisfatório foi considerado o de três horas.

5.3.2 Delineamento experimental de extração

5.3.2.1 Avaliação dos efeitos das variáveis de extração na obtenção de compostos bioativos da polpa madura do tarumã em pó

Na Figura 13 é apresentado os Diagramas de Pareto, sob forma de barras proporcionais para as variáveis estudadas, representando os efeitos que podem apresentar maior ou menor influência no conteúdo de CFT e na medição da atividade antioxidante pelos ABTS e DPPH nos extratos do tarumã em pó. A linha vertical representa o efeito mínimo comparativo (para um nível de confiança de 90%) para que as variáveis sejam consideradas, ou seja, as variáveis que têm influência na extração ultrapassam esta marcação.

Figura 13 - Diagrama de Pareto com os efeitos dos fatores investigados no planejamento experimental para obtenção de compostos fenólicos totais - CFT (A) e atividade antioxidante pelos radicais ABTS (B) e DPPH (C) nos extratos da polpa madura do tarumã em pó.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Os valores dos efeitos das variáveis que tiveram influência significativa sobre o processo de obtenção dos compostos nos extratos do tarumã estão apresentados na Tabela 9. Quando o efeito se apresenta de forma negativa demonstra que a variável independente tem que ser diminuída, quando este se apresenta de forma positiva a variável tem de ser aumentada, para que deste modo as variáveis de resposta tenham aumento em seus valores.

Tabela 9 - Efeitos das variáveis independentes na obtenção de compostos bioativos dos extratos da polpa madura do tarumã em pó.

Variáveis Dependentes	Variáveis Independentes	Efeitos	P-valor
CFT	X ₁	-80,69	0,0004
	X ₂	-45,19	0,0054
	X ₄	-16,2	0,1546
ABTS	X ₄	266,76	0,0380
DPPH	X ₁	-3161,92	0,0293
	X ₄	2336,5	0,0758

X₁: pH; X₂: Sólido:Líquido; X₃: Rotação; X₄: Temperatura. CFT: Compostos Fenólicos Totais (mg EAG.100 g⁻¹ amostra); ABTS: Atividade antioxidante pelo radical ABTS (μM TROLOX.g⁻¹ de amostra); DPPH: Atividade antioxidante pelo radical DPPH, expresso em EC₅₀ (mg.L⁻¹).

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Observou-se que o pH e a relação entre sólido:líquido tiveram maior influência na extração dos compostos fenólicos totais (Figura 13 A), notou-se que a temperatura também exerceu um efeito, porém determinou-se que apenas os efeitos que ultrapassassem a linha (nível de confiança de 90%) do Diagrama de Pareto seriam considerados influentes para este estudo, desta forma a temperatura não foi considerada. Ao analisar os efeitos (Tabela 5), percebeu-se que menores valores de pH e que extratos mais diluídos resultaram em uma maior extração dos compostos. As características ácidas do meio agem rompendo as membranas celulares facilitando a liberação dos compostos bioativos (MACHADO, 2014). Para a relação sólido:líquido a possível explicação para os resultados alcançados para CFT se deve ao fato de que quando esta proporção é baixa, a saturação é facilmente alcançada no sistema e a extração se torna incompleta; à medida que a relação aumenta, a viscosidade da solução de extração diminui e o número de moléculas dissolvidas em água aumenta, gerando maior rendimento (ZHANG *et al.*, 2020).

Para atividade antioxidante pela captura do radical ABTS (Figura 13 B), apenas a temperatura foi significativa ($p \leq 0,1$), sendo que os maiores valores deste parâmetro favoreceram o processo de extração. A temperatura desempenha um papel fundamental na eficiência dos processos de extração. Esse efeito pode estar relacionado ao aumento da solubilidade dos compostos, diminuição da viscosidade do solvente e da tensão superficial causando o enfraquecimento das ligações e fazendo com que ocorra a migração dos compostos para o solvente de extração (BENGARDINO *et al.*, 2019).

Os valores para a atividade antioxidante determinada pela de captura do radical DPPH (Figura 13 C), foram influenciados pelas variáveis pH e temperatura ($p \leq 0,1$). Ao verificar os efeitos destas variáveis (Tabela 9), tem-se que as melhores condições de extração ocorreram em menores valores de pH, assim como para compostos fenólicos e, em maiores temperaturas, assim como para a atividade antioxidante avaliada pelo radical ABTS. Avaliando as variáveis similares que influenciaram o processo de extração é possível determinar um ponto do planejamento que melhor atende aos objetivos do estudo, ou seja, a otimização na extração dos compostos fenólicos e das atividades antioxidantes dos extratos do tarumã.

A avaliação das respostas do planejamento de modo geral demonstra que os melhores resultados foram obtidos em menores valores de pH (5) e em maiores temperaturas (80 °C) para ambos os compostos, atendendo estes quesitos os pontos quatro (pH 5, sólido:líquido 1:30, 300 rpm e 80 °C) e seis (pH 5, sólido:líquido 1:30, 100 rpm e 80 °C) se destacaram. Deve-se ressaltar que estes pontos não apresentaram a relação entre sólido:líquido que favorece a extração dos CFT, mas o efeito obtido com a análise de pH foi maior (-45,19 e -80,69 para sólido:líquido e

pH, respectivamente), sendo o parâmetro (sólido:líquido) desconsiderado, assim como a agitação que não apresentou influência para os compostos avaliados.

Comparando os resultados obtidos nestes dois pontos, observa-se na Tabela 10 que nas condições determinadas o ponto seis apresentou melhor atividade antioxidante medida por ambos os radicais, sendo apenas inferior para obtenção de CFT.

Tabela 10 - Ensaios do planejamento experimental e respostas do teor dos compostos fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante pela captura dos radicais ABTS e DPPH (base seca) para os extratos da polpa madura do tarumã em pó.

ENSAIO	CFT	ABTS	DPPH
1	99,10 ± 0,63 ^h	493,50 ± 0,35 ^b	2868,33 ± 12,58 ^g
2	43,25 ± 1,87 ^l	198,19 ± 2,44 ^{fg}	6222,22 ± 125,37 ^c
3	63,50 ± 0,88 ^j	103,06 ± 0,78 ⁱ	7191,67 ± 137,50 ^b
4	126,07 ± 0,25 ^f	346,50 ± 14,56 ^c	8008,33 ± 31,46 ^a
5	68,26 ± 0,21 ⁱ	257,69 ± 3,32 ^e	3591,67 ± 36,62 ^f
6	108,06 ± 0,62 ^g	717,73 ± 4,30 ^a	2758,33 ± 15,00 ^g
7	173,30 ± 0,24 ^b	319,55 ± 0,59 ^d	2720,83 ± 6,25 ^g
8	188,54 ± 2,07 ^a	123,56 ± 18,25 ^{hi}	2722,50 ± 82,50 ^g
9 (C)	148,89 ± 0,17 ^d	193,66 ± 7,40 ^g	4433,33 ± 158,33 ^d
10 (C)	144,11 ± 1,82 ^e	134,74 ± 0,73 ^h	4520,83 ± 45,83 ^d
11 (C)	160,70 ± 0,17 ^c	218,37 ± 5,19 ^f	3903,33 ± 81,45 ^e

C: Pontos centrais do planejamento. Valores expressos como média ± desvio padrão; CFT: Conteúdo Fenólico Total (mg EAG.100 g⁻¹ amostra); ABTS: Atividade antioxidante pelo radical ABTS (μM TROLOX.g⁻¹ de amostra); DPPH: Atividade antioxidante pelo radical DPPH, expresso em EC₅₀ (mg.L⁻¹).

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Os maiores teores de compostos fenólicos totais (Tabela 10) foram para os pontos sete e oito que apresentam a menor concentração sólido:líquido, corroborando com o descrito por Ali *et al.* (2017), os quais relataram que ao aumentar a quantidade do solvente ocorre o aumento do rendimento, e a presença de maiores quantidades de solvente favorecendo a extração.

A temperatura foi a variável que apresentou influência em ambas as variáveis independentes avaliadas. O efeito é positivo para os antioxidantes (ABTS e DPPH) o que pode demonstrar que para aumentar esses teores poderia ser utilizada o emprego de temperaturas maiores que 80 °C. O aumento da temperatura age sobre a estrutura da membrana da célula vegetal, deste modo a extração se torna mais acessível (PRASAD *et al.*, 2009). Todavia, aumentar a temperatura no processo de extração pode gerar a degradação térmica e a polimerização, principalmente dos CFT.

Costa *et al.* (2013), ao avaliarem os CFT em extratos aquosos, etanólicos e acetônicos da polpa do Noni (*Morinda citrifolia* Linn.) obtiveram teores de 12,75 mg EAG.100 g⁻¹; 20,33 mg EAG.100 g⁻¹ amostra, e 109,81 mg EAG.100 g⁻¹ amostra, respectivamente. Os resultados obtidos por estes autores (COSTA *et al.*, 2013) para os extratos aquosos e etanólicos são inferiores aos obtidos para os extratos do tarumã, já os extratos acetônicos apresenta valor próximo ao do presente estudo para o ponto. Huang *et al.* (2012), analisaram extratos metanoicos de mirtilos e encontraram valores de EC₅₀ de 0,42 mg.mL⁻¹, indicando alta capacidade antioxidante, comparado com este estudo, pois este valor é bem inferior ao do presente estudo.

Rufino *et al.* (2010) ao estudarem 18 frutos brasileiros apresentaram como resultado para ABTS valores de 64,5 µM Trolox.g⁻¹ de amostra para açaí e 317 µM Trolox.g⁻¹ de amostra para jabuticaba, ambos valores inferiores aos encontrados no presente estudo. Segundo Sucupira *et al.* (2012), o radical ABTS é altamente solúvel em água. O ensaio ABTS é mais aplicável para examinar antioxidantes hidrofílicos, enquanto o ensaio DPPH é mais adequado para antioxidantes hidrofóbicos (FLOEGEL *et al.*, 2011).

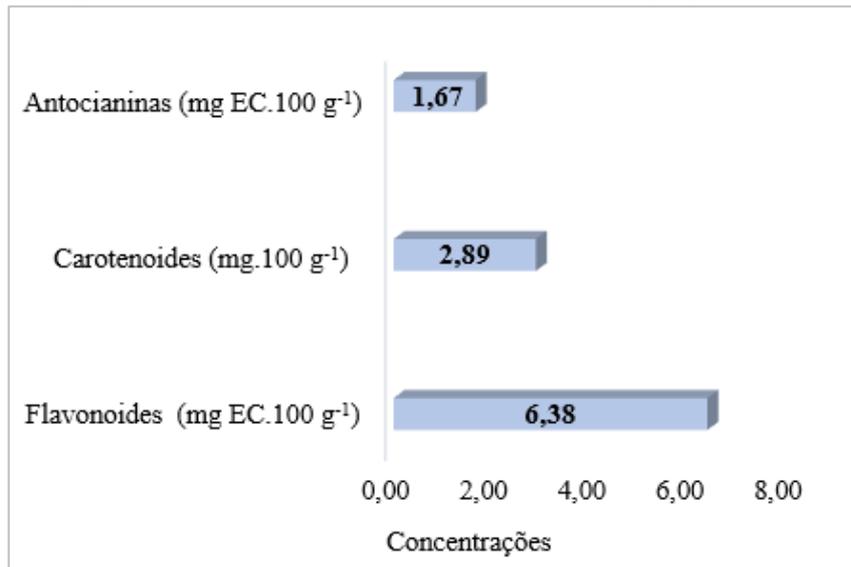
As diferenças nos teores de compostos fenólicos e atividades antioxidantes pode ocorrer por diversos motivos, a natureza de cada composto, a pureza do extrato, o método de extração aplicado e a sua eficiência, sendo a principal a peculiaridade do próprio tarumã quando comparado a frutos de coloração similar como açaí, uva, mirtilo.

Após uma análise detalhada de todos os resultados e das respostas obtidas através do planejamento experimental, o ponto seis foi definido como a condição otimizada da extração de compostos bioativos do tarumã. Após a determinação, repetiu-se a extração nestas condições, em triplicata, para que fosse confirmada a obtenção dos melhores resultados de extração dos compostos de interesse e obteve-se valores de 104,21 ± 0,02 mg EAG.100 g⁻¹ para compostos fenólicos totais, 742,71 ± 52,52, µM Trolox.g⁻¹ para captura do radical ABTS e um EC₅₀ de 2884,98 ± 61,31 mg.L⁻¹ para captura do radical DPPH, confirmando o ponto seis como a melhor condição e possibilitando a validação do planejamento experimental *Plackett-Burman*.

5.3.2.2 Flavonoides totais, antocianinas totais e carotenoides do extrato da polpa madura do tarumã em pó

A partir da definição da condição otimizada de extração (ponto seis), outro extrato foi obtido e este foi analisado de modo a conhecer mais sobre a composição bioativa do extrato do tarumã (Figura 14).

Figura 14 - Teores de antocianinas (mg ECG.g⁻¹ de amostra), carotenoides (mg.100 g⁻¹ amostra) e flavonoides (mg EC.g⁻¹ de amostra) (base seca) obtidos no extrato da polpa madura do tarumã em pó.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

As antocianinas são compostos bioativos, dentro de uma subclasse da classe dos flavonoides, considerados pigmentos ou corantes naturais, responsáveis pelas cores do vermelho ao azulado na maioria das flores, frutas e vegetais e, tem efeito protetivo contra luz ultravioleta e patógenos, além de serem atrativas para os animais polinizadores (SIGURDSON; TANG; GIUSTI, 2017). O interesse por estes pigmentos se deve as cores que podem ser produzidas e aos benefícios associados ao seu consumo, são solúveis em água e inertes podendo ser aplicados em produtos alimentícios com a função de corante (HE; GIUSTI, 2010; GORDILLO *et al.*, 2018).

O acúmulo de antocianinas ocorre após o início do amadurecimento nos frutos, sendo maior nas frutas de coloração vermelha e preta do que nas frutas de coloração amarela e branca (SALVATIERRA *et al.*, 2010; FENG *et al.*, 2013; ZENG *et al.*, 2014; AZUMA; YAKUSHIJI; SATO, 2019). Souza *et al.* (2014), obtiveram teores de antocianinas para amora-preta de 58,61 mg ECG.g⁻¹ e para mirtilos de 29,72 mg ECG.g⁻¹, valores estes superiores aos encontrados no presente estudo para o extrato de tarumã. Ressalta-se que as análises espectrofotométricas podem superestimar o teor de antocianinas, uma vez que outros compostos podem ser absorvidos no comprimento de onda pelo método de pH diferencial (MACHADO *et al.*, 2015).

Os carotenoides apresentam variação da coloração entre o amarelo e o vermelho e são amplamente distribuídos em verduras, raízes, sementes e frutas (COSTA *et al.*, 2010). Estes pigmentos atuam na fotossíntese como auxiliares na captação de energia e promovem a

proteção contra a foto-oxidação (WONDRACEK *et al.*, 2011). Podem ter papel significativo na saúde humana, alguns carotenoides podem ter atividade provitamina A, e outros podem ser associados a redução do desenvolvimento de doenças crônicas devido ao potencial antioxidante (BRITTON, 1995; COSTA *et al.*, 2010).

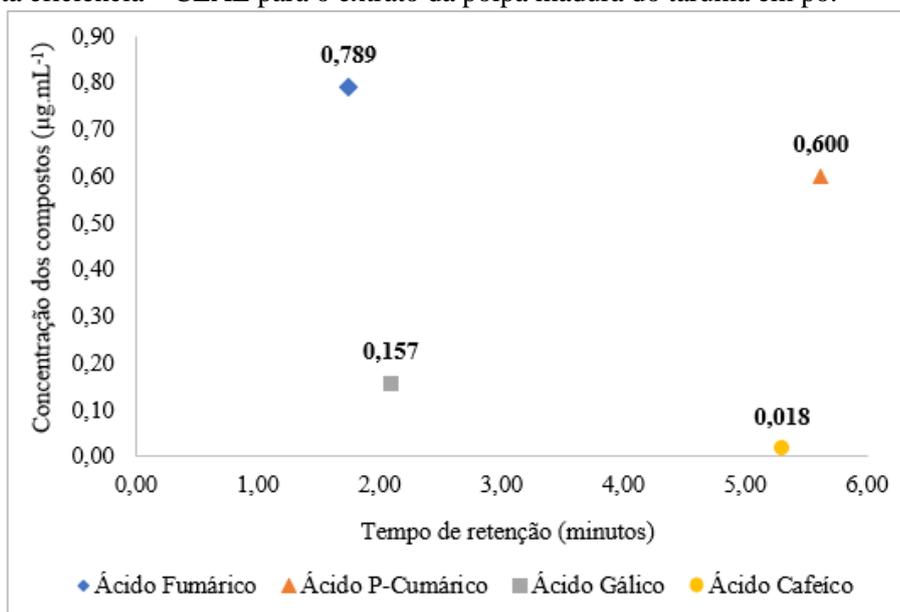
Rufino *et al.* (2010), obtiveram valores de carotenoides em amostras de açaí, puçá-preto e, jabuticaba de 2,8 mg.100 g⁻¹ amostra; 4,2 mg.100 g⁻¹ amostra e 0,32 mg.100 g⁻¹ amostra, respectivamente, sendo que o resultado obtido no presente estudo são similares ao obtido por estes autores para o açaí. Estes autores relatam ainda que os carotenoides além de precursores da vitamina A, possuem atividade antioxidante significativa. Dalla Nora *et al.* (2014) avaliaram o efeito da liofilização do guabiju (*Myrcianthes pungens*) e concluíram que este processo ajuda na retenção dos carotenoides, o que pode ter relação com o presente estudo já que, previamente a obtenção dos extratos, as polpas do tarumã foram liofilizadas.

Os flavonoides são encontrados em frutas, vegetais, legumes, podendo ter propriedades anti-inflamatórias. São conhecidos como antioxidantes com potencial para atuar no dano tecidual (MALEKI; CRESPO; CABANILLAS, 2019). Os teores de flavonoides para amora-preta 87,03 mg EC.100 g⁻¹, para mirtilos 47,53 mg EC.100 g⁻¹ e, para framboesa vermelha 9,62 mg EC.100 g⁻¹, dados obtidos pelos estudos de Souza *et al.* (2014). Para as frutas escuras (amora-preta e mirtilos) os valores foram superiores aos encontrados para o tarumã, sendo a framboesa vermelha o fruto que mais se aproximou. O conteúdo de flavonoides está correlacionado com o conteúdo de antocianinas presentes no extrato, já que estes pigmentos são uma classe destes compostos, portanto, os teores de flavonoides possuem relação com os teores de antocianinas, justificando os teores obtidos no presente estudo.

5.3.2.3 Identificação de compostos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Os compostos identificados no extrato do tarumã, estão apresentados na Figura 15. Dos 10 compostos padrões disponíveis para esta análise, quatro foram identificados nos extratos. O ácido fumárico foi encontrado em maior quantidade, sendo o principal ácido presente nos extratos do tarumã, seguido do ácido *p*-cumárico. Outros compostos fenólicos observados em pequenas quantidades nos extratos do tarumã foram o ácido gálico e o ácido caféico. Segundo descrito por Zorzi *et al.* (2019), as concentrações de polifenóis em alimentos diferenciam-se muito dependendo de vários fatores, como composição genética, tecnologia, estação, espécies de cultivares e a particularidade de cada fruto.

Figura 15 - Compostos identificados e os tempos de retenção obtidos na análise de cromatografia líquido de alta eficiência – CLAE para o extrato da polpa madura do tarumã em pó.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

O extrato aquoso analisado no presente estudo apresentou a identificação de ácidos fenólicos que são subdivididos em ácidos hidroxiciâmnicos (ácido caféico, *p*-cumárico) e ácidos hidrogenoicis (ácido gálico) que são derivados de moléculas não fenólicas dos ácidos cinâmico e benzoico, apresentam um caráter ácido pela presença de um grupo carboxílico na molécula (IGNAT; VOLFF; POPA, 2011; SKINNER; HUNTER, 2013; HELENO *et al.*, 2015). O ácido fumárico é um ácido orgânico, um composto não-fenólico, oriundo da degradação do ácido málico (TORRES, 2014).

Brum *et al.* (2013), ao realizarem uma triagem dos extratos aquosos e etanólicos das folhas de *Vitex megapotamica*, obtiveram uma prospecção de compostos positivos para heterosídeos antociâmnicos, fenóis e taninos, catequinas, flavonóis, flavanonas, flavanonóis e xantonas, esteroides e triterpenoides (esteróides livres), heterosídeos cardioativos, fenóis com posição orto e meta livres, fenóis com a posição para livre, cumarinas, ácidos orgânicos. Porém, para o extrato aquoso do pó da polpa madura do tarumã somente os heterosídeos antociâmnicos foram detectados, a não identificação dos demais compostos não necessariamente implica na ausência destes, mas sim uma pequena quantidade presente no extrato. Os autores citam ainda que estes resultados indicam a presença de metabolitos secundários relacionados a ações no tratamento de doenças como hipertensão arterial, reumatismo, como agente antioxidante, anti-inflamatório, cicatrizante, anticoagulante, relaxante muscular.

Os compostos não detectados no extrato podem ter sofrido alterações oriundas do amadurecimento. Belwal *et al.* (2019) descrevem que o aumento e a diminuição dos polifenóis ocorrem durante as fases de amadurecimento dos frutos, por exemplo, o ácido clorogênico diminui com o amadurecimento, a catequina apresenta maior concentração em frutos imaturos. Esses valores aumentados na fase imatura estão relacionados com uma das funções desempenhadas por estes compostos sendo importantes por atuarem na defesa dos frutos e fornecendo a coloração destes quando chegam à maturação completa.

Estudos de Cittan *et al.* (2018) demonstraram que a técnica de extração e o solvente utilizado possuem um papel fundamental na eficiência da extração dos compostos de matrizes vegetais. Ao utilizarem metanol como solvente e aplicando a técnica de extração assistida por ultrassom para obtenção de extratos de frutos de *Tilia cordata* alcançaram quantidades maiores de compostos fenólicos quando comparada a infusão. Para estes autores a técnica de infusão com água não extraiu alguns compostos ou estes foram obtidos em pequenas quantidades não sendo detectados, como por exemplo a quercetina e o kaempferol.

5.4 CONCLUSÃO

A análise das variáveis no processo de extração de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante demonstrou bons resultados, considerando que a extração foi realizada com a água como solvente extrator. O teor de CFT e as atividades antioxidantes do tarumã indicaram que este pode ser uma potencial matéria-prima a ser utilizada em produtos farmacêuticos, alimentos funcionais, cosméticos e aditivos alimentares. Um segundo planejamento poderia ser realizado, no qual os ensaios teriam valores de variáveis aproximados àqueles obtidos no ponto ótimo deste processo (pH 5,0; razão sólido/líquido de 1:30; agitação de 100 rpm e temperatura de 80 °C) possibilitando encontrar o melhor ponto da a extração dos compostos de interesse.

Muitos fatores podem influenciar as análises de flavonoides, antocianinas e carotenoides, mesmo o fruto tendo coloração roxa o pó obtido apresentou uma coloração em tom amarronzado, o que pode ter influenciado principalmente nos resultados para as antocianinas. Dos 10 compostos quantificados no fruto do tarumã através da análise de cromatografia, o ácido fumárico um ácido orgânico, foi encontrado em maior quantidade nos extratos, seguido dos ácidos fenólicos *p*-cumárico, gálico e caféico. A não detecção de outros compostos não necessariamente refere-se à ausência destes, pode ser que as quantidades presentes no extrato estavam abaixo do limite de detecção implicando na não identificação o que dificultou a identificação. Os resultados obtidos com uso de água para extração devem ser ressaltados, pois o extrato apresentou teores de compostos bioativos em quantidades relevantes com a aplicação de uma técnica simples e fácil.

6. APLICAÇÃO DO EXTRATO DE TARUMÃ (*Vitex megapotamica*) COMO ANTIOXIDANTE EM HAMBÚRGUERES BOVINOS CONGELADOS

6.1 INTRODUÇÃO

A oxidação lipídica é uma das causas de deterioração dos derivados cárneos, devido, principalmente, ao elevado conteúdo de gordura presente nestes produtos. Os processos oxidativos ocasionam alterações na coloração e no odor, afetando diretamente sua qualidade. Mudanças decorrentes deste processo são irreversíveis e contribuem para o desenvolvimento de características sensoriais inaceitáveis, sobretudo, quando se trata de produtos congelados, como hambúrgueres, por estes possuírem vida útil determinada pelo grau destas reações (GEORGANTELIS *et al.*, 2007).

Para minimizar estas reações um dos meios utilizados é a aplicação de antioxidantes, os quais são substâncias que possuem capacidade de retardar ou evitar reações de deterioração como a rancidez e a descoloração (LIMA, 2014; MATTOS, 2017). O interesse para aplicação de aditivos naturais em produtos cárneos, faz com que matérias-primas extraídas de frutos sejam estudados e utilizados para este fim. Para o uso de antioxidantes naturais em alimentos, estes aditivos devem ser seguros, de fácil homogeneização, eficiente em baixas concentrações, livre de odores, sabores, termoestável e economicamente viável (MILANI *et al.*, 2012).

O tarumã (*Vitex megapotamica*) tem ocorrência em diversas regiões brasileiras, possui cor negra-violácea quando maduro e pode ser considerado fonte promissora de um agente antioxidante em produtos cárneos, todavia ainda poucos são os estudos que abordam esse fruto (CALDEIRA *et al.*, 2004; VIANNA, KOEHLER, 2007; COSMO *et al.*, 2009). Estudos realizados nas com folhas do tarumã demonstraram que os extratos obtidos a partir destas apresentaram níveis de compostos bioativos quantitativamente igual à outras fontes naturais, indicando possibilidade de uso em larga escala para tais aplicações.

Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da aplicação do extrato de tarumã como potencial antioxidante na estabilidade durante o armazenamento sob congelamento.

6.2 MATERIAIS E MÉTODOS

6.2.1 Obtenção dos antioxidantes e demais ingredientes

O extrato da polpa madura do tarumã (*Vitex megapotamica*) em pó foi preparado a partir da metodologia descrita por Gruz *et al.* (2013) e por Rufino *et al.* (2007a), com modificações. A extração utilizou água como solvente extrator, em uma proporção de amostra e solvente de 1:30 (m/v). A mistura foi homogeneizada e em seguida a leitura em pHmetro (mPA210, MS Technopon, Brasil) foi realizada para ajuste do pH para 5,0 com utilização de soluções estoque conforme descritas por Gomori (1995). A mistura foi agitada em agitador orbital shaker (Luca-223, Lucadema, Brasil) com velocidade de agitação de 100 rpm por 3 horas, a 80 °C. Após, os sólidos suspensos foram filtrados e o extrato filtrado foi envolto em papel alumínio e armazenado sob refrigeração (5 °C) em geladeira convencional (Eletrolux, Brasil) até aplicação.

Os antioxidantes comerciais eritorbato de sódio e licresse (extraído da raiz de *Glycyrrhiza glabra* popularmente conhecido como alcaçuz) foram fornecidos pela empresa ICL Brasil. As matérias-primas e ingredientes (carne bovina, gordura bovina, sal, cebola desidratada em pó, alho desidratado em pó, pimenta preta em pó, proteína texturizada de soja) foram adquiridos no comércio local de Pinhalzinho - SC.

6.2.2 Formulação dos hambúrgueres

A formulação utilizada para a elaboração dos hambúrgueres seguiu-se a metodologia descrita por Ferreira *et al.* (2019), com modificações (Tabela 11). Os hambúrgueres foram elaborados por bateladas e em triplicata para cada tratamento, diferindo apenas quanto ao antioxidante utilizado: sem adição de antioxidante (CONTROLE), eritorbato de sódio 0,1% (ERI), licresse 0,1% (LIC), extrato de tarumã 0,5% (EX), mistura de eritorbato de sódio 0,05% e extrato de tarumã 0,25% (ERI/EX).

O volume de extrato adicionado aos hambúrgueres foi calculado a partir dos resultados obtidos nos cálculos de equivalência em relação à capacidade antioxidante (DPPH, ABTS) do eritorbato de sódio.

Tabela 11 - Formulação da massa dos hambúrgueres.

Ingredientes (%)	Formulações				
	Controle	ERI	LIC	EX	ERI/EX
Carne bovina	75,0	75,0	75,0	75,0	75,0
Gordura bovina	7,4	7,4	7,4	7,4	7,4
Sal	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Cebola desidratada em pó	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Alho desidratado em pó	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Pimenta preta em pó	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Proteína texturizada de soja	4	4	4	4	4
Água	11,9	11,8	11,8	11,4	11,6
Eritorbato de sódio	-	0,1	-	-	0,05
Licresse	-	-	0,1	-	-
Extrato de tarumã	-	-	-	0,5	0,25

Tratamentos: Controle: sem adição de antioxidantes; ERI: Formulação com eritorbato de sódio; LIC: Formulação com licresse; EX: Formulação com extrato do tarumã; ERI/EX: Formulação com eritorbato de sódio e extrato do tarumã.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2020.

A elaboração dos hambúrgueres foi realizada de acordo com as seguintes etapas: remoção manual do tecido conjuntivo e gorduroso, corte e trituração da carne e da gordura bovina em moedor industrial com disco de 8 mm (MSI-10, Becker, Brasil), quantificação das matérias-primas e ingredientes de acordo com a Tabela 11, seguida da adição em recipiente na seguinte ordem: carne bovina magra, gordura bovina, proteína de soja, sal, cebola desidratado em pó, alho desidratado em pó, pimenta preta em pó, antioxidante e água. Os antioxidantes eritorbato de sódio e licresse foram dissolvidos na água utilizada na formulação para facilitar a solubilização destes. A homogeneização destes foi realizada de forma manual, durante 10 minutos, sendo realizada na sequência a moldagem dos hambúrgueres em formas de aço inox com diâmetro de 8 cm (50 g de massa), desenformagem, embalados em sacos alimentícios de polietileno e armazenamento sob congelamento a -12 °C em freezer convencional (Consul, Brasil) até o momento das análises.

6.2.3 Análises do produto

6.2.3.1 Caracterização físico-químicas

Os hambúrgueres foram avaliados em triplicata, através das determinações de: umidade (método 925.45 (b)); extrato etéreo pelo método *Soxhlet* (método 920.39 (c)); proteína (método 920.152) fator de conversão 6,25; cinzas (método 940.26) da AOAC (2016).

6.2.3.2 Estabilidade dos hambúrgueres durante o armazenamento sob congelamento

Os hambúrgueres foram analisados, em triplicata, nos tempos 1, 30, 60, 150 e 180 dias de armazenamento, quanto ao pH, a cor e as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico - TBARS.

6.2.3.2.1 pH

O pH foi medido com pHmetro de bancada (mPA210, MS Technopon, Brasil) em uma suspensão resultante da mistura de 5 g de amostra com 50 mL de água destilada, homogeneizada com bastão de vidro, de acordo com Fernández-López *et al.* (2006), com modificações.

6.2.3.2.2 Cor

A coloração das amostras foi determinada objetivamente pela reflectância, utilizando colorímetro Minolta, (modelo CR-410, HunterLab, Brasil), seguindo a metodologia definida pelo fabricante, através do sistema CIELAB; onde os valores de L* (luminosidade) variou de preto (0) a branco (100), a* (de verde (-a*) a vermelho (+a*)) e b* (de azul (-b*) a amarelo (+b*)) foram usadas para definir um espaço de cor tridimensional. O valor de croma ($C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$) e o ângulo de Hue ($^{\circ}\text{Hue} = \tan^{-1} b^*/a^*$), que indica a cor observada, também foram calculados. A variação de cor (ΔE) foi calculada pela variação dos parâmetros L*, a* e b*, de acordo com Lopes; Mattietto; Menezes (2005), como mostrado na Equação (2).

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (2)$$

6.2.3.2.3 Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico - TBARS

O índice de TBARS foi determinado utilizando o método espectrofotométrico descrito por Jo e Ahn (1998) e adaptado por Marangoni e Moura (2011), com modificações. Foram utilizados 5 g de amostra de cada formulação, em triplicata, sendo estes homogeneizados com bastão de vidro, com 30 mL de solução de ácido tricloroacético (TCA) 7,5%. A mistura foi filtrada em papel filtro qualitativo (Qualy 12,5 cm, J. Prolab, Brasil). Uma alíquota de 2 mL do filtrado foi transferido para tubo de ensaio com tampa e 2 mL de solução de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,02 M foi adicionado. Os tubos foram aquecidos em banho-maria digital (SSD 5L, Solidsteel, Brasil) por 20 minutos à 100 °C, resfriados até temperatura ambiente com auxílio de banho com água resfriada e a leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro (80 SA, Femto, Brasil) a 532 nm.

Para a curva padrão utilizou-se o composto padrão 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP). Preparou-se uma solução com 10 µl de TEP em 100 mL de água destilada. A quantificação do TBARS foi realizada através da curva padrão construída com TEP (Apêndice 8), o cálculo foi realizado utilizando a equação da reta obtida na curva, o R^2 deve ser o mais próximo de 1. Os cálculos da curva padrão tiveram os valores nos eixos x (concentração) e y (absorbância) plotados. Através da regressão linear e da equação da reta foi obtida a concentração da amostra e os resultados foram expressos em mg de MDA.kg⁻¹ de amostra.

6.2.3.3 Caracterização física e tecnológica

A avaliação dos hambúrgueres foi realizada em triplicata, no 60º dia de armazenamento, quanto as análises de atividade de água, força de cisalhamento, rendimento na cocção, porcentagem de encolhimento, e capacidade de retenção de água.

6.2.3.3.1 Atividade de água

A atividade de água (A_w), a 25 °C, foram mensuradas em determinador de A_w (Pre Water Activity Analyzer, Decagon, Brasil), de acordo com as instruções do fabricante.

6.2.3.3.2 Força de cisalhamento

A leitura da força de cisalhamento (N) necessária para o corte das amostras foram realizadas em analisador de textura (Brookfield, CT3 Texture Analyzer) com lâmina Warner Bratzler, velocidade de 5 mm.s^{-1} , carga de Trigger de 1,0 N e distância de 50% para a profundidade do corte. A análise foi efetuada com amostras dos hambúrgueres crus com 1,0 cm de largura, 4,0 cm de comprimento e 0,8 cm de altura (ABULARACH; ROCHA; FELÍCIO, 1998), com adaptações.

6.2.3.3.3 Rendimento na cocção

O rendimento na cocção (RC) foi determinado conforme descrito por Seabra *et al.* (2002) com modificações. Os hambúrgueres foram descongelados a $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, em seguida foram quantificados e mantidos em chapa elétrica industrial (C-80, Venâncio, Brasil), por aproximadamente 12 min. a $150 \text{ }^{\circ}\text{C}$, virando a cada 2 min. até a temperatura interna das amostras atingir $72 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$, monitorada por termômetro digital. O percentual de rendimento na cocção foi calculado pela razão entre a massa da amostra cozida e a massa da amostra crua.

6.2.3.3.4 Porcentagem de encolhimento

A porcentagem de encolhimento (PE) foi determinada segundo Berry (1992) e Seabra *et al.* (2002) com adaptações, obtidos através do uso de paquímetro sendo o resultado obtido através da Equação (3):

$$PE (\%) = \frac{(MDCRU - MDCOZ)}{MDCRU} \times 100 \quad (3)$$

Onde,

*MDCRU: média do diâmetro da amostra cru;

*MDCOZ: média do diâmetro da amostra cozida.

6.2.3.3.5 Capacidade de retenção de água

As amostras de hambúrguer (10 g) foram cortadas em tamanho padrão de 3 x 3 x 0,8 em seguida colocadas sobre papel filtro qualitativo (Whatman tipo 40 com 125 mm de diâmetro), previamente seco, entre duas placas acrílicas, e sobre estas foi colocado um cilindro de 5 kg por 10 min. A amostra de carne resultante foi quantificada e a quantidade de água perdida calculada, determinada com modificações conforme metodologia descrita por Sobrinho (1999), citado por Bertolo (2018).

6.2.4 Avaliação estatística

A análise estatística dos resultados foi realizada com o *Software* STATISTICA 13.2 Trial (*Statsoft*), pela análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de média de Tukey a 5% de significância.

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.3.1 Caracterização físico-químicas

As análises de umidade, extrato etéreo, proteína e cinzas não apresentaram diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre as amostras (Tabela 12), o que demonstra que a adição do extrato aquoso do tarumã não alterou as características físico-químicas do produto, indicando a possibilidade de aplicação deste extrato na formulação de hambúrgueres de carne bovina. Os resultados estão de acordo com as recomendações da legislação vigente denominada Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Hambúrguer (BRASIL, 2000) que estabelece os seguintes limites: máximo de 23% de gordura e mínimo de 15% de proteína.

Tabela 12 - Caracterização físico-química (base úmida) dos hambúrgueres bovinos elaborado com diferentes antioxidantes.

Análises (%)	Amostras				
	CONT	ERI	LIC	EX	ERI/EX
Umidade	72,42 ± 0,82 ^a	72,08 ± 0,35 ^a	72,03 ± 0,62 ^a	72,00 ± 0,44 ^a	72,66 ± 0,87 ^a
Proteína	19,12 ± 0,41 ^a	19,67 ± 0,50 ^a	19,11 ± 0,46 ^a	18,73 ± 0,29 ^a	18,56 ± 0,87 ^a
Extrato Etéreo	5,68 ± 0,34 ^a	5,16 ± 0,08 ^a	5,30 ± 0,20 ^a	5,42 ± 0,12 ^a	5,56 ± 0,28 ^a
Cinzas	2,67 ± 0,17 ^a	2,70 ± 0,26 ^a	2,79 ± 0,15 ^a	2,63 ± 0,09 ^a	2,71 ± 0,06 ^a

Valores expressos como média ± desvio padrão. Tratamentos: CONT: controle - sem adição de antioxidantes; ERI: eritorbato de sódio (0,1%); LIC: licresse (0,1%); EX: extrato do tarumã (0,5%); ERI/EX: eritorbato de sódio e extrato do tarumã (0,05%/0,25%). Médias seguidas de mesma letra, na mesma linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey no nível de 5% de significância.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2020.

Os teores de proteína e cinzas estão próximos aos encontrados por Rosa *et al.* (2013) que realizou a aplicação de extrato de farinha de alfarroba (*Ceratonia siliqua* L.) em hambúrgueres, obtendo valores que variaram de 18,60% a 19,90% (proteína) e 2,33% a 2,61% (cinzas); e por Ferreira *et al.* (2019) com aplicação de extratos de *Brosimum gaudichaudii* e *Pyrostegia venusta* em hambúrgueres com valores variando de 19,05% a 19,54% (proteína) e 2,55% a 2,99% (cinzas). Estes últimos autores obtiveram hambúrgueres com teores de umidade variando de 72,98% a 73,52%, próximos aos obtidos para os hambúrgueres com extrato aquoso do tarumã.

O teor de extrato etéreo é variável em todos os estudos devido as características de cada matéria-prima utilizada. O estudo de Ziegler *et al.* (2020) que avaliou o enriquecimento nutricional de hambúrgueres com adição de farinhas de plantas alimentícias não convencionais, os quais apresentaram resultados entre 6,57% - 7,69%, sendo próximos aos obtidos neste trabalho.

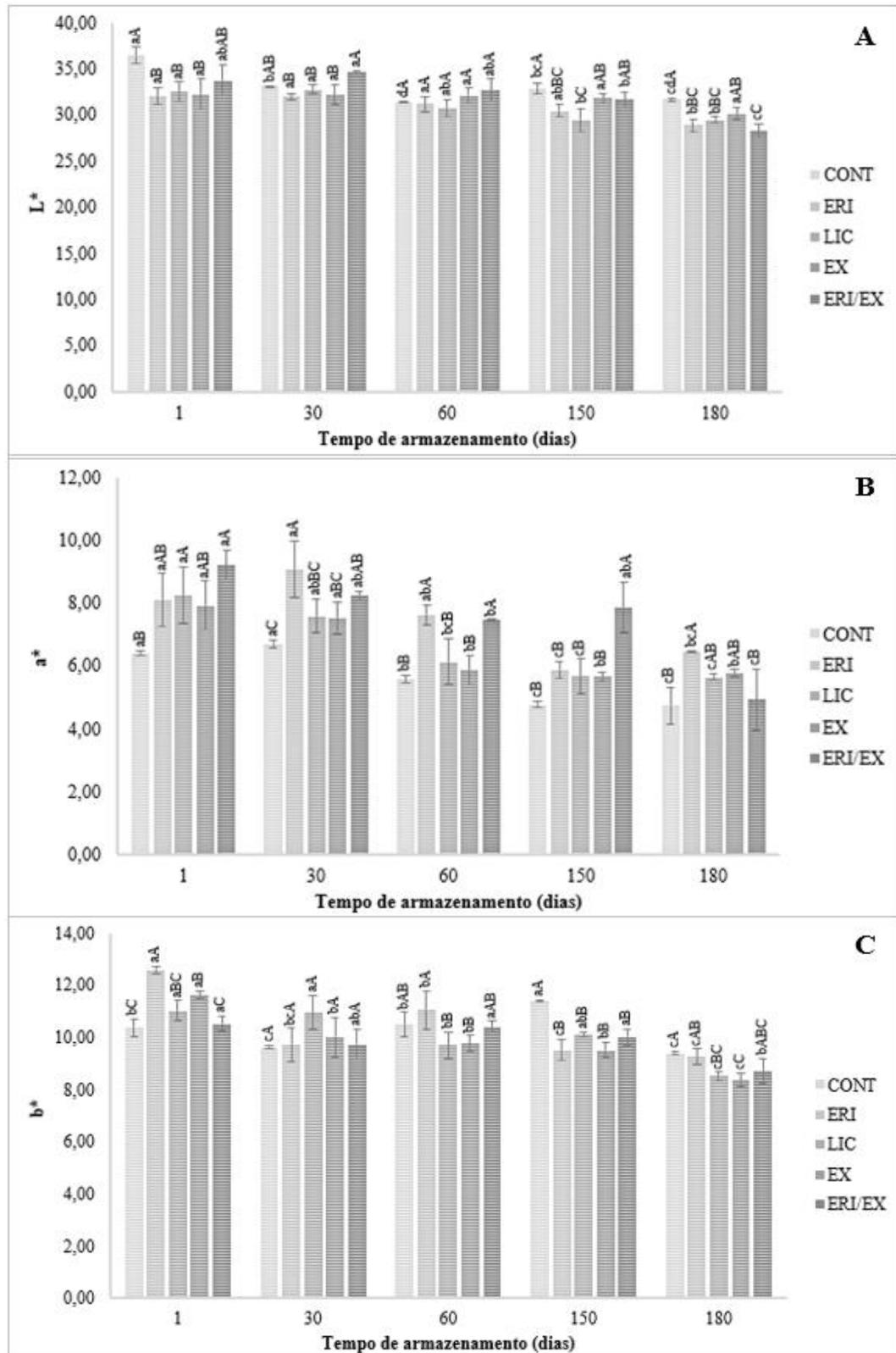
6.3.2 Estabilidade dos hambúrgueres durante o armazenamento sob congelamento

O perfil colorimétrico das formulações dos hambúrgueres foi avaliado para identificar as mudanças na coloração que ocorrem durante o período de armazenamento (Figura 16 e 17). Segundo Fletcher *et al.* (2000) a cor das carnes é um atributo de qualidade, sendo um dos primeiros aspectos a serem avaliados pelos consumidores, associada ao seu frescor e tem influência direta na decisão dos consumidores.

Quanto a coloração, observou-se que para L* (Figura 16 A) as amostras diminuíram entre o 1º e os 180º dias de armazenamento, com exceção do EX que não apresentou diferença significativa, demonstrando que a adição do extrato foi capaz de inibir o escurecimento dos hambúrgueres. O escurecimento ocorre pelo processo de oxidação da mioglobina que gera transformações no pigmento oximioglobina (vermelho) em metamioglobina tornando o produto com uma coloração marrom-acinzentada (HALLENSTVEDT *et al.*, 2012; UTRERA *et al.*, 2014). Borella *et al.* (2019), observaram que as amostras de hambúrguer com adição de extrato de alecrim em concentrações de 0,03% e 0,06% se mantiveram com menor variação, se mantendo desta maneira durante 120 dias de armazenamento. Segundo Bañón *et al.* (2007), a adição de extratos vegetais não afetou os valores de L* de hambúrgueres de carne bovina, os quais foram considerados estáveis durante o armazenamento a 4 °C.

Os hambúrgueres apresentaram uma tendência à redução da cor vermelha (parâmetro a*) (Figura 16 B), a qual pode ser considerada um efeito negativo, afetando a aparência e aceitação do produto perante os consumidores (VIDAL; PRESTES, 2014). A diminuição do a* pode ocorrer através do processamento da carne alterando sua coloração, outro fator é o congelamento que favorece a tonalidade pardacenta resultante da dificuldade de penetração de O₂ e por conduzir eletrólitos que favorecem a metamioglobina (marrom-acinzentada), a medida que ocorre o aumento deste pigmento os valores dos parâmetros tendem a diminuir (ORDÓÑEZ, 2005; SALUEÑA *et al.*, 2019). Zahid *et al.* (2020) e Gahruie *et al.* (2017) também relataram a diminuição do a* para as amostras de hambúrguer com adição de extratos naturais.

Figura 16 - Resultados da cor instrumental L* (A), a* (B), b* (C) durante o armazenamento sob congelamento das amostras de hambúrguer bovino elaborado sem e com diferentes antioxidantes.



Valores expressos como média \pm desvio padrão. Tratamentos: CONT: controle - sem adição de antioxidantes; ERI: eritorbato de sódio (0,1%); LIC: licresse (0,1%); EX: extrato do tarumã (0,5%); ERI/EX: eritorbato de sódio e extrato do tarumã (0,05%/0,25%). Em cada linha, diferentes letras minúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$) para a mesma amostra nos diferentes períodos de armazenamento; Em cada coluna, diferentes letras maiúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre as amostras para o mesmo período de armazenamento.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2020.

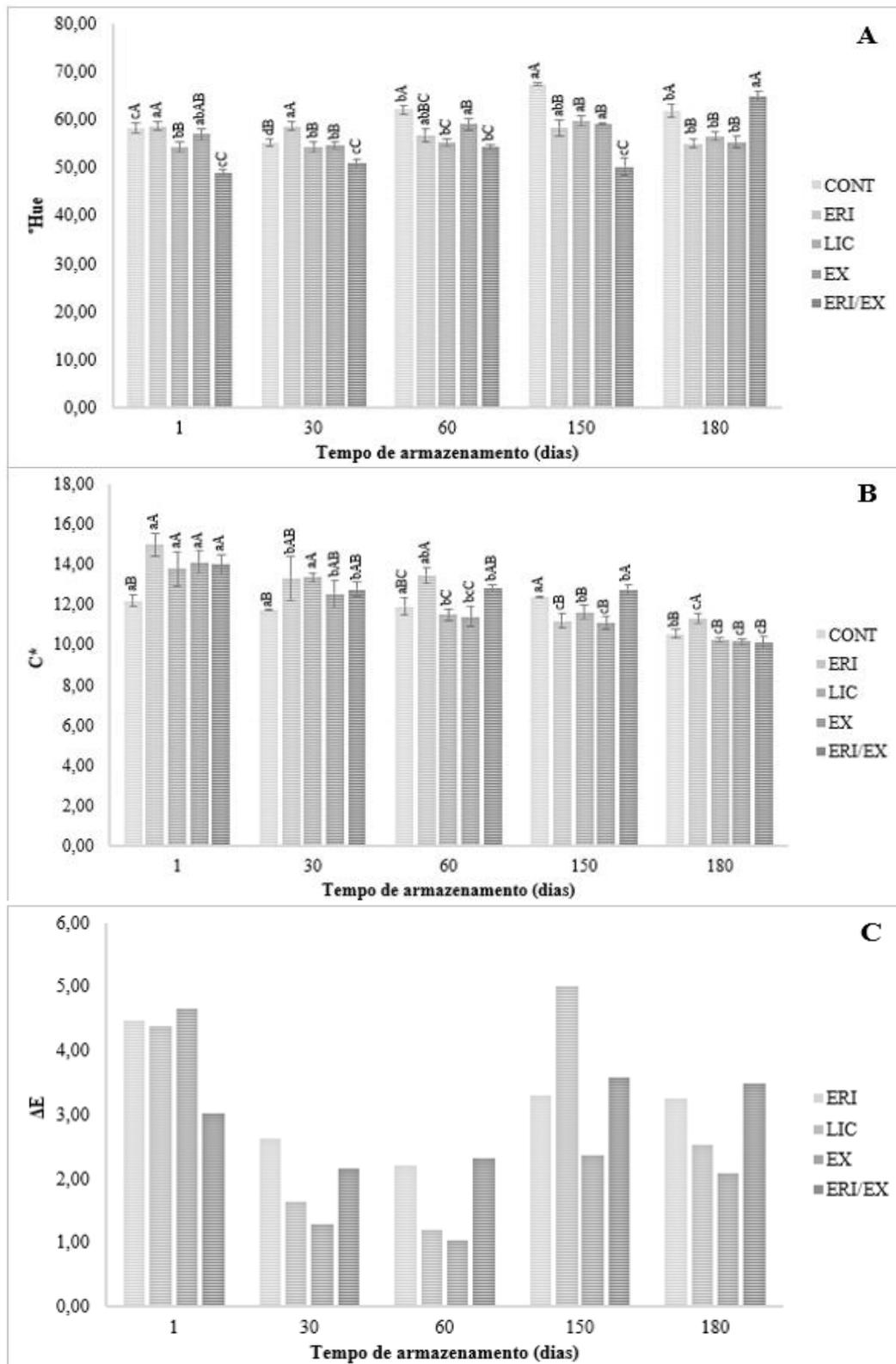
Todas amostras apresentaram uma redução ($p \geq 0,05$) no parâmetro b^* (Figura 16 C) ao longo do armazenamento. Borella *et al.* (2019) relataram que as diferenças nos valores do b^* durante o tempo de armazenamento, estão relacionadas ao processo de oxidação que tende a se fixar durante este período resultando no aumento da coloração amarela devido ao ranço. No presente estudo pode-se deduzir que os antioxidantes utilizados foram capazes de controlar o ranço, uma vez que os valores de b^* não aumentaram em nenhuma das amostras. Ziegler *et al.* (2020), observaram a redução significativa nos valores de b^* , demonstrando que a coloração amarela dos hambúrgueres foi reduzida.

O ângulo $^{\circ}\text{Hue}$ (Figura 17 A) e a C^* (Figura 17 B) estão relacionadas com a percepção da cor visual (SALUEÑA *et al.*, 2019). Para as formulações CONT e ERI/EX os valores de $^{\circ}\text{Hue}$ apresentaram significativo aumento aos 180 dias de armazenamento. As demais formulações ERI, LIC, EX foram estáveis por todo período avaliado.

A redução do valor de $^{\circ}\text{Hue}$ está associada ao declínio da coloração vermelha (YOUSUF; SRIVASTAVA, 2017). Zahid *et al.* (2020) em seus estudos encontraram redução para os hambúrgueres com adição hidroxitolueno butilado (BHT), ácido ascórbico e extrato de cravo, em comparação ao controle (sem adição de antioxidantes), fato que corrobora com o encontrado para as formulações ERI, LIC e EX, comparadas a CONT e a ERI/EX. Estes autores relatam que os resultados encontrados indicam que os antioxidantes adicionados nas formulações se mostraram efetivos contra descolorações durante o armazenamento congelado de hambúrgueres de carne bovina, demonstrando que a adição do extrato de tarumã (EX) se assemelha ao eritorbato de sódio (ERI) que é um antioxidante comercial já utilizado pela indústria. Outros estudos também relataram esta redução no ângulo de $^{\circ}\text{Hue}$ nas formulações com adição de antioxidantes comparadas ao aumento do controle como Bañón *et al.* (2007), Mancini *et al.* (2012), Rosa *et al.* (2013).

A C^* ao longo do armazenamento apresentaram redução nos valores para as formulações. Esses resultados já eram esperados devido as mudanças ocorridas na coloração como demonstrado pelos demais parâmetros de cor analisados, essa redução na intensidade de saturação está associa-se a oxidação que reduz a vivacidade da cor avermelhada da carne. Estudos como os de Bañón *et al.* (2007), Zahid *et al.* (2020) relataram esta mesma redução em suas amostras de hambúrguer.

Figura 17 - Resultados da cor instrumental $^{\circ}$ Hue (A), $^{\circ}$ C (B), ΔE (C) durante o armazenamento sob congelamento das amostras de hambúrguer bovino elaborado sem e com diferentes antioxidantes.



Valores expressos como média \pm desvio padrão. Tratamentos: CONT: controle - sem adição de antioxidantes; ERI: eritorbato de sódio (0,1%); LIC: licresse (0,1%); EX: extrato do tarumã (0,5%); ERI/EX: eritorbato de sódio e extrato do tarumã (0,05%/0,25%). Em cada linha, diferentes letras minúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$) para a mesma amostra nos diferentes períodos de armazenamento; Em cada coluna, diferentes letras maiúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre as amostras para o mesmo período de armazenamento.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2020.

A diferença geral de cor em relação ao controle foi calculada através do ΔE (Figura 17 C). Segundo Manicini; Hunt (2005), esta variável mede as mudanças totais de cor contabilizando as mudanças combinadas em L^* , a^* e b^* . Este parâmetro é muito bom para rastrear alteração da metamioglobina, no entanto, interpretar os resultados quantitativos em termos visuais das cores não é simples, devido as mudanças de cores que ocorrem durante a oxidação ser quase imperceptíveis visualmente em alguns casos. Ressalta-se que os limites para estes parâmetros dependem das características da amostra (SALUEÑA *et al.*, 2019).

De acordo com Francis; Clydesdale (1975), citado por Grasso *et al.* (2019), se $\Delta E < 1$ as diferenças de cor não são visíveis para o olho humano, $1 < \Delta E < 3$ as diferenças não são visíveis, $\Delta E > 3$ as diferenças de cor são visíveis. Os resultados do presente estudo são relacionados a diferença geral de cores entre a amostra CONT. No dia 1 de armazenamento todas as amostras apresentaram diferenças visíveis; nos dia 30 e 60 as amostras não apresentam alterações visíveis de coloração, nos 150 dias somente a amostra EX não apresentou diferença visível, no último dia de armazenamento as amostras ERI e ERI/EX demonstram mudança na coloração visível.

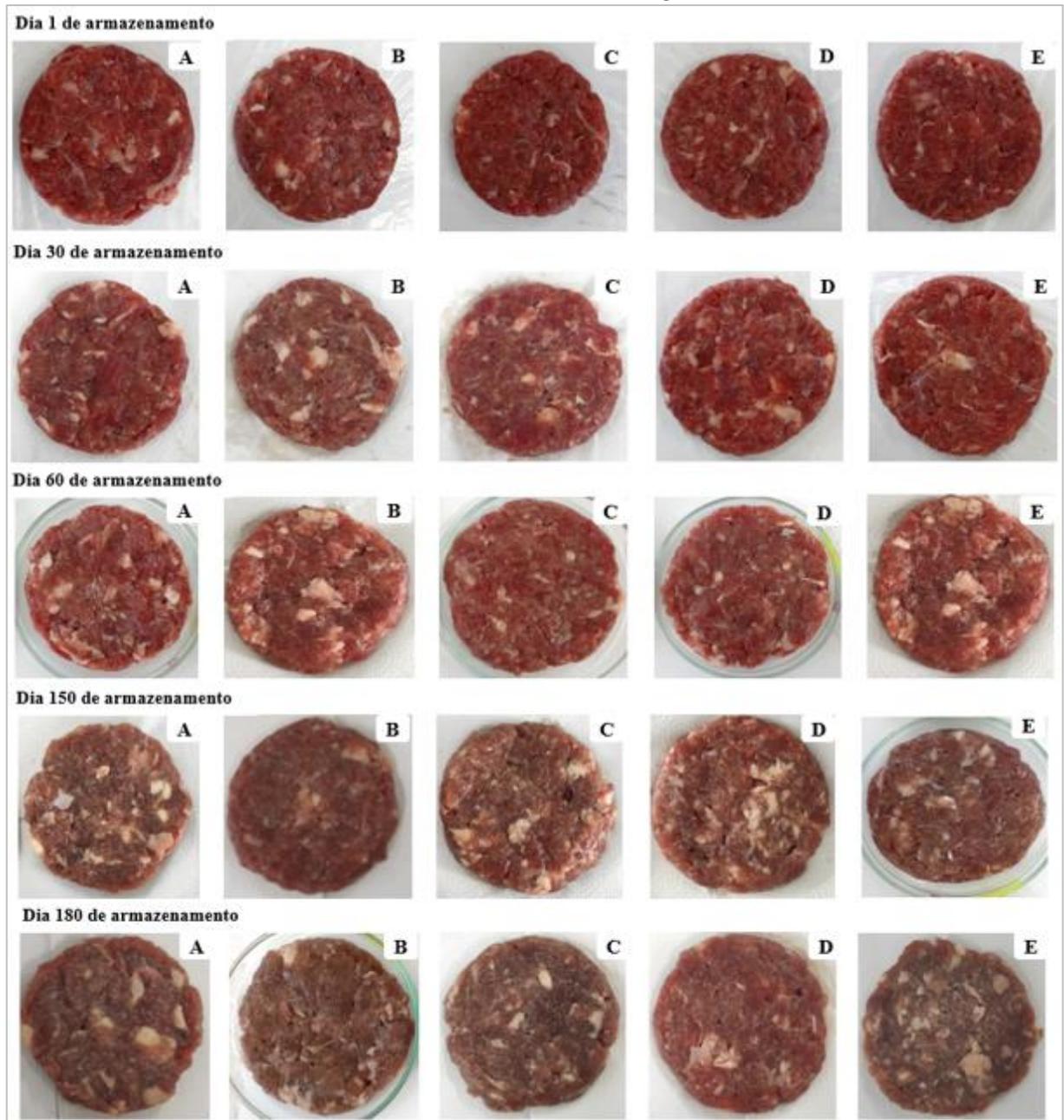
Desta forma, a amostra EX foi a única que após o dia 1 de armazenamento não gerou um ΔE perceptível ao olho humano até os 180 dias. Romero *et al.* (2020), avaliaram o efeito de polpas liofilizadas de *Eugenia uniflora* L. (pitanga) e *Opuntia ficus* (figueira da Índia) na estabilidade oxidativa de hambúrgueres bovinos enriquecidos com ácidos graxos n-3, e obtiveram resultados próximos aos encontrados no presente estudo. Estes autores relatam ainda que a coloração vermelha da casca de uma das variedades de *Opuntia ficus* utilizada pode ter corroborado para que esta amostra apresente $\Delta E < 3$, algo semelhante pode ter ocorrido para a amostra EX devido a cor do extrato de tarumã ser em um tom avermelhado.

Os parâmetros de cor apresentaram diminuição ao longo do armazenamento o que evidência o escurecimento, a redução principalmente dos valores de a^* impactam de modo negativo, pois a redução da cor vermelha torna o produto menos atraente como pode-se observar visualmente nas imagens dos hambúrgueres (Figura 18). Ressalta-se que os valores quantitativos de $^{\circ}\text{Hue}$ e de C^* demonstram que as amostras estão numa faixa de coloração vermelha não apresentando grande variação ao longo dos 180 dias, mas apresentou visualmente a perda da intensidade da cor para todas as amostras, sendo visualmente percebido nos hambúrgueres que a amostra EX manteve a intensidade da coloração vermelha, indicando que a adição do extrato de tarumã pode ser um potencial estabilizador de cor natural em hambúrgueres congelados.

A partir dos 60 dias os hambúrgueres apresentaram mudanças visuais na coloração cada vez mais intensas, cada amostra se comportou de uma maneira ímpar com o passar do período de armazenamento (Figura 18). A amostra LIC (C), apresentou comportamento próximo ao observado para a amostra EX (D), resultados que demonstram que a adição de antioxidantes naturais apresenta ação similar e no caso do EX melhor estabilidade na cor do que a adição do eritorbato de sódio, antioxidante comercial comumente utilizado.

Alguns parâmetros podem ter sofrido alteração com a adição dos antioxidantes naturais devido a própria coloração dos mesmos e como relatado por Rosa *et al.* (2013) pela presença de compostos como os taninos que causam descoloração pela combinação com o ferro da mioglobina retardando a oxidação lipídica como relatado. Porém, a mistura dos antioxidantes na amostra ERI/EX (E) não demonstrou efetividade como a amostra EX, podendo a eficiência desta mistura ter sido afetada pela concentração utilizada, sendo uma possibilidade aumentar a concentração do extrato de tarumã já que este se demonstrou maior eficiência.

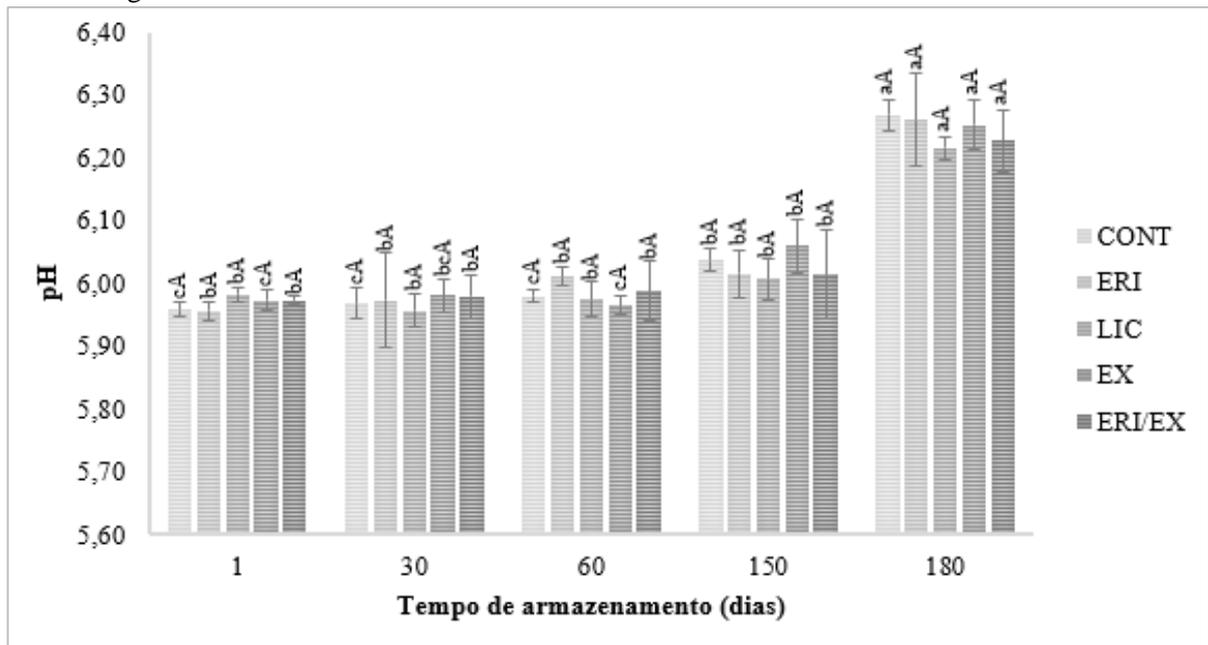
Figura 18 - Amostras das formulações dos hambúrgueres de carne bovina elaborados sem e com diferentes antioxidantes: controle – sem antioxidantes (A), eritorbato de sódio (B), licresse (C), extrato de tarumã (D) e eritorbato de sódio/extrato de tarumã (E) ao longo do armazenamento.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2020.

Na Figura 19, estão apresentados os resultados da análise de pH das diferentes formulações durante o armazenamento, indicando que não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre o 1º e o 60º dia. Por outra lado, entre o 150º e 180º dias, as variações observadas nas amostras foram significativas ($p \leq 0,05$).

Figura 19 - Resultados para análise de pH durante o armazenamento sob congelamento das amostras de hambúrguer bovino elaborado sem e com diferentes antioxidantes.



Valores expressos como média \pm desvio padrão. Tratamentos: CONT: controle - sem adição de antioxidantes; ERI: eritorbato de sódio (0,1%); LIC: licresse (0,1%); EX: extrato do tarumã (0,5%); ERI/EX: eritorbato de sódio e extrato do tarumã (0,05%/0,25%).

Fonte: Elaborado pelo autor, 2020.

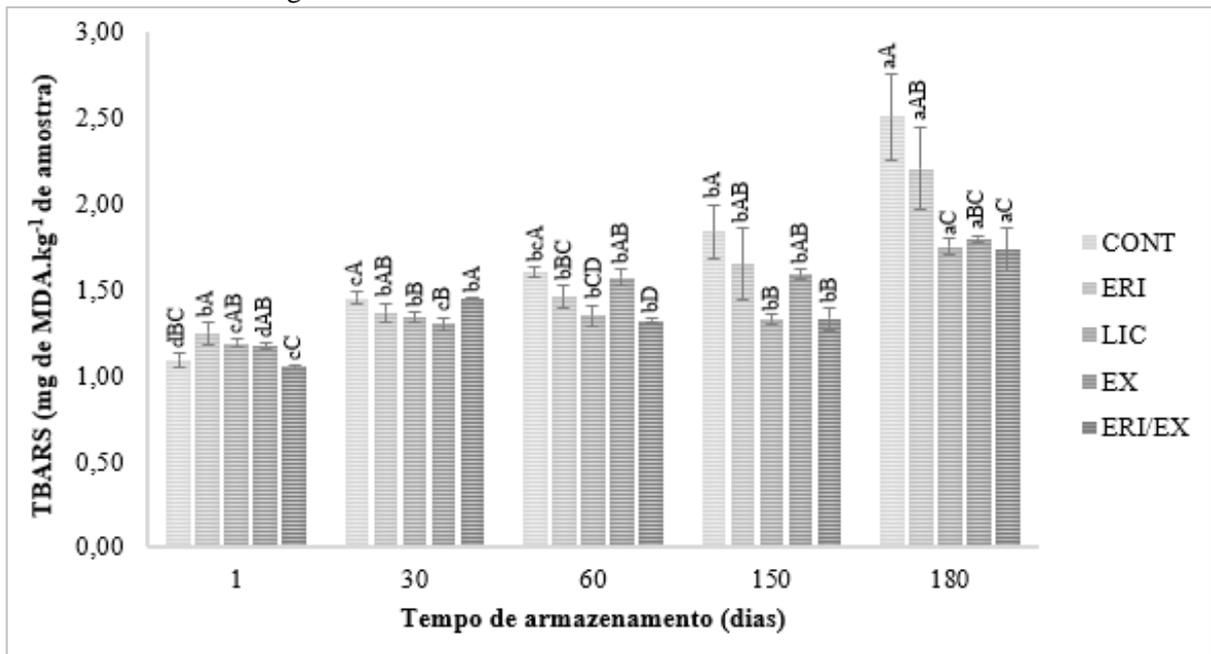
O aumento nos valores de pH com o tempo de armazenamento também foram observados por Mancini *et al.* (2020) que avaliaram os efeitos de alho em pó e sal na qualidade e na carga microbiana de hambúrgueres de carne de coelho e obtiveram valores de pH de 5,89 a 5,97 durante 7 dias de armazenamento; Borella *et al.* (2019) estudaram a adição de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) em hambúrgueres de carne bovina pelo período de armazenamento similar ao do presente estudo, obtendo valores de pH que variaram de 6,43 a 6,99 no período de 120 dias; Abdelhakam *et al.* (2019) estudaram as características de qualidade do hambúrguer bovino enriquecido com bagaço de uva vermelha em pó pelo período de 3 meses e encontraram valores de pH de 6,22 a 6,93 todos os autores apresentaram resultados similares ou próximos ao do presente estudo. O aumento do pH pode estar relacionado a alcalinização da carne aumentando os níveis de nitrogênio amoniacal e a degradação de proteínas e aminoácidos por bactérias Gram negativas (MOKHTAR *et al.*, 2014; ABDELHAKAM *et al.*, 2019; MANCINI *et al.*, 2020).

Segundo Geesink *et al.* (2000), para carne, o pH é um importante parâmetro de qualidade, por estar relacionado a cor, a capacidade de retenção de água, a maciez, dentre outros fatores. Galvão (2006) relata que fatores como o tipo e quantidade de matérias-primas utilizadas

na formulação e até o processo de cocção do hambúrguer podem ter influência no pH do produto. Não foram encontradas alterações de pH que pudessem afetar a intensidade da cor vermelha dos hambúrgueres no presente estudo.

Para os valores de TBARS (Figura 20) observou-se diferença significativa ($p \leq 0,05$) para as formulações ao longo do armazenamento com significativo aumento dos valores nos 180 dias, resultados esperados devido à formação de compostos oxidativos. Os resultados do presente estudo demonstram que a aplicação da antioxidantes naturais (EX e LIC) são eficientes na retardação da oxidação. Estudos de Selani *et al.* (2011), Rosa *et al.* (2013), Abdelhakam *et al.* (2019) e Borella *et al.* (2019), relatam variações durante o armazenamento e que, as amostras sem adição de antioxidantes foram uma das que apresentaram maiores valores de oxidação, corroborando com o presente estudo.

Figura 20 - Resultados para a oxidação lipídica (TBARS) durante o armazenamento sob congelamento das amostras de hambúrguer bovino elaborado sem e com diferentes antioxidantes.



Valores expressos como média \pm desvio padrão. Tratamentos: CONT: controle - sem adição de antioxidantes; ERI: eritorbato de sódio (0,1%); LIC: licresse (0,1%); EX: extrato do tarumã (0,5%); ERI/EX: eritorbato de sódio e extrato do tarumã (0,05%/0,25%).

Fonte: Elaborado pelo autor, 2020.

De acordo com Al-Kahtani *et al.* (1996) citado por Selani *et al.* (2011), produtos cárneos que apresentam menos de 3 mg de MDA.kg⁻¹ de amostra são considerados conservados em relação a oxidação. Neste sentido, nenhuma das amostras apresentaram valores superiores a 3 mg de MDA.kg⁻¹, o maior valor alcançado foi para a amostra CONT (2,38 mg de MDA.kg⁻¹) e

ERI (2,10 mg de MDA.kg⁻¹) nos 180 dias de armazenamento, comparada as demais amostras estas tiveram maiores valores de oxidação. Em relação aos antioxidantes naturais (LIC e EX) as concentrações adicionadas nas formulações demonstraram-se relativamente suficientes para manter a estabilidade oxidativa dos hambúrgueres por 180 dias de armazenamento congelado, período maior que o já estipulado pela indústria que é 120 dias. A formulação ERI/EX apresentou comportamento similar aos antioxidantes naturais, apesar do eritorbato de sódio não ter demonstrado eficiência sozinho a mistura com o extrato aumentou a capacidade de retardar a oxidação.

Os valores obtidos na análise de TBARS não devem ser considerados pelo aparecimento de odores rançosos nos produtos, pois estes podem ser influenciados pelas especiarias e aditivos adicionados nas formulações dos produtos (DJENANE *et al.*, 2002). O TBARS juntamente com o índice de peróxidos são indicadores de oxidação lipídica, pois mesmo durante o congelamento pequenas taxas de oxidação ocorrem (TRINDADE *et al.*, 2008). Baixas temperaturas inibem as reações de deterioração (microbiológica e enzimática), no entanto, a oxidação lipídica ocorre normalmente em pequenas taxas (GRAU *et al.*, 2000).

6.3.3 Caracterização física e tecnológica

O rendimento na cocção (RC), a porcentagem de encolhimento (PE), a capacidade de retenção de água (CRA), a atividade de água (Aw) e a força de cisalhamento (FC) não apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p \geq 0,05$) entre as formulações (Tabela 13).

Os RC encontrados no presente estudo são próximos aos relatados por Oliveira *et al.* (2014) que avaliaram a influência da adição de farinha de semente de linhaça dourada (*Linum usitatissimum* L.) em hambúrgueres de carne bovina e obtiveram valores entre 72,75% a 79,80%. Maiores valores de RC resultam em menor perda de massa do hambúrguer após cocção, o que demonstra que as formulações tiveram bons resultados.

As PE demonstram que a adição de antioxidantes não proporciona mudanças no tamanho após a cocção dos hambúrgueres. Trevisan *et al.* (2016), estudaram o efeito da adição de fibra de aveia sobre as propriedades físico-químicas de hambúrguer cozido e congelado com redução de gordura e sal, e as amostras controle destes autores apresentaram uma porcentagem de 20,83% de encolhimento sendo estes valores superiores aos encontrados neste trabalho. Segundo Choi *et al.* (2009), o encolhimento é ocasionado pela desnaturação das proteínas durante o cozimento e parcialmente pela evaporação de água e a fusão das gorduras da carne.

Tabela 13 - Caracterização física e tecnológica dos hambúrgueres sem e com diferentes antioxidantes no período de 10 dias de armazenamento.

Parâmetros	Amostras				
	CONT	ERI	LIC	EX	ERI/EX
RC (%)	78,23 ± 0,53 ^a	78,05 ± 0,20 ^a	78,23 ± 0,41 ^a	78,56 ± 0,09 ^a	78,58 ± 0,49 ^a
PE (%)	13,56 ± 0,50 ^a	12,94 ± 1,07 ^a	12,64 ± 0,71 ^a	13,14 ± 1,52 ^a	12,08 ± 0,18 ^a
CRA (%)	86,15 ± 0,29 ^a	85,51 ± 0,43 ^a	85,67 ± 0,82 ^a	87,15 ± 0,59 ^a	86,84 ± 0,88 ^a
Aw	0,984 ± 0,00 ^a	0,977 ± 0,02 ^a	0,978 ± 0,01 ^a	0,977 ± 0,01 ^a	0,989 ± 0,0 ^a
FC (N)	5,71 ± 0,20 ^a	5,42 ± 0,40 ^a	5,71 ± 0,26 ^a	5,19 ± 0,15 ^a	5,54 ± 0,43 ^a

Valores expressos como média ± desvio padrão; RC: rendimento na cocção; PE: porcentagem de encolhimento; CRA: capacidade de retenção de água; Aw: atividade de água; FC: força de cisalhamento (Newton). Tratamentos: CONT: controle - sem adição de antioxidantes; ERI: eritorbato de sódio (0,1%); LIC: licresse (0,1%); EX: extrato do tarumã (0,5%); ERI/EX: eritorbato de sódio e extrato do tarumã (0,05%/0,25%). Em cada linha, diferentes letras minúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$).

Fonte: Elaborado pelo autor, 2020.

A CRA determina a aceitabilidade visual, a perda de massa, o rendimento no cozimento, bem como as características sensoriais da carne e dos produtos cárneos (WARNER, 2017). Fernandes; Pizato (2019) avaliaram hambúrgueres de carne bovina com adição de farinha de sorgo (*Sorghum vulgare*) em diferentes concentrações e alcançaram valores de CRA que variaram numa faixa de 70,60% – 92,66%, sendo que todas as formulações apresentaram resultados próximos ao do presente estudo, demonstrando que a adição do extrato de tarumã não interfere nesta característica. Morón-Fuenmayor; Zamorano-García (2003) descrevem que as propriedades físicas da carne crua (cor e textura) e a aceitação estão relacionadas diretamente com sua capacidade de não perder água.

A Aw variou de 0,98 a 0,99, sendo que os altos valores eram esperados, já que a matéria-prima (carne) apresenta valores de Aw de 0,99; o que demonstra que a adição do extrato de tarumã não interferiu neste parâmetro, bem como os demais antioxidantes utilizados. Os valores altos de Aw para hambúrgueres não são considerados um problema para a conservação devido ao método de armazenamento (congelamento) e o preparo instantâneo para consumo (PIGNATA *et al.*, 2010).

As FC não diferiram significativamente entre as amostras ($p \geq 0,05$). A maciez é a característica relacionada a FC, a qual tem relação direta com a CRA, já que quanto maior a retenção de água, menor será a força de cisalhamento utilizada para cortar o fragmento de carne (ZEOLA *et al.*, 2007), o que corrobora com os resultados encontrados no presente estudo (Tabela 14). Silva *et al.* (2014), ao compararem os parâmetros físico-químicos e sensoriais de hambúrgueres produzidos com carnes bovina e bubalina, obtiveram para hambúrgueres de carne bovina 0,62 kgf (6,08 N), sendo este valor próximo aos encontrados para todas as formulações deste estudo.

Percebe-se que a adição do extrato de tarumã não interfere nas características físicas e tecnológicas dos hambúrgueres avaliados no presente estudo. As formulações com a adição do extrato (EX, ERI/EX) apresentaram bons resultados, sendo significativos para o rendimento na cocção (RC), mantendo ou até melhorando as características tecnológicas do produto final.

6.4 CONCLUSÃO

A aplicação do extrato obtido do pó da polpa madura do tarumã não apresentou interferência nas características físico-químicas, na força de cisalhamento, porcentagem de encolhimento, capacidade de retenção de água, pH e A_w dos hambúrgueres de carne bovina. Durante o armazenamento por 180 dias sob congelamento, a cor instrumental apresentou variabilidade para os parâmetros analisados, destacando-se a adição dos antioxidantes naturais, principalmente, o extrato de tarumã em quantidade de 0,5% como potenciais estabilizadores de cor natural em hambúrgueres congelados perante adição do eritorbato de sódio comumente utilizado pela indústria. A mistura entre os antioxidantes realizada na amostra ERI/EX não foi eficiente quando comparada com as amostras com adição de antioxidantes puros, isto pode estar relacionado a quantidade utilizada ser muito baixa, ou interferência de compostos presentes no extrato.

Todas as formulações apresentaram alterações no índice de TBARS, oriundas da oxidação lipídica das amostras durante o armazenamento, quando comparada as formulações contendo antioxidantes naturais (LIC e EX) ao antioxidante comercial (ERI). A aplicação dos extratos naturais, de forma isolada, melhorou a estabilidade oxidativa dos hambúrgueres bovinos por 180 dias de armazenamento congelado e estes resultados demonstram uma potencial eficiência do extrato de tarumã como antioxidante natural aplicado neste tipo de produto.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A caracterização físico-química dos frutos do tarumã (*Vitex megapotamica*) apresentou diferenças significativas na composição nos diferentes estádios de maturação estudados. Destacando-se os teores significativos de minerais presentes nas polpas em ambos estádios de maturação, a coloração escura no fruto *in natura* e no pó obtido da polpa no estágio maduro são interessantes, podendo ser estudada mais profundamente como um potencial pigmento natural com aplicação em diversas áreas. Os resultados obtidos para as atividades anti-inflamatórias foram significativas e podem ser exploradas em outros estudos.

A aplicação do planejamento experimental para otimização da extração de compostos bioativos demonstrou-se eficiente. O extrato obtido da polpa madura do tarumã em pó apresenta teores de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante, flavonoides, antocianinas, carotenoides, e a presença de ácido orgânico e ácidos fenólicos, podendo indicar que este extrato pode ser uma potencial matéria-prima para produtos farmacêuticos, aditivos alimentares. Salienta-se que estes resultados foram alcançados com uso de água como solvente extrator, com aplicação de uma técnica simples.

A adição do extrato aquoso de tarumã em hambúrgueres de carne bovina em comparação a outros antioxidantes eritorbato de sódio e licresse, não alterou significativamente as características físico-químicas, nem a textura dos produtos. Mas sim, auxiliou na estabilidade da intensidade da cor vermelha e nas características tecnológicas dos hambúrgueres. A oxidação lipídica para os antioxidantes naturais se mostrou eficiente para estabilizar a oxidação em comparação ao eritorbato de sódio, um antioxidante comercial utilizado em produtos cárneos, observou-se que as amostras de hambúrgueres se mantiveram com baixa oxidação por 180 dias de armazenamento, período superior ao de 120 dias que é o comumente utilizado pelas indústrias para validade de hambúrgueres.

Nesse sentido, sugere-se a avaliação de diferentes concentrações do extrato de tarumã adicionados na formulação possibilitando aumentar a eficiência, através de técnicas de concentração como o encapsulamento, além da realização de análise sensorial.

REFERÊNCIAS

ABAZA, L.; TALORETE, T. P. N.; YAMADA, P.; KURITA, Y.; ZARROUK, M.; ISODA, H. Induction of growth inhibition and differentiation of human leukemia HL-60 cells by a tunisian gerboui olive leaf extract. **Journal Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 71, n. 5, p. 1306-1312, fev. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1271/bbb.60716>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1271/bbb.60716>. Acessado em: 24/04/2020.

ABDELHAKAM, O. S.; ELSEBAIE E. M.; GHAZI, A. K.; GOUDA, M. S. Quality characteristics of beef hamburger enriched with red grape pomace powder during freezing storage. **Slovenian Veterinary Research**, v. 56, n. 22, p. 333-373, fev. 2019. DOI: 10.26873 / SVR-772-2019. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/331792453_Quality_characteristics_of_beef_hamburger_enriched_with_red_grape_pomace_powder_during_freezing_storage. Acessado em: 26/08/2020.

ABIEC - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. Disponível em: <http://abiec.com.br/exportacoes/>. Acessado em: 07/08/2020.

ABULARACH, M. L.; ROCHA, C. E.; FELÍCIO, P. E. Características de qualidade do contrafilé (m. *L. dorsi*) de touros jovens da raça Nelore. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 2, p. 205-210, maio/jul. 1998. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20611998000200012>. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20611998000200012&lng=en&nrm=iso&tlng=pt. Acessado em: 25/11/2019.

ALI, A.; LIM, X. Y.; CHONG, C. H.; MAH, S. H.; CHUA, B. L. Ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from betel leaves (*Piper betle*): Extraction kinetics and modeling. **Separation Science and Technology**, v. 53, n. 14, p. 2192-2205, mar. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1080/01496395.2018.1443137>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01496395.2018.1443137>. Acessado em: 25/05/2020.

AL-KAHTANI, H. A.; ABU-TARBOUSH, H. M.; BAJABER, A. S.; ATIA, M.; ABOU-ARAB, A. A.; ELMOJADDIDI, M. A. Chemical changes after irradiation and post-irradiation in tilapia and Spanish mackerel. **Journal of Food Science**, v. 61, n. 4, p. 729-733, jul. 1996. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1996.tb12191.x>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2621.1996.tb12191.x>. Acessado em: 15/09/2020.

ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, out. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010001000033>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/qn/v33n10/33.pdf>. Acessado em: 15/06/2019.

AMARANTE, C. V. T. do; SOUZA, A. G. de; BENINCÁ, T. D. T.; STEFFENS, C. A. Fruit quality of Brazilian genotypes of feijoa at harvest and after storage. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 9, p. 734-742, set. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2017000900005>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/pab/v52n9/1678-3921-pab-52-09-00734.pdf>. Acessado em: 26/10/2019.

ALMEIDA, R. L.; SANTOS, N. C.; PEREIRA, T. dos S.; SILVA, V. M. de alcântara; CABRAL, M. B.; BARROS, E. R.; SOUZA, N. C. de; LUIZ, M. R.; AMORIM, F. V.; SILVA, L. R. I. da. Determination of bioactive compounds and physicochemical composition of jabuticaba bark flour obtained by convective drying and lyophilization. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 9, n. 1, p. e157911876, 2020. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i1.1876>. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/1876>. Acessado em: 15/05/2019.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos - uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007. Disponível em: <http://periodicos.ses.sp.bvs.br/pdf/rial/v66n1/v66n1a01.pdf>. Acessado em: 25/03/2019.

ANGIOLILLO, A.; CONTE, A.; DEL NOBILE, M. A. Technological strategies to produce functional meat burgers. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 697-703, jun. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.08.021>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002364381400509X>. Acessado em: 24/04/2019.

AOAC - **Association of Official Analytical Chemists**. *Official Methods of Analysis of AOAC*. 20 ed. Washington, 2016.

ARAPITSAS, P. Hydrolyzable tannin analysis in food. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1708-1717, dez. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.096>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814612009454?casa_token=7u7u_htwSdAAAAA:QX3VHJUnaJZzkyNtlvsXyvFe6SfZfQVYcgldZX0UaiSgXBjuEAuTapTOho7qGNcLSArXJbNwdpE. Acessado em: 12/07/2020.

ARRUDA, H. S.; PEREIRA, G. A.; MORAIS, D. R. de.; EBERLIN, M. N.; PASTORE, G. M. Determination of free, esterified, glycosylated and insoluble-bound phenolics composition in the edible part of araticum fruit (*Annona crassiflora* Mart.) and its by-products by HPLC-ESI-MS/MS. **Food Chemistry**, v. 245, p. 738-749, abr. 2018. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.11.120. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29287435/>. Acessado em: 15/11/2019.

AYOUR, J.; SAGAR, M.; HARRAK, H.; ALAHYANE, A.; ALFEDDY, M. N.; TAOURIRTE, M.; BENICHO, M. Evolution of some fruit quality criteria during ripening of twelve new Moroccan apricot clones (*Prunus armeniaca* L.). **Scientia Horticulturae**, v. 215, p. 72-79, jan. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.12.010>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304423816306495>. Acessado em: 26/04/2020.

AZUMA, A.; YAKUSHIJI, H.; SATO, A. Postharvest light irradiation and appropriate temperature treatment increase anthocyanin accumulation in grape berry skin. **Postharvest Biology and Technology**, v. 147, p. 89-99, jan. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.09.008>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925521418305349?casa_token=LI3YZKUn7s8AAAAA:MxjXpgqjZTSnDkAAAltE7ggzvYqsW7ig-ZG56xQBBtOb9NkAUypywjnZxpTweVjNAfguznss4o. Acessado em: 14/05/2020.

AZZOLINI, M.; JACOMINO, A. P.; BRON, I. U. Índices para avaliar qualidade pós-colheita de goiabas em diferentes estádios de maturação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília-DF, v. 39, n. 2, p. 139-145, fev. 2004. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2004000200006>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/pab/v39n2/19847.pdf>. Acessado em: 16/05/2020.

- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191-203, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814605006242?casa_token=C-n_J2Qa0TMAAAAA:GD7YDIO97H7jhgkr5l2Kn4TTrRNCy-0SFzIPxkLizWNtsXXVP7IbD07lcyVrO3PtdT3l4iBAAJY. Acessado em: 18/06/2020.
- BAÑÓN, S.; DÍAZ, P.; RODRIGUEZ, M.; GARRIDO, M. D.; PRICE, A. Ascorbate, green tea and grape seed extracts increase the shelf life of low sulphite beef patties. **Meat Science**, Barking, v. 77, n. 4, p. 626-633, dez. 2007. DOI: 10.1016 / j.meatsci.2007.05.015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22061951/>. Acessado em: 10/10/2020.
- BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, jul./ago. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1415-52732010000400013>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rn/v23n4/v23n4a13.pdf>. Acessado em: 18/06/2020.
- BASTOS, S; C.; PIMENTA, M. E. S. G.; PIMENTA, C. J.; REIS, T. A.; NUNES, C. A.; PINHEIRO, A. C. M.; FABRÍCIO, L. F. F.; LEAL, R. S. Alternative fat substitutes for beef burger: technological and sensory characteristics. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 9, p. 2046-2053, jan. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1233-2>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4152509/#:~:text=Conclusion-,Although%20fat%20contributes%20to%20a%20series%20of%20physical%20and%20sensory,gre,en%20banana%20pulp%20flour%2C%20green>. Acessado em: 24/04/2019.
- BELWAL, T.; PANDEY, A.; BHATT, I. D.; RAWAL, R. S.; LUO, Z. Trends of polyphenolics and anthocyanins accumulation along ripening stages of wild edible fruits of Indian Himalayan region. **Scientific Reports**, v. 9:5894, p.1-11, abr. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42270-2>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-42270-2>. Acessado em: 15/02/2020.
- BENCHIKH, Y.; LOUAILECHE, H.; GEORGE, B.; MERLIN, A. Changes in bioactive phytochemical content and in vitro antioxidant activity of carob (*Ceratonia siliqua* L.) as influenced by fruit ripening. **Industrial Crops and Products**, v. 60, p. 298-303, set. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.05.048>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669014003276>. Acessado em: 16/02/2020.
- BENGARDINO, M. B.; FERNANDEZ, M. V.; NUTTER, J.; JAGUS, R. J.; AGUERO, M. V. Recovery of bioactive compounds from beet leaves through simultaneous extraction: Modelling and process optimization. **Food and Bioproducts Processing**, v. 118, pg. 227-236, nov. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.09.013>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960308519302767>. Acessado em: 11/05/2020.
- BERRY, B. W. Low fat level effects on sensory, shear, cooking, and chemical properties of ground beef patties. **Journal of Food Science**, [S.I.], v. 57, n. 3, p. 537-540, maio 1992. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1992.tb08037.x>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2621.1992.tb08037.x>. Acessado em: 17/11/2019.

BERTOLO, A. P. **Aplicação de levedura cervejeira em produtos cárneos**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia em Alimentos). Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC, Centro de Educação Superior do Oeste – CEO, Pinhalzinho - SC, p. 69, 2018. Disponível em <http://sistemabu.udesc.br/pergamumweb/vinculos/000050/000050e8.pdf>. Acessado em: 11/01/2020.

BOORA, F.; CHIRISA, E.; MUKANGANYAMA, S. Evaluation of nitrite radical scavenging properties of selected Zimbabwean plant extracts and their phytoconstituents. **Journal of Food Processing**, v. 2014, p. 7, abr. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/918018>. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/jfp/2014/918018/>. Acessado em: 03/03/2020.

BORELLA, T. G.; PECCIN, M. M.; MAZON, J. M.; ROMAN, S. S.; CANSIAN, R. L.; SOARES, M. B. A. Effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) antioxidant in industrial processing of frozen-mixed hamburger during shelf life. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 43, p. 1-9, jun. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1111/jfpp.14092>. Disponível em: <https://ifst.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jfpp.14092>. Acessado em: 04/09/2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento (MAA). Secretária de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa nº 20, de 31 de julho de 2000**. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Almôndega, de Apresuntado, de Fiambre, de Hambúrguer, de Kibe, de Presunto Cozido e de Presunto, anexo IV. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 03 ago. 2000. Seção I, 6-10, 2000. Disponível em: http://www.cfmv.org.br/portal/legislacao/outras_normas/instrucao_normativa_020_MAA.htm. Acessado em: 24/02/2019.

BRITTON, G. Structure and properties of carotenoids in relation to function. **The FASEB Journal**, v. 9, p. 1551-1558, dez. 1995. DOI: <https://doi.org/10.1096/fasebj.9.15.8529834>. Disponível em: <https://faseb.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1096/fasebj.9.15.8529834>. Acessado em: 05/04/2020.

BRUM, E. B. de. **Antioxidante natural de marcela (*Achyrocline satureioides*) e de erva mate (*Ilex paraguariensis*) na elaboração de linguiça toscana**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos). Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, Santa Maria – RS, p. 78, 2009. Disponível em <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/5665/BRUM%20EDUARDO%20BORGES%20DE.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acessado em: 20/03/2019.

BRUM, T. F. de; ZADRA, M.; PIANA, M.; BOLIGON, A. A.; FRÖHLICH, J. K.; FREITAS, R. B. de; STEFANELLO, S. T.; FROEDER, A. L. F.; BELKE, B. V.; NUNES, L. T.; JESUS, R. da S.; MACHADO, M. M.; ROCHA, J. B. T. da; SOARES, F. A. A.; ATHAYDE, M. L. HPLC analysis of phenolics compounds and antioxidant capacity of leaves of *Vitex megapotamica* (Sprengel) Moldenke. **Molecules**, v. 18, n. 7, p. 8342-8357, jul. 2013. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules18078342>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23863774/>. Acessado em: 06/06/2020.

CALDEIRA, S. D.; HIANE, P. A.; RAMOS, M. I. L.; FILHO, M. M. R. Caracterização físico-química do araçá (*Psidium guineense SW.*) e do tarumã (*Vitex cymosa Bert.*) do estado de Mato Grosso do Sul. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos** (B. CEPPA), Curitiba, v. 22, n. 1, p. 145-154, jan./jun. 2004. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/cep.v22i1.1186>. Disponível em <https://revistas.ufpr.br/alimentos/article/viewFile/1186/987>. Acesso em: 25/03/2019.

CAMPAGNOL, P. S. B. **Influência da redução de sódio e gordura na qualidade de embutidos cárneos fermentados**. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas – SP, p. 188, 2011. Disponível em http://repositorio.unicamp.br/jspui/bitstream/REPOSIP/255086/1/Campagnol_PauloCezarBastianello_D.pdf. Acessado em: 25/03/2019.

CAMPBELL, I. Macronutrients, minerals, vitamins, and energy. **Anaesthesia & Intensive Care Medicine**, v. 15, n. 7, p. 344–349, mar. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mpaic.2019.12.006>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S147202991400109X>. Acessado em: 14/04/2020.

CANUTO, G. A. B.; XAVIER, A. A. O.; NEVES, L. C.; BANSSI, M. de T. Caracterização físico-química de polpas de frutos da amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1196-1205, dez. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452010005000122>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rbf/v32n4/AOP12910.pdf>. Acessado em: 06/02/2020.

CARREIRO, J. Alimentos saudáveis estão entre as principais tendências do mercado. **Estadão**, São Paulo, 30 de abr. 2019. Comida de verdade. Disponível em: <https://emails.estadao.com.br/blogs/comida-de-verdade/>. Acesso em: 18/07/2019.

CARVALHO, M. T.; BERGAMASCO, R.; GOMES, R. G. Métodos de extração de compostos bioativos: aproveitamento de subprodutos na agroindústria. **Revista UNINGÁ Review**, v. 33, n. 1, p. 66-84, jan./mar. 2018. Disponível em: <http://revista.uninga.br/index.php/uningareviews/article/view/1534/1671>. Acessado em: 01/03/2020.

CASAGRANDE, M. **Avaliação do potencial antioxidante de coprodutos de indústrias de suco de uva e de vinho visando sua aplicação em linguiça de frango**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos). Curso de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, Pato Branco – PR, p. 121, 2014. Disponível em: http://www.utfpr.edu.br/patobranco/estrutura-universitaria/diretorias/dirppg/pos-graduacao/mestrados/ppgtp/discentes/PB_PPGTP_M_CasagrandeMaira_2014.pdf. Acesso em: 25/03/2019.

CASARIN, F.; MENDES, C. E.; LOPES, T. J.; MOURA, N. F. de. Experimental design of blackberry (*Rubus* sp.) drying process for production of flour enriched with bioactive compounds. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 19, jun. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.2516>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/bjft/v19/1981-6723-bjft-1981-67232516.pdf>. Acessado em: 28/03/2019.

CASTREJÓN, A. D. R.; EICHHOLZ, I.; ROHN, S. KROH, L. W.; HUYSKENS-KEIL, S. Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. **Food Chemistry**, v. 109, p. 564–572, ago. 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.01.007>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814608000587>. Acessado em: 08/04/2020.

CAVALHEIRO, C. V. **Extração de compostos fenólicos assistida por ultrassom e determinação de ácidos graxos e minerais em folhas de *Olea europea* L.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos). Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS, p. 93, 2013. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/5738/CAVALHEIRO%2c%20CAROLINE%20VIEGAS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acessado em: 27/03/2019.

CELANT, V. M.; BRAGA, G. C.; VORPAGEL, J. A. Phenolic composition and antioxidant capacity of aqueous and ethanolic extracts of Blackberries. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 38, n. 2, jun. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/0100-29452016411>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rbf/v38n2/0100-2945-rbf-38-2-e-411.pdf>. Acessado em: 10/05/2020.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças: Fisiologia e Manuseio**. 2º ed. Lavras – MG: UFLA, 2005.

CHOI, Y. S.; CHOI, J. H.; HAN, D. J.; KIM, H. Y.; LEE, M. A.; KIM, H. W.; JEONG, J. Y.; KIM, C. J. Characteristics of low-fat meat emulsion systems with pork fat replaced by vegetable oils and rice bran fiber. **Meat Science**, v. 82, n. 2, p. 266-271, jun. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.01.019>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20416740/>. Acessado em: 02/03/2020.

CITTAN, M.; ALTUNTAŞ, E.; ÇELİK, A. Evaluation of antioxidant capacities and phenolic profiles in *Tilia cordata* fruit extracts: A comparative study to determine the efficiency of traditional hot water infusion method. **Industrial Crops and Products**, v. 122, p. 553–558, out. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.06.044>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669018305545>. Acessado em: 06/04/2020.

CÖMERT, E. D.; MOGOL, B. A.; GÖKMEN, V. Relationship between color and antioxidant capacity of fruits and vegetables. **Current Research in Food Science**, v. 2, p. 1-10, jun. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2019.11.001>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2665927119300097>. Acessado em: 09/03/2020.

COSMO, N. L.; GOGOSZ, A. M.; NOGUEIRA, A. C.; BONA, C.; KUNIYOSHI, Y. S. Morfologia do fruto, da semente e morfo-anatomia da plântula de *Vitex megapotamica* (Spreng.) Moldenke (Lamiaceae). **Acta Botanica Brasilica** (Acta bot. bras. - Sociedade Botânica do Brasil), v. 23, n. 2, p. 389-397, abr./jun. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-33062009000200010>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/abb/v23n2/v23n2a10.pdf>. Acessado em: 11/04/2020.

COSTA, T. S. A.; WONDRAČEK, D. C.; LOPES, R. M.; VIEIRA, R. F.; FERREIRA, F. R. Composição de carotenoides em canistel (*Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, p. 903-906, set. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452010005000083>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rbf/v32n3/aop08810.pdf>. Acessado em: 25/04/2020.

COSTA, A. B.; OLIVEIRA, A. M. C. de; SILVA, A. M. de O. e; MANCINI-FILHOS, J.; LIMA, A. de. Atividade antioxidante da polpa, casca e sementes do noni (*Morinda citrifolia* Linn. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 2, p. 345-354, jun. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452013000200003>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0889157514000325>. Acessado em: 20/06/2020.

DALLA NORA, C.; MÜLLER, C.D.R.; BONA, G.S. de; DE OLIVEIRA RIOS, A.; HERTZ, P.F.; JABLONSKI, A.; JONG, E.V.; FLÔRES, S.H. Effect of processing on the stability of bioactive compounds from red guava (*Psidium cattleianum* Sabine) and guabiju (*Myrcianthes pungens*). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 34, n. 1, p. 18–25, maio 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.01.006>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0889157514000325>. Acessado em: 06/07/2020.

CARLI, T. de. **Desenvolvimento de produto cárneo reestruturado como alternativa de reaproveitamento de aparas cárneas**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Engenharia de Alimentos). Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Centro Universitário, Universidade do Vale do Taquari - UNIVATES, Lajeado - RS, p. 55, 2015. Disponível em <https://www.univates.br/bdu/bitstream/10737/923/1/2015TailizeDeCarli.pdf>. Acessado em: 01/04/2019.

DJENANE, D.; SANCHEZ-ESCALANTE, A.; BELTRAN, J. A.; & RONCALES, P. Ability of α -tocopherol, taurine and rosemary, in combination with vitamin C, to increase the oxidative stability of beef steaks packaged in modified atmosphere. **Food Chemistry**, v. 76, n. 4, p. 407-415, abr. 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00286-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00286-2). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814601002862>. Acesso em: 07/09/2020.

DOMINGUES, M. C. S.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Indução do amadurecimento de frutos cítricos em pós colheita com a aplicação de ethephon. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 3, p. 555-558, dez. 2001. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452001000300021>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rbf/v23n3/8024.pdf>. Acessado em: 01/04/2020.

DURAN, R.; PADILHA, R. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. **Grasas y Aceites**, v. 44, n. 2, p. 101-106, 1993. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/229885468.pdf>. Acessado em: 01/04/2020.

EMBRAPA. **Qualidade da carne bovina**. Curso conhecendo a carne que você consome 1. Embrapa Gado de Corte – Documento 77, Campo Grande - MS, v. 1, p. 25, 1999. Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/qualidadecarnebovina_000fecp298c02wx5eo006u55t1jcnus5.pdf. Acessado em: 24/02/2019.

ESCLAPEZ, M. D.; GARCÍA-PÉREZ, J. V.; MULET, A.; CÁRCEL, J. A. Ultrasound-assisted extraction of natural products. **Food Engineering Reviews**, n. 3, p. 108-120, maio 2011. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12393-011-9036-6>. Disponível em: [https://link.springer.com/article/10.1007/s12393-011-9036-6#:~:text=Ultrasound%2Dassisted%20extraction%20\(USAE\),as%20sources%20of%20natural%20compounds..](https://link.springer.com/article/10.1007/s12393-011-9036-6#:~:text=Ultrasound%2Dassisted%20extraction%20(USAE),as%20sources%20of%20natural%20compounds..) Acessado em: 01/03/2020.

EVERETTE, J. D.; BRYANT, Q. M.; GREEN, A. M.; ABBEY, Y. A.; WANGILA, G. W.; WALKER, R. B. Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin-Ciocalteu reagent. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 58, p. 8.139-8.144, jul. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf1005935>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf1005935>. Acessado em: 16/02/2020.

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**, n. 64, p. 171-181, out. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.06.022>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996914004177>. Acessado em: 14/04/2020.

FAUSTMAN, C.; SUN, Q.; MANCINI, R.; SUMAN, S. P. Myoglobin and lipid oxidation interactions: Mechanistic bases and control. **Meat Science**, v. 86, n. 1, p. 86-94, set. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.025>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0309174010001579>. Acessado em: 20/03/2019.

FAWOLE, O. A.; OPARA, U. L. Changes in physical properties, chemical and elemental composition and antioxidant capacity of pomegranate (*cv. Ruby*) fruit at five maturity stages. **Scientia Horticulturae**, v. 150, p. 37-46, fev. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.10.026>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304423812005122>. Acessado em: 26/04/2020.

FENG, F.; LI, M.; MA, F.; CHENG, L. Phenylpropanoid metabolites and expression of key genes involved in anthocyanin biosynthesis in the shaded peel of apple fruit in response to sun exposure. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 69, p. 54-61, ago. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.04.020>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23727590/>. Acessado em: 14/05/2020.

FERNANDES, A. B. C.; PIZATO, S. Elaboração de hambúrguer de carne bovina com adição de farinha de sorgo (*Sorghum Vulgare*). **PubSaúde**, v. 2, nov. 2019. DOI: <https://dx.doi.org/10.31533/pubsau2.a009>. Disponível em: <https://pubsaude.com.br/wp-content/uploads/2019/11/009-Elabora%C3%A7%C3%A3o-de-hamb%C3%BArguer-de-carne-bovina-com-adi%C3%A7%C3%A3o-de-farinha-de-sorgo-Sorghum-Vulgare.pdf>. Acessado em: 05/10/2020.

FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; JIMÉNEZ, S.; SAYAS-BARBERÁ, E.; SENDRA, E.; PÉREZ-ALVAREZ, J.A. Quality characteristics of ostrich (*Struthio camelus*) burgers. **Meat Science**, v. 73, n. 2, p. 295-303, jun. 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.12.011>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0309174006000052>. Acessado em: 05/11/2019.

FERREIRA, N. S. O.; ROSSET, M.; LIMA, G.; CAMPELO, P. M. S.; MACEDO, R. E. F. Effect of adding *Brosimum gaudichaudii* and *Pyrostegia venusta* hydroalcoholic extracts on the oxidative stability of beef burgers. **LWT - Food Science and Technology**, v. 108, P. 145 – 152, jul. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.03.041>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643819302361>. Acessado em: 14/11/2019.

FLETCHER, D. L.; QIAO, M.; SMITH, D.P. 2000. The relationship of raw broiler breast meat color and pH to cooked meat color and pH. **Poultry Science**, n.79, p. 784-788, maio 2000. DOI: <https://doi.org/10.1093/ps/79.5.784>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10824969/#:~:text=There%20were%20also%20significant%20linear,the%20degree%20of%20color%20variation..> Acessado em: 20/09/2020.

FLOEGEL, A.; KIM, D.-O.; CHUNG, S.-J.; KOO, S. I.; CHUN, O. K. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 7, p. 1043–1048, nov. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.01.008>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S088915751100038X>. Acessado em: 20/06/2020.

GAHRUIE, H. H.; HOSSEINI, S. M. H.; TAGHAVIFARD, M. H.; ESKANDARI, M. H.; GOLMAKANI, M.-T.; SHAD, E. Lipid Oxidation, Color Changes, and Microbiological Quality of Frozen Beef Burgers Incorporated with Shirazi Thyme, Cinnamon, and Rosemary Extracts. **Journal of Food Quality**, v. 2017, p. 1-9, maio 2017. DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/6350156>. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/jfq/2017/6350156/>. Acessado em: 20/09/2020.

GALVÃO, M. T. E. L. Análise sensorial de carnes. In: **CASTILLO, Carne J. Contreras. Qualidade da Carne**. São Paulo: Varela, Cap. 10, p. 185-189, 2006.

GEESINK, G. H.; BEKHIT, A. D.; BICKERSTAFFE, R. Rigor temperature and meat quality characteristics of lamb longissimus muscle. **Meat Science**, v. 78, p. 2842-2848, nov. 2000. DOI: <https://doi.org/10.2527/2000.78112842x>. Disponível em: <https://academic.oup.com/jas/article-abstract/78/11/2842/4625635?redirectedFrom=fulltext>. Acessado em: 18/09/2020.

GEORGANTELIS, D.; BLEKAS, G.; KATIKOU, P.; AMBROSIADIS, I.; FLETOURIS, D. J. Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on lipid oxidation and colour stability during frozen storage of beef burgers. **Meat Science**, v. 75, n. 2, p. 256-264, fev. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.07.018>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22063657/>. Acessado em: 26/09/2020.

GOMES, T. M.; TOALDO, I. M.; HAAS, I. C. da S.; BURIN, V. M.; CALIARI, V.; LUNA, A. S.; GOIS, J. S. de; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Differential contribution of grape peel, pulp, and seed to bioaccessibility of micronutrients and major polyphenolic compounds of red and white grapes through simulated human digestion. **Journal of Functional Foods**, n. 52, p. 699–708, jan. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.11.051>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1756464618306273>. Acessado em: 14/04/2020.

GÓMEZ-MAQUEO, A.; GARCÍA-CAYUELA, T.; WELTI-CHANES, J.; CANO, M. P. Enhancement of anti-inflammatory and antioxidant activities of prickly pear fruits by high hydrostatic pressure: A chemical and microstructural approach. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 54, p. 132-142, jun. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.04.002>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1466856419300608>. Acessado em: 16/05/2020.

GOMORI, G. Preparation of Buffers for Use in Enzyme Studies, **Methods in Enzymology**, v. 1, p. 138-146, 1995. DOI: [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(55\)01020-3](https://doi.org/10.1016/0076-6879(55)01020-3). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0076687955010203>. Acessado em: 15/06/2019.

GONDIM, J. A. M.; MOURA, M. de F. V.; DANTAS, A. S.; MEDEIROS, R. L. S.; SANTOS, K. M. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 825-827, out./dez. 2005. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612005000400032>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/cta/v25n4/27658.pdf>. Acesso em: 25/03/2019.

GORDILLO, B.; SIGURDSON, G. T.; LAO, F.; GONZÁLEZ-MIRET, M. L.; HEREDIA, F. J.; GIUSTI, M. M. Assessment of the color modulation and stability of naturally copigmented anthocyanin-grape colorants with different levels of purification. **Food Research International**, v. 106, p. 791-799, abr. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.057>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996918300656>. Acessado em: 14/05/2020.

GORDON, A.; CRUZ, A. P. G.; CABRAL, L. M. C.; FREITAS, S. C. de; TAXI, C. M. A. D.; DONANGELO, C. M.; MATTIETTO, R. de A.; FRIEDRICH, M.; MATTA, V. M. da; MARX, F. Chemical characterization and evaluation of antioxidant properties of Açaí fruits (*Euterpe oleraceae* Mart.) during ripening. **Food Chemistry**, n. 133, p. 256-263, jul. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.150>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814612000179>. Acessado em: 19/03/2020.

GRAU, A., GUARDIOLA, F., BOATELLA, J., & CODONY, R. Measurement of 2-Thiobarbituric acid values in dark chicken meat through derivative spectrophotometry: Influence of various parameters. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 4, p. 1155-1159, mar. 2000. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf990518q>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf990518q>. Acessado em: 25/09/2020.

GRASSO, S.; SMITH, G.; BOWERS, S.; AJAYI, O. M.; SWAINSON, M. Effect of texturised soy protein and yeast on the instrumental and sensory quality of hybrid beef meatballs. **Journal of Food Science and Technology**, v. 56, n. 6, p. 3126-3135, fev. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3552-9>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13197-018-3552-9>. Acessado em: 22/10/2020.

GRILLO, A. de C.; GUEDES, I. M. da S.; NICOLAI, J. C.; FERNANDEZ, W. S. Importância e atuação dos sais minerais no organismo. **Revista Científica Eletrônica de Enfermagem da FAEF**, v. 4, nº 3, fev. 2020.

GRUZ, A. P. G.; SOUSA, C. G. S. e; TORRES, A. G.; FREITAS, S. P.; CABRAL, L. M. C. Recuperação de compostos bioativos a partir do bagaço de uva. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 4, p. 1147-1157, dez. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452013000400026>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rbf/v35n4/a26v35n4.pdf>. Acessado em: 14/06/2019.

HALLENSTVEDT, E.; OVERLAND, M.; REHNBERG, A.; KJOS, N. P.; THOMASSEN, M. Sensory quality of short- and long-term frozen stored pork products. Influence of Diets varying in polyunsaturated fatty acid (PUFA) content and iodine value. **Meat Science**, n. 90, p. 244-251, jan. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.07.006>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0309174011002567>. Acessado em: 20/03/2019.

HAMANN, F. R.; ZAGO, A. M.; ROSSATO, M. F.; BECK, V. R.; MELLO, C. F.; BRUM, T. F.; CARVALHO, L. M. de; FACCIN, H.; OLIVEIRA, S. M.; RUBIN, M. A. Antinociceptive and antidepressant-like effects of the crude extract of *Vitex megapotamica* in rats. **Jornal de Etnofarmacologia**, v. 192, p. 210-216, nov. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.07.045>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27435374/>. Acessado em: 20/03/2019.

HAZRA, B.; BISWAS, S.; MANDAL, N. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Spondias pinnata*. **BMC - Complementary and Alternative Medicine**, v. 8, n. 63, p. 1-10, dez. 2008. DOI: <https://doi.org/10.1186/1472-6882-8-63>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19068130/>. Acessado em: 25/09/2019.

HE, J.; GIUSTI, M. M. Anthocyanins: Natural Colorants with Health-Promoting Properties. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 1, p. 163-187, abr. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.food.080708.100754>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22129334/>. Acessado em: 25/09/2019.

HELENO, S. A.; MARTINS, A.; QUEIROZ, M. J. R. P.; FERREIRA, I. C. F. R. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. **Food Chemistry**, v. 173, p. 501-513, abr. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.057>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814614016197>. Acessado em: 18/04/2020.

HUAMÁN, R.; ROSA, G. F. da.; PRENTICE, C. Evaluation and stability of the colour in burriquete (*Pogonias cromis*) fillets using a computer vision system Rosmer Hua. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 22, p. 1-10, jun. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.08815>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/bjft/v22/1981-6723-bjft-22-e2015088.pdf>. Acessado em: 25/10/2019.

HUANG, W.; ZHANG, H. L.; LIU, W.; LI, C. Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry, and strawberry in Nanjing. **Journal of Zhejiang University-SCIENCE B (Biomedicine & Biotechnology)**, v. 13, n. 2, p. 94-102, fev. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1631/jzus.B1100137>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3274736/#:~:text=Blueberries%2C%20blackberries%2C%20and%20strawberries%20cultivated,TPC%2C%20TFC%2C%20and%20TAC..> Acessado em: 06/05/2020.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1821-1835, jun. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.026>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814610016353>. Acessado em: 06/05/2020.

JIANG, J.; XIONG, Y. L. Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: A review. **Meat Science**, v. 120, p. 107-117, out. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.04.005>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27091079/>. Acessado em: 18/04/2019.

JIN, S.; YANG, B.; CHENG, Y.; TAN, J.; KUANG, H.; FU, Y.; BAI, X.; XIE, H.; GAO, Y.; LY, C.; EFFERTH, T. Improvement of resveratrol production from waste residue of grape seed by biotransformation of edible immobilized *Aspergillus oryzae* cells and negative pressure cavitation bioreactor using biphasic ionic liquid aqueous system pretreatment. **Food and Bioprocess Processing**, v. 102, p.177-185, mar. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.11.009>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960308516301614>. Acessado em: 06/04/2019.

JO, C.; AHN, D. U. Fluorometric Analysis of 2-Thiobarbituric Acid Reactive Substances in Turkey. **Poultry Science**, v. 77, p. 475-480, mar. 1998. DOI: <https://doi.org/10.1093/ps/77.3.475>. Disponível em:

em: https://www.researchgate.net/publication/51315477_Fluorometric_Analysis_of_2-Thiobarbituric_Acid_Reactive_Substances_in_Turkey. Acessado em: 18/01/2020.

JÚNIOR, D. M. de L.; RANGEL, A. H. do N.; URBANO, S. A.; MORENO, G. M. B. Oxidação lipídica e qualidade da carne ovina. **Acta Veterinaria Brasílica**, v. 7, n. 1, p. 14-28, maio 2013. DOI: <https://doi.org/10.21708/avb.2013.7.1.3119>. Disponível em <https://periodicos.ufersa.edu.br/index.php/acta/article/view/3119#:~:text=A%20oxida%C3%A7%C3%A3o%20dos%20lip%C3%ADdeos%20est%C3%A1,met%C3%A1licos%20como%20ferro%20n%C3%A3o%20heme..> Acessado em: 20/03/2019.

KALLITHRAKA, S.; GARCIAVIGUERA, C.; BAKKER, J. Extraction techniques and HPLC analysis of phenolic compounds from grape seeds. In: **INTERNATIONAL CONFERENCE ON POLYPHENOLS**, Barcelona, p. 227-228, 1995. Disponível em: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=FR9605097>. Acessado em: 24/04/2020.

KO, M. J.; CHEIGH, C. I.; CHUNG, M. S. Relationship analysis between flavonoids structure and subcritical water extraction (SWE). **Food Chemistry**, v. 143, p. 147-155, jan. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.104>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814613010339>. Acessado em: 01/03/2020.

LAZAR, L.; TALMACIU, A. I.; VOLF, I.; POPA, V. I. Kinetic modeling of the ultrasound-assisted extraction of polyphenols from *Picea abies* bark. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 32, p. 191-197, set. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.03.009>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S135041771630075X>. Acessado em: 01/03/2020.

LI, C.; GAO, S.; WANG, H.; LI, X.; ONG, K. L.; YANG, X.; LIN, C. S. K. Succinic acid production using a glycerol-based medium by an engineered strain of *Yarrowia lipolytica*: Statistical optimization and preliminary economic feasibility study. **Biochemical Engineering Journal**, v. 137, p. 305-313, set. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2018.06.012>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369703X18302006>. Acessado em: 10/12/2019.

LIMA, S. N, de. **Utilização de extrato de marcela (*Achyrocline satureioides*) como antioxidante natural em salsichas de carne mecanicamente separada de tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro – *Campus* Uberaba – MG, p. 45, 2014. Disponível em: <https://iftm.edu.br/uberaba/cursos/posgraduacao-stricto-presencial/alimentos/dissertacoes/arquivos/2014/Silverio.pdf>. Acessado em: 02/04/2019.

LIMA, A. de J. B.; CORRÊA, A. D.; ALVES, A. P. C.; ABREU, C. M. P.; DANTAS-BARROS, A. M. Caracterização química do fruto jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion** - Organo Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición, v. 58, n. 4, p. 416-421, nov. 2008. Disponível em: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222008000400015. Acessado em: 16/05/2020.

LOPES, A. S.; MATTIETTO, R. de A.; MENEZES, H. C. de. Estabilidade da polpa de pitanga sob congelamento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 3, p. 553-559, jul./set. 2005. DOI:

<http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612005000300026>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/cta/v25n3/27026.pdf>. Acessado em: 16/02/2020.

LOPES, M. R. F. **Carne bovina reestruturada com óleo de canola e antioxidante: desenvolvimento e atributos sensoriais**. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga – SP, p. 100, 2012. Disponível em: https://teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10135/tde-30092013-155627/publico/Mariana_Rosario_Freitas_Lopes_Dissertacao.pdf. Acessado em: 01/04/2019.

MACHADO, A. P. da F. **Extração de compostos bioativos do bagaço da amora-preta (*Rubus Spp.*) utilizando líquidos pressurizados**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. São Paulo, 2014. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/254627>. Acessado em: 28/06/2020.

MACHADO, A. P. da F.; PASQUEL-REÁTEGUI, J. L.; BARBERO, G. F.; MARTÍNEZ, J. Pressurized liquid extraction of bioactive compounds from blackberry (*Rubus fruticosus* L.) residues: a comparison with conventional methods. **Food Research International**, v. 77, p. 675-683, nov. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.12.042>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096399691400831X?casa_token=qyhH3anC-QoAAAAA:XbcBL8WwQEH90FWP3k86Ddh0P3qEifB4Aety1eDADqIiTC_RTcgI-4zcTMD0Xm5jVNZ_tsqdFc4. Acessado em: 14/05/2020.

MACHAREK, N; HANCHI, B. Maturational effects on phenolic constituents, antioxidant activities and LC-MS / MS profiles of lemon (*Citrus limon*) peels. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, v. 90, p. 1-9, jan. 2017. DOI: <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2017.090.001>. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/316562655_Maturational_effects_on_phenolic_constituents_antioxidant_activities_and_LC-MS_MS_profiles_of_lemon_Citrus_limon_peels. Acessado em: 19/03/2020.

MAGALHÃES, L. M.; SEGUNDO, M. A.; REIS, S.; LIMA, J. L. F. C. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. **Analytica Chimica Acta**, v. 613, n. 1, p.1-19, abr. 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.02.047>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0003267008003863>. Acessado em: 15/06/2019.

MAIEVES, H. A.; RIBANI, R. H.; MORALES, P.; SÁNCHEZ-MATA, M. de C. Evolution of the nutritional composition of *Hovenia dulcis* Thunb. pseudofruit during the maturation process. **Fruits**, v. 70, n. 3, p. 181-187, maio/jun. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1051/fruits/2015011>. Disponível em: <https://fruits.edpsciences.org/articles/fruits/abs/2015/03/fruits140124/fruits140124.html>. Acessado em: 26/04/2020.

MAIEVES, H, A; BOSMULER ZÜGE, L, C; SCHEER, A. de P. Physical Properties and Rheological Behavior of Pseudofruits of *Hovenia dulcis* Thunb. In Different Maturity Stages. **Journal of Texture Studies**, v. 48, n. 1, p. 31-38, maio 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/jtxs.12199>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jtxs.12199>. Acessado em: 09/03/2020.

MALEKI, S. J.; CRESPO, J. F.; CABANILLAS, B. Anti-inflammatory effects of flavonoids. **Food Chemistry**, v. 299, nov. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125124>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814619312300#:~:text=Flavonoids%20can%20inhibit%20enzymes%20or%20transcription%20factors%20important%20in%20inflammation.&text=Flavonoids%20are%20potent%20antioxidants%20with%20the%20potential%20to%20attenuate%20tissue%20damage.&text=Flavonoids%20seem%20to%20have%20beneficial%20properties%20in%20vitro%20in%20inflammatory%20diseases>. Acessado em: 05/04/2020.

MANCINI, R. A.; HUNT, M. C. Current research in meat color. **Meat Science**, v. 71, n. 1, p. 100-121, set. 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.03.003>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030917400500094X?casa_token=7mdaAr9WkNcAAAAA:662hQS3Is4afHri9fC2QjEwLRm8WykXKVk67MGaQ5JdO_Kqvh62mBDjqysyiDRezRWiNajDL2nc. Acesso em: 22/10/2020.

MANCINI, S.; MATTIOLI, S.; NUVOLONI, R.; PEDONESE, F.; DAL BOSCO, A.; PACI, G. Effects of garlic powder and salt on meat quality and microbial loads of rabbit burgers. **Foods**, v. 9, n. 8, p. 1022, jul. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods9081022>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/9/8/1022>. Acessado em: 07/10/2020.

MANGANARIS, G. A.; GOULAS, V.; VICENTE, A. R.; TERRY, L. A. Berry antioxidants: small fruits providing large benefits. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 5, p. 825-33, out. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.6432>. Disponível em: <https://www.essentialnutrition.com.br/media/artigos/chocolift/27.pdf>. Acessado em: 12/07/2020.

MARANGONI, C.; MOURA, N. F. de. Antioxidant activity of essential oil from *Coriandrum Sativum* L. in Italian salami. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 1, p. 124-128, jan./mar. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612011000100017>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/cta/v31n1/17.pdf>. Acessado em: 18/01/2020.

MARQUES, A. C.; VALENTE, T. B.; ROSA, C. S. da. Toxin formation during food processing and possible consequences to the human body. **Revista de Nutrição**, v. 22, n. 2, p. 283-293, mar./abr. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1415-52732009000200010>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rn/v22n2/v22n2a10.pdf>. Acessado em: 20/03/2019.

MARTINELLI, M.; MENDES, F. T.; SANTOS, J. R. P. dos; MARANHÃO, C. M. de A.; CASTRICINI, A. Sensory and quality assessment of processed raisins from three cultivars produced in the semiarid region of Brazil. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 21, p. 1-8, jul. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.13117>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/bjft/v21/1981-6723-bjft-21-e2017131.pdf>. Acessado em: 26/10/2019.

MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. Review: Natural Antioxidants from the Lamiaceae Family. Application in Food Products. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 10, n. 2, p. 96-103, jan. 2007. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/259532663_Antioxidantes_Naturais_da_Familia_Lamiaceae_Aplicacao_em_Produtos_Alimenticios. Acessado em: 02/04/2019.

MASCARENHAS, R. de J.; SILVA, S. de M.; LOPES, J. D.; LIMA, M. A. C. de. Avaliação sensorial de uvas de mesa produzidas no vale do São Francisco e comercializadas em João Pessoa – PB. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 32, n. 4, p. 993-1000, jan. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452011005000012>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rbf/v32n4/aop15310.pdf>. Acessado em: 16/05/2020.

MATTOS, G. N. **Obtenção de salsicha de tilápia usando antioxidante natural a base de resíduos do processamento de uva**. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica – RJ, p. 70, 2017. Disponível em: <https://tede.ufrj.br/jspui/bitstream/jspui/1881/2/2017%20-%20Gabriela%20Nunes%20Mattos.pdf>. Acessado em: 02/04/2019.

MENIN, M.; LEÃO, R. F. C. de. **Influência da temperatura no período de armazenamento de salsichas embaladas à vácuo**. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnólogo). Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Francisco Beltrão, PR, p. 48, 2012. Disponível em http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/1963/1/FB_COALM_2012_1_06.pdf. Acessado em: 02/04/2019.

MENDES-FILHO, N. E.; CARVALHO, M. P.; SOUZA, J. M. T. de. Determinação de macrocomponentes de nutrientes minerais da polpa de manga (*Mangifera indica* L.). **Perspectivas da Ciência e Tecnologia**, v. 6, n. 1/2, p. 22-36, 2014. Disponível em: <https://revistascientificas.ifrj.edu.br/revista/index.php/revistapct/article/view/417>. Acessado em: 14/04/2020.

MILANI, L. I. G.; TERRA, N. N.; FRIES, L. L. M.; KUBOTA, E. H. Efeito de extratos de caqui (*Diospyros kaki* L.) cultivar Rama Forte e do extrato oleoso de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) nas características sensoriais e na estabilidade da cor de hambúrguer de carne bovina congelado. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 3, p. 1085-1094, jun. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33n3p1085>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/cta/v31n1/17.pdf>. Acessado em: 18/09/2020.

MIZI, L.; COFRADES, C.; BOU, R.; PINTADO, T.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; ZAIDI, F.; JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Antimicrobial and antioxidant effects of combined high pressure processing and sage in beef burgers during prolonged chilled storage. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 51, p. 32-40, jan. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.04.010>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1466856417312432#:~:text=Sage%20powder%20was%20an%20effective%20antioxidant%20in%20burgers%20over%20prolonged%20chilled%20storage.&text=HPP%20of%20beef%20burgers%20did,oxidation%20during%20prolonged%20chilled%20storage.&text=Sensory%20attributes%20were%20unaffected%20by%20added%20sage%20powder.&text=Burgers%20exposed%20to%20600%20MPa%20showed%20acceptable%20microbial%20quality%20after%2060%20days>. Acessado em: 24/04/2019.

MOKHTAR, S. M.; YOUSSEF, K. M.; MORSY, N. E. The effects of natural antioxidants on colour, lipid stability and sensory evaluation of fresh beef patties stored at 4 °C. **Journal of Agroalimentary Processes and Technologies**, v. 20, n. 3, p. 282-292, ago. 2014. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/323812451_The_effects_of_natural_antioxidants_on_our_lipid_stability_and_sensory_evaluation_of_fresh_beef_patties_stored_at_4C. Acessado em: 07/10/2020.

MONTEIRO, G. C.; LIMA, G. P. P. **Pigmentos**. Laboratório de Química e Bioquímica Vegetal (LQBV). Universidade Estadual Paulista; Instituto de Biociências; Departamento de Química e Bioquímica; Análises Químicas e Bioquímicas em vegetais, 2017. Disponível em: <https://www.ibb.unesp.br/Home/ensino/departamentos/quimicaebioquimica/metodo-de-pigmentos-clorofila-a-e-b-antocianinas-e-carotenoides---gean.pdf>. Acessado em: 17/10/2019.

MONTEIRO, S. S.; RIBEIRO, S. R.; SOQUETTA, M. B.; PIRES, F. J.; WAGNER, R.; ROSA, C. S. da. Evaluation of the chemical, sensory and volatile composition of sapota-do-Solimões pulp at different ripening stages. **Food Research International**, n. 109, p. 159-167, jul. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.033>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29803438/>. Acessado em: 26/04/2020.

MORÓN-FUENMAYOR, O. E.; ZAMORANO-GARCÍA, L. Pérdida por goteo en diferentes carnes crudas. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v. 11, n. 2, p. 125-127, nov. 2003. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/959/95911219006.pdf>. Acessado em: 05/10/2020.

MOSQUERA-VIVAS, W. E. S.; AYALA-APONTE, A. A.; SERNA-COCK, L. Ultrasonido y Deshidratación Osmótica como Pretratamientos a la Liofilización de Melón (*Cucumis melo* L.). **Información Tecnológica**, v. 30 n. 3, p. 179-188, jun. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642019000300179>. Disponível em: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/infotec/v30n3/0718-0764-infotec-30-03-00179.pdf>. Acessado em: 16/05/2020.

MUKHOPADHYAY, S.; LUTHRIA, D. L.; ROBBINS, R. J. Optimization of extraction process for phenolic acids from black cohosh (*Cimicifuga racemosa*) by pressurized liquid extraction. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, n. 1, p. 156-162, set. 2006. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.2326>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.2326>. Acessado em: 17/03/2020.

NEVES, L. C.; SILVA, V. X. da.; CHAGAS, E. A.; LIMA, C. G. B.; ROBERTO, S. R. Determining the harvest time of camu-camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh] using measured pre-harvest attributes. **Scientia Horticulturae**, v. 186, p. 15-23, fev. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2015.02.006>. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/129807/1/Artigo-Camu-camu-Scientia-Horticulturae-v.186-p15-23-2015.pdf>. Acessado em: 26/04/2020.

NERIS, T. S.; LOSS, R. A.; GUEDES, S. F. Caracterização físico-química da seriguela (*Spondias purpurea* L.) coletadas no município de Barra do Bugres/MT em diferentes estágios de maturação. **Natural Resources**, v.7, n.1, p.9-18, set. 2017. DOI: <https://doi.org/10.6008/SPC2237-9290.2017.001.0002>. Disponível em: <https://sustenere.co/index.php/naturalresources/article/view/SPC2237-9290.2017.001.0002>. Acessado em: 16/05/2020.

NITAHARA, A. IBGE: cresce abate de bovinos, suínos e frangos. **Empresa Brasil de Comunicação - Agência Brasil**, 2019. Seção: Geral. Disponível em: <http://agenciabrasil.ebc.com.br/geral/noticia/2019-08/ibge-cresce-abate-de-bovinos-suinos-e-frangos>. Acessado em: 18/07/2019.

NOVELLO, Z. **Extração e caracterização química de extratos obtidos de matrizes vegetais utilizando n-butano pressurizado como solvente**. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Departamento de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Erechim – RS, p. 75, 2015. Disponível em http://www.uricer.edu.br/cursos/arq_trabalhos_usuario/2706.pdf. Acessado em: 02/04/2019.

NUNES, J. C.; LAGO, M. G.; CASTELO-BRANCO, V. N.; OLIVEIRA, F. R.; TORRES, A. G.; PERRONE, D.; MONTEIRO, M. Effect of drying method on volatile compounds, phenolic profile

and antioxidant capacity of guava powders. **Food Chemistry**, v. 197, p. 881-890, abr. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.050>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26617030/>. Acessado em: 16/05/2020.

OLIVEIRA, A. C. de; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, abr. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000300013>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/qn/v32n3/a13v32n3.pdf>. Acessado em: 20/05/2020.

OLIVEIRA, D. F. de.; MILESKI, J. P. F.; CARLI, C. G. de.; MARCHI, J. F.; SILVA, D. C.; COELHO, A. R.; TONIAL, I. B. Golden flaxseed flour as a substitute for animal fat in reduced-sodium beef hamburgers. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 4, p. 273-282, out./dez. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.0714>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/bjft/v17n4/1981-6723-bjft-17-4-273.pdf>. Acessado em: 16/09/2020.

OLIVEIRA, L. **Extração do óleo de tarumã e avaliação da composição química do óleo e do chá feito por infusão**. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnólogo em Alimentos). Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul – *Campus Sertão* – RS, p. 37, 2017. 1 CD-ROM.

ONOFRE, S. B.; ABATTI, D.; TESSARO, A. A.; TESSARO, A. B. Total Phenolic, Flavonoid Content and Antioxidant Activity of *Vitex megapotamica* (Spreng.) Moldenke. **Revista Ciência e Natura**, v.38, n.3, p. 1197-1204, set./dez. 2016. DOI: <https://doi.org/10.5902/2179460X21363>. Disponível em: <https://sustenere.co/index.php/naturalresources/article/view/SPC2237-9290.2017.001.0002>. Acessado em: 16/05/2020.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de Alimentos** - Alimentos de Origem Animal. Porto Alegre: Artmed, v. 2, p. 279, 2005.

PAULA, R. de. **Avaliação da estabilidade de linguiça toscana resfriada armazenada em embalagens com diferentes barreiras ao oxigênio**. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Erechim – RS, p. 106, 2013. Disponível em: http://www.uricer.edu.br/cursos/arq_trabalhos_usuario/2448.pdf. Acessado em: 10/04/2019.

PEREIRA, A. G. T. **Uso de carne mecanicamente separada de aves e fibra de colágeno na elaboração de salsichas**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. Universidade Federal de Lavras. Lavras – MG, p. 135, 2010. Disponível em: http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/2805/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O_Uso%20de%20carne%20mecanicamente%20separada%20de%20aves%20e%20fibra%20de%20col%C3%A1geno%20na%20elabora%C3%A7%C3%A3o%20de%20salsichas.pdf. Acessado em: 10/02/2019.

PIGNATA, M. C.; VIANA, P. T.; COVRE, L.; PIGNATA, M. C.; LACERDA, E. C. Q.; RECH, J. D. Avaliação físico-química e microbiológica na determinação da qualidade da carne de sol. **PUBVET**, v. 4, n. 40, Ed. 145, Art. 979, 2010. Disponível em: <https://www.pubvet.com.br/artigo/2575/avaliaccedilatildeo-fiacutesico-quiaceutemica-e-microbioloacutegica-na-determinaccedilatildeo-da-qualidade-da-carne-de-sol>. Acessado em: 10/10/2020.

PIMENTEL, R. M. A.; GUIMARÃES, F. N.; SANTOS, V. M.; RESENDE, J. C. F. Qualidade pós-colheita dos genótipos de banana PA42-44 e Prata-Anã cultivados no norte de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 2, p. 407-413, jun. 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452010005000047>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rbf/v32n2/aop05310.pdf>. Acessado em: 16/05/2020.

PRASSANA, V.; PRABHA, T. N.; THARANATHAN, R. N. Fruit ripening phenomena - An overview. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 47, p. 1-19, out. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408390600976841>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408390600976841?journalCode=bfsn20>. Acessado em: 26/04/2020.

PRASAD, K. N.; YANG, E.; YI, C.; ZHAO, M.; JIANG, Y. Effects of high pressure extraction on the extraction yield, total phenolic content and antioxidante activity of longan fruit pericarp. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 10, p. 155-159, abr. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2008.11.007>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1466856408001100>. Acessado em: 11/07/2020.

QI, S.; HUANG, H.; HUANG, J.; WANG, Q.; WEI, Q. Lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) seed water extract as potential antioxidant and anti-obese natural additive in meat products. **Food Control**, v. 50, p. 195-201, abr. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.08.047>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713514004964>. Acessado em: 18/09/2020.

RESENDE, L. M.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S. Buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) fruit by-products flours: Evaluation as source of dietary fibers and natural antioxidants. **Food Chemistry**, v. 270, p. 53-60, jan. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.079>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30174083/>. Acessado em: 18/09/2020.

RIBEIRO, J. S.; SANTOS, M. J. M. C.; SILVA, L. K. R.; PEREIRA, L. C. L.; SANTOS, I. A.; LANNES, S. C. S.; SILVA, M. V. Natural antioxidants used in meat products: A brief review. **Meat Science**, v. 186, p. 181 - 188, fev. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.10.016>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0309174018303577>. Acessado em: 20/03/2020.

ROCHA, S. A. da; LIMA, G. P. P.; BORGUINI, M. G.; CICCONE, V. R.; BELUTA, I. Fibras e lipídios em alimentos vegetais oriundos do cultivo orgânico e convencional. **Revista Simbio-Logias**, Botucatu, v. 1, n. 2, p. 1-9, nov. 2008. Disponível em: https://www.ibb.unesp.br/Home/ensino/departamentos/educacao/fibras_lipidios_alimentos_vegetais_oriundos.pdf. Acessado em: 26/04/2020.

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Antioxidant activity of cerrado fruits. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 1, n. 27, p. 53-60, jan./mar. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612007000100010>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/cta/v27n1/09.pdf>. Acessado em: 01/04/2020.

ROMERO, M. C.; FOGAR, R. A.; FERNÁNDEZ, C. L.; DOVAL, M. M.; ROMERO, A. M. JUDIS, M. A. Effects of freeze-dried pulp of *Eugenia uniflora* L. and *Opuntia ficus-indica* fruits on quality attributes of beef patties enriched with n-3 fatty acids. **Journal of Food Science and Technology**,

ago. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04703-z>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13197-020-04703-z>. Acesso em: 25/10/2020.

ROSA, C. S.; KUBOTA, E.; STEIM, M.; NOGARA, G. P.; VIZZOTO, M. Evaluation of the effect of extract of carob flour (*Ceratonia siliqua L.*) on oxidative stability and color of frozen hamburgers. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 5, p. 93-98, set./out. 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n5p2277>. Disponível em: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/13727>. Acessado em: 08/10/2020.

RUFINO, M. do S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREX-JIMÉNEZ, J.; CALIXTO, F. D. S. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Comunicado técnico 127**, Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, jul. 2007a. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAT/10224/1/Cot_127.pdf. Acessado em: 25/04/2019.

RUFINO, M. do S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREX-JIMÉNEZ, J.; CALIXTO, F. D. S. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS⁺. **Comunicado técnico 128**, Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, jul. 2007b. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAT/10225/1/Cot_128.pdf. Acessado em: 25/04/2019.

RUFINO, M. do S. M. **Propriedades funcionais de frutas tropicais brasileiras não tradicionais**. Tese (Doutorado). Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Mossoró – RG, p. 263, 2008. Disponível em : <http://www2.ufersa.edu.br/portal/view/uploads/setores/82/TeseMariadoSocorroRufino.pdf>. Acessado em: 26/07/2019.

RUFINO, M. do S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREX-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996-1002, ago. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.037>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/cta/v27n1/09.pdf>. Acessado em: 01/04/2020.

SAHIN, S.; SAMLI, R. Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound-assisted extraction with response surface methodology. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, p. 595-602, jan. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.07.029>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1350417712001757>. Acessado em: 25/04/2019.

SALUEÑA, B. H.; GAMASA, C. S.; RUBIAL, J. M. D.; ODRIOZOLA, C. A. CIELAB color paths during meat shelf life. **Meat Science**, v. 157, nov. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107889>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0309174019303560>. Acessado em: 15/10/2020.

SALVATIERRA, A.; PIMENTEL, P.; MOYA-LEON, M. A.; CALIGARI, P. D.; HERRERA, R. Comparison of transcriptional profiles of flavonoid genes and anthocyanin contents during fruit development of two botanical forms of *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis*. **Phytochemistry**, v. 71,

n. 16, p. 1839-1847, nov. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.08.005>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20800857/>. Acessado em: 14/05/2020.

SANTOS, E. H. B.; AZEVEDO, L. C.; BATISTA, F. P. R.; MATOS, L. P.; LIMA, M. S. Caracterização química e sensorial de uvas desidratadas, produzidas no Vale do São Francisco para infusão. **Revista Semiárido De Visu**, v. 1, n. 2, p. 134-147, 2011. Disponível em: <https://periodicos.ifsertao-pe.edu.br/ojs2/index.php/semiariidodevisu/article/view/67>. Acessado em: 16/05/2020.

SANTOS, J. S.; SANTOS, M. L. P.; AZEVEDO, A. S. Validação de um método para determinação simultânea de quatro ácidos orgânicos por cromatografia líquida de alta eficiência em polpas de frutas congeladas. **Química Nova**, v. 37, n. 3, p. 540-544, maio/jun. 2014. DOI: <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140087>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/qn/v37n3/v37n3a25.pdf>. Acessado em: 26/04/2020.

SARKIS, J. R.; CÔRREA, A. P. F.; MICHEL, I.; BRANDELI, A.; TESSARO, T. C.; MARCZAK, L. D. F. Evaluation of the phenolic content and antioxidant activity of different seed and nut cakes from the edible oil industry. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 91, p. 1773-1782, ago. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11746-014-2514-2>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11746-014-2514-2>. Acessado em: 24/04/2020.

SCHNITZLER, D. C.; GRASSI, M. T.; QUINAIA, S. P. Aplicação de planejamento fatorial a protocolo de extração e fixação de sulfetos volatilizáveis por acidificação (SVA) em amostras de sedimento. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1315-1320, maio 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000500038>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/qn/v32n5/v32n5a38.pdf>. Acessado em: 01/05/2019.

SEABRA, L. M. J.; ZAPATA, J. F. F.; NOGUEIRA, C. M.; DANTAS, M. A.; ALMEIDA, R. B. de. Fécula de mandioca e farinha de aveia como substitutos de gordura na formulação de hambúrguer de carne ovina. **Food Science and Technology**, v. 22, n. 3, p. 244-248, set./dez. 2002. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612002000300008>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/cta/v22n3/v22n3a08.pdf>. Acessado em: 14/09/2020.

SEGOVIA, F. J.; PÉREZ, J. C.; ALMANJO, M. P. Avocado seed: Modeling extraction of bioactive compounds. **Industrial Crops and Products**, vol. 85, pg. 213-220, jul. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.03.005>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669016301364>. Acessado em: 20/04/2020.

SELANI, M. M.; CONTRERAS-CASTILLO, C. J.; SHIRAHIGUE, L. D.; GALLO, C. R.; PLATA-OVIEDO, M.; MONTES-VILLANUEVA, N. D. Wine industry residues extracts as natural antioxidants in raw and cooked chicken meat during frozen storage. **Meat Science**, v. 88, n. 3, p. 397-403, jul. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.01.017>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21342750/>. Acessado em: 20/10/2020.

SHIMOKOMAKI, M.; OLIVO, R. **Atualidades em ciência e tecnologia de carnes**. 1ed. São Paulo: Livraria Varela, p. 236, 2006.

SIGURDSON, G. T.; TANG, P.; GIUSTI, M. M. Natural Colorants: Food Colorants from Natural Sources. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 8, p. 261-280, fev. 2017. DOI:

<https://doi.org/10.1146/annurev-food-030216-025923>. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28125346/>. Acessado em: 25/09/2019.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n. 1, abr. 1999. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40421999000100016>. Disponível em:
<https://www.scielo.br/pdf/qn/v22n1/1143.pdf>. Acessado em: 02/04/2019.

SILVA, F. L.; SILVA, T. dos S.; VARGAS, F. C.; FRANZOLIN, R.; TRINDADE, M. A. Scientific Note: Physicochemical parameters and sensory acceptance of buffalo burgers as compared to beef burgers. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 4, p. 340-344, out./dez. 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.2614>. Disponível em:
<https://www.scielo.br/pdf/bjft/v17n4/1981-6723-bjft-17-4-340.pdf>. Acessado em: 07/10/2020.

SILVA, C. da; SILVA, S. B. Avaliação de solventes e condições experimentais para extração de óleo de sementes de nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.). **Engevista**. Maringá (PR), v. 18, n. 2, p. 348-362, dez. 2016. DOI: <https://doi.org/10.22409/engevista.v18i2.744>. Disponível em:
<https://periodicos.uff.br/engevista/article/view/9073>. Acessado em: 01/03/2020.

SIMS, D. A.; GAMON, J. A. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. **Remote sensing of environment**, v. 81, n. 2, p. 337-354, ago. 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0034-4257\(02\)00010-X](https://doi.org/10.1016/S0034-4257(02)00010-X). Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S003442570200010X>. Acessado em: 17/10/2019.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687999990171>. Acessado em: 01/04/2020.

SKINNER, M.; HUNTER, D. **Bioactives in Fruit: Health Benefits and Functional Foods**. New Delhi: John Wiley & Sons, 2013.

SOARES, J. M. **Avaliação da oxidação lipídica e protéica em linguças calabresa e toscana**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Erechim – RS, p. 108 2012. Disponível em http://www.uricer.edu.br/cursos/arq_trabalhos_usuario/2164.pdf. Acessado em: 10/04/2019.

SOBRINHO, A. G. S. Body composition and characteristics of carcass from lambs of different genotypes and ages at slaughter. **Report (PostDoctorate in Sheep Meat Production)** – Massey University, Palmerston North, p. 54, 1999.

SOUSA, J. R. de M. **Extração de compostos fenólicos da casca do café por diferentes métodos**. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos). Universidade Federal de Uberlândia. Faculdade de Engenharia Química. Graduação em Engenharia de Alimentos, Patos de Minas – MG, p. 37, 2018. Disponível em

<https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/22834/3/Extra%20a7%20a3oCompostoFen%20b3licos.pdf>. Acessado em: 29/06/2020.

SOUZA, V. R. de; PEREIRA, P. A. P.; SILVA, T. L. T. de; LIMA, L. C. de O.; PIO, R.; QUEIROZ, F. Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. **Food Chemistry**, v. 156, p. 362-368, ago. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.125>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814614001770>. Acessado em: 01/04/2020.

SPAGOLLA, L.C.; SANTOS, M.M.; PASSOS, L.M.L.; AGUIAR, C.L. Extração alcoólica de fenólicos e flavonóides totais de mirtilo “Rabbiteye” (*Vaccinium ashei*) e sua atividade antioxidante. **Revista de Ciências Farmaceuticas Basica e Aplicada**, v. 30, n. 2, p. 187-191, set. 2009. Disponível em: <http://files.bvs.br/upload/S/1808-4532/2009/v30n2/a008.pdf>. Acessado em: 25/04/2019.

SUCUPIRA, N. R.; SILVA, A.B.; PEREIRA, G., COSTA, J.N. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. **Unopar Científica, Ciências Biológicas e da Saúde**, Fortaleza, v. 4, n. 14, p. 363-369, jul. 2012. DOI: <https://doi.org/10.17921/2447-8938.2012v14n4p%25p>. Disponível em: <https://revista.pgsskroton.com/index.php/JHealthSci/article/view/885>. Acessado em: 20/06/2020.

THOO, Y. Y.; HO, S. K.; LIANG, J. Y.; HO, C. W.; TAN, C. P. Effects of binary solvent extraction system, extraction time and extraction temperature on phenolic antioxidants and antioxidant capacity from mengkudu (*Morinda citrifolia*). **Food Chemistry**, v. 120, p. 290-295, maio 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.064>. Disponível em: https://www.google.com/search?q=Teste+de+TBA%3A+ran%C3%A7o+em+alimentos&rlz=1C1GCEA_enBR867BR867&oq=Teste+de+TBA%3A+ran%C3%A7o+em+alimentos&aqs=chrome..69i57j69i59.329j0j4&sourceid=chrome&ie=UTF-8. Acessado em: 10/05/2020.

TORRES, L. M. **Compostos bioativos, ácidos orgânicos, atividade antioxidante e suas correlações com a qualidade da bebida de café arábica**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. Universidade Federal de Lavras – Minas Gerais – MG, p. 93, 2014. Disponível em http://repositorio.ufla.br/jspui/bitstream/1/4478/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O_Compostos%20bioativos%20%C3%A1cidos%20org%C3%A2nicos%20atividade%20antioxidante%20e%20suas%20correla%C3%A7%C3%B5es%20com%20a%20qualidade%20da%20bebida%20de%20caf%C3%A9%20ar%C3%A1bica.pdf. Acessado em: 04/08/2020.

TREVISAN, Y. C.; BIS, C. V.; HENCK, J. M.; BARRETTO, A. C. da S. Effect of the addition of oat fiber on the physicochemical properties of cooked frozen hamburger with reduced fat and salt. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 19, p. 1-8, out. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.7915>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/bjft/v19/1981-6723-bjft-1981-67237915.pdf>. Acessado em: 10/10/2020.

UMAMAHESH, K.; RAMESH, B.; KUMAR, B. V.; REDDY, O. V. S. *In vitro* anti-oxidant, anti-microbial and anti-inflammatory activities of five Indian cultivars of mango (*Mangifera indica* L.) fruit peel extracts. **Journal of Herbmmed Pharmacology**, v. 8, n. 3, jul. 2019. DOI: 10.15171/jhp.2019.35. Disponível em: <http://herbmmedpharmacol.com/Article/jhp-3312>. Acessado em: 03/03/2020.

UTRERA, M.; MORCUENDE, D.; ESTÉVEZ, M. Fat content has a significant impact on protein oxidation occurred during frozen storage of beef patties. **LWT-Food Science and Technology**, n. 56, p. 62-68, abr. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.10.040>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643813003952>. Acessado em: 20/03/2019.

VEGGI, P. C. **Obtenção de extratos vegetais por diferentes métodos de extração: estudo experimental e simulação dos processos**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Departamento de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas – SP, p. 165, 2009. Disponível em: http://taurus.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/254860/1/Veggi_PriscillaCarvalho_M.pdf. Acessado em: 02/04/2019.

VIANNA, E.; KOEHLER, A. B. Tratamentos simplificados para germinação de sementes de tarumã (*Vitex megapotamica* (spreng.) Moldenke.). **Revista Acadêmica**, v. 5, n. 2, p. 189-193, abr./jun. 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.7213/cienciaanimal.v5i2.9762>. Disponível em: <https://periodicos.pucpr.br/index.php/cienciaanimal/article/view/9762>. Acessado em: 25/03/2019.

VIDAL, A. R.; PRESTES, R. C. Effects of addition of wheat fiber on color and pH of hamburger. **UNOPAR Científica, Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 16, n. 3, p. 169-73, jul. 2014. DOI: <https://doi.org/10.17921/2447-8938.2014v16n3p%25p>. Disponível em: <https://revista.pgsskroton.com/index.php/JHealthSci/article/view/423>. Acessado em: 20/09/2020.

VIÉGAS, F. C. P. **A citricultura brasileira**. 2º ed. Campinas: Cargil, 1991.

VIEIRA, G.S. **Estudo dos processos de extração de antocianinas da polpa de juçara (*Euterpe edulis Mart.*) e da concentração do extrato por nanofiltração**. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos.) em Engenharia de Alimentos. UNICAMP, Campinas, SP. 2015. Disponível em http://repositorio.unicamp.br/jspui/bitstream/REPOSIP/255148/1/Vieira_GluciaSantos_D.pdf. Acessado em: 02/07/2020.

ZAGO, G. R. **Estabilidade oxidativa de linguiça tipo Toscana com extrato liofilizado de casca de romã (*Punica granatum L.*)**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos.). Universidade de Passo Fundo. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Passo Fundo – RS, p. 120, 2018. Disponível em <http://tede.upf.br/jspui/bitstream/tede/1378/2/2018GilberoZago.pdf>. Acessado em: 27/03/2019.

ZHANG, H.; ZHAO, J.; SHANG, H.; GUO, Y.; CHEN, S. Extraction, purification, hypoglycemic and antioxidant activities of red clover (*Trifolium pratense L.*) polysaccharides. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 148, p. 750-760, abr. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.194>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813019402419>. Acessado em: 28/06/2020.

ZHAO, S.; PARK, C. H.; YANG, J.; YEO, H. J.; KIM, T. J.; KIM, J. K.; PARK, S. U. Molecular characterization of anthocyanin and betulinic acid biosynthesis in red and white mulberry fruits using high-throughput sequencing. **Food Chemistry**, v. 279, p. 364-372, maio 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.101>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030881461832048X>. Acessado em: 25/04/2019.

ZAHID, MD. A.; SEO, J-K.; PARVIN, R.; KO, J.; PARK, J-Y.; YANG, H-S. Assessment of the stability of fresh beef patties with the addition of clove extract during frozen storage. **Food Science of Animal Resources**, v. 40, n. 4, p. 601-612, jul. 2020. DOI: <https://doi.org/10.5851/kosfa.2020.e37>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7372992/>. Acessado em: 10/10/2020.

ZENG, S.; WU, M.; ZOU, C.; LIU, X.; SHEN, X.; HAYWARD, A.; LIU, C.; WANG, Y. Comparative analysis of anthocyanin biosynthesis during fruit development in two *Lycium* species. **Physiologia Plantarum**, v. 150, n. 4, p. 505-516, nov. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1111/ppl.12131>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ppl.12131>. Acessado em: 14/05/2020.

ZEOLA, N. M. B. L.; SOUZA, P. A.; SOUZA, H. B. A.; SOBRINHO, A. G. S.; BARBOSA, J. C. Cor, capacidade de retenção de água e maciez da carne de cordeiro maturada e injetada com cloreto de cálcio. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 4, p. 1058-1066, maio 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352007000400036>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/abmvz/v59n4/36.pdf>. Acessado em: 07/10/2020.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, p. 555-559, mar. 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814698001022>. Acessado em: 25/04/2019.

ZIEGLER, V.; UGALDE, M. L.; VEECK, I. A.; BARBOSA, F. F. Nutritional enrichment of beef burgers by adding components of non-conventional food plants. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 23, p. 1-12, mar. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.03019>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/bjft/v23/1981-6723-bjft-23-e2019030.pdf>. Acessado em: 04/09/2020.

ZORZI, M.; GAI, F.; MEDNA, C.; AIGOTTI, R.; MORELLO, S.; PEIRETTI, P. G. Bioactive compounds and antioxidant capacity of small berries. **Foods**, v. 9, p. 1-13, maio 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods9050623>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7278679/>. Acessado em: 05/04/2020.

WANG, L.; CLARDY, A.; HUI, D.; GAO, A.; WU, Y. Antioxidant and antidiabetic properties of Chinese and Indian bitter melon (*Momordica charantia* L.). **Food Bioscience**, v. 29, p. 73-80, jun. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.03.010>. Disponível em: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201900221739>. Acessado em: 25/09/2019.

WARNER, R. D. The Eating Quality of Meat - IV Water-Holding Capacity and Juiciness. **Lawrie's Meat Science**, cap. 14, p. 419-459, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100694-8.00014-5>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081006948000145>. Acessado em: 05/10/2020.

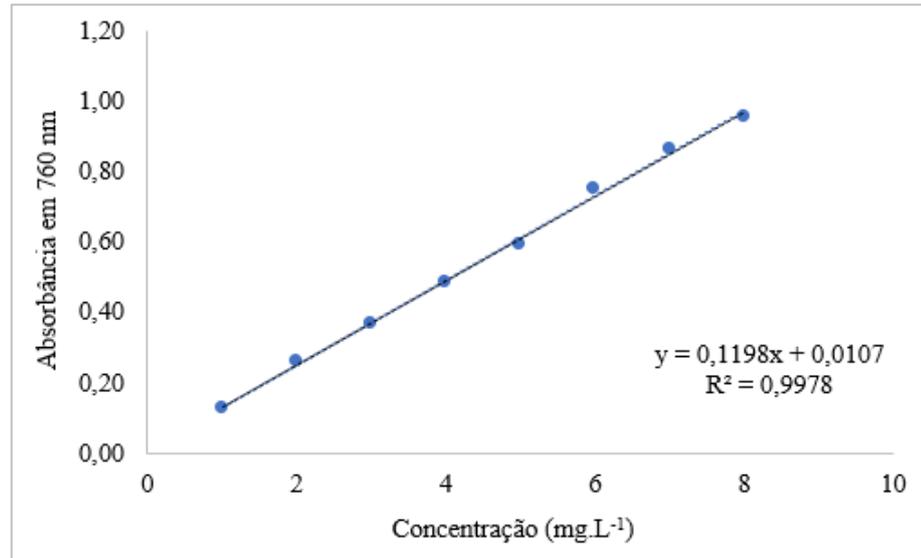
WONDRACEK, D. C.; FALEIRO, F. G.; SANO, S. M.; VIEIRA, R. F.; AGOSTINI-COSTA, T. da S. Composição de carotenoides em passifloras do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 4, p. 1222-1228, dez. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452011000400022>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rbf/v33n4/v33n4a22.pdf>. Acessado em: 05/04/2020.

YANISHLIEVA, N. V.; MARINOVA, E. M.; MAREKOV, I. N.; GORDON, M. H. Effect of an ethanol extract from summer savory (*Satureja hortensis* L) on the stability of sunflower oil at frying temperature. **Journal of the Science of Food and Agriculture, Baffins Lane Chichester**, v. 74, n. 4, p. 524-530, mar. 1997. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199708\)74:4<524::AID-JSFA829>3.0.CO;2-W](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199708)74:4<524::AID-JSFA829>3.0.CO;2-W). Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/%28SICI%291097-0010%28199708%2974%3A4%3C524%3A%3AAID-JSFA829%3E3.0.CO%3B2-W>. Acessado em: 10/05/2020.

YOUSUF, B.; SRIVASTAVA A. K. Flaxseed gum in combination with lemon grass essential oil as an effective edible coating for ready-to-eat pomegranate arils. **International Journal of Biological Macromolecule**, v. 104, p. 1030-1038, nov. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.07.025>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28687388/>. Acessado em: 10/10/2020.

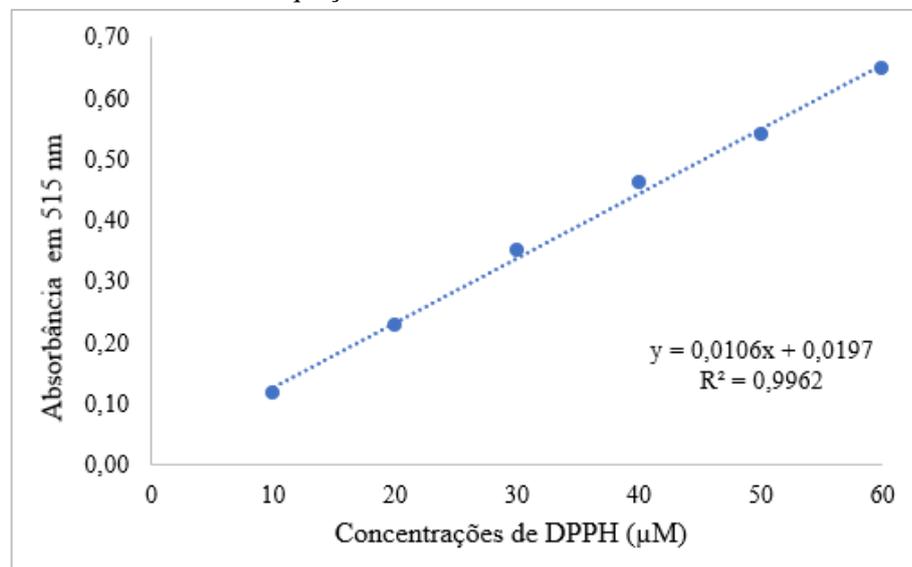
APÊNDICE

Apêndice 1 - Curva de Calibração - Concentrações de Ácido Gálico (mg.L^{-1}) no eixo X versus as respectivas absorbâncias no eixo Y, calcular a equação da reta e R^2 .



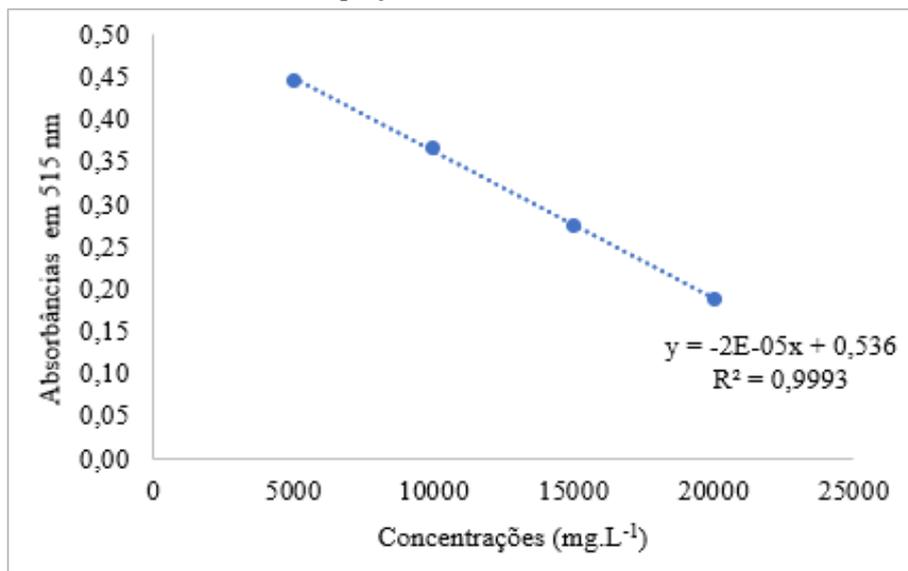
Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Apêndice 2 - Curva de Calibração - Concentrações de DPPH (μM) no eixo X versus as respectivas absorbâncias no eixo Y, calcular a equação da reta e R^2 .



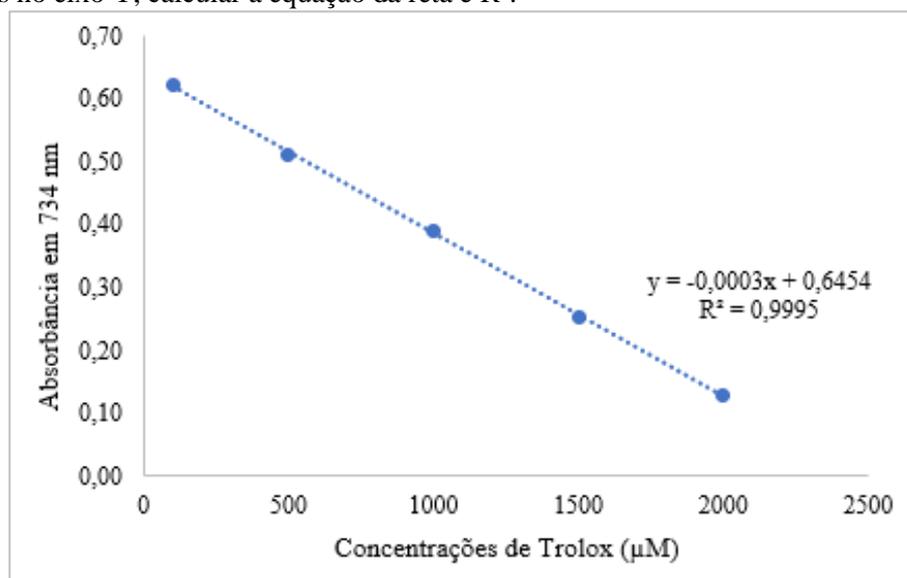
Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Apêndice 3 - Curva obtida a partir das concentrações dos extratos no eixo X *versus* as respectivas médias das absorvâncias no eixo Y, calcular a equação da reta e R^2 .



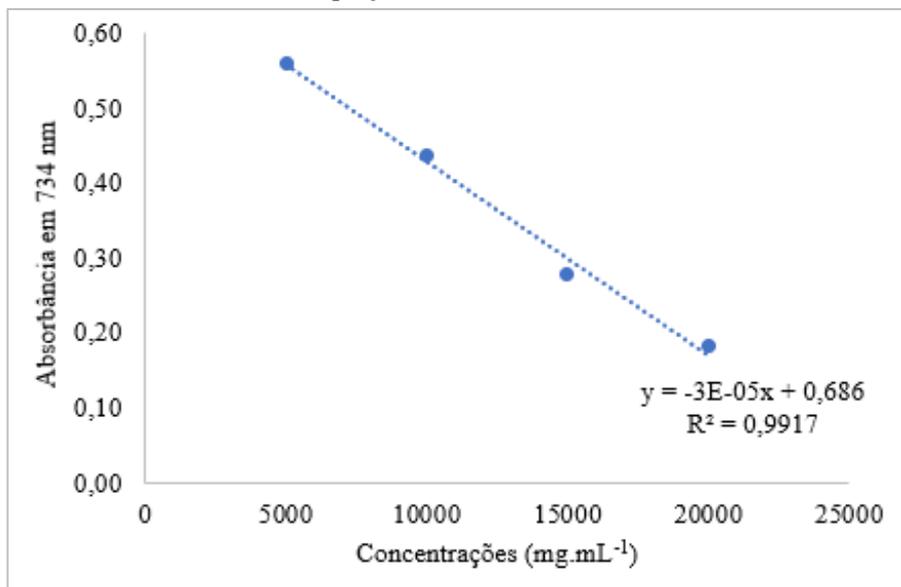
Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Apêndice 4 - Curva de Calibração - Concentrações de Trolox (μM) no eixo X *versus* as respectivas absorvâncias no eixo Y, calcular a equação da reta e R^2 .



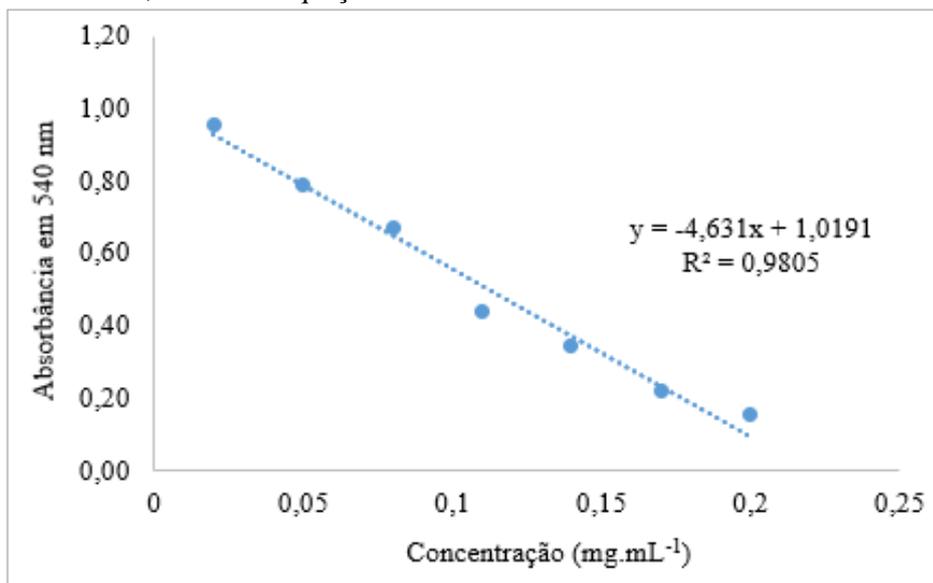
Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Apêndice 5 - Curva obtida a partir das concentrações dos extratos no eixo X *versus* as respectivas médias das absorvâncias no eixo Y, calcular a equação da reta e R^2 .



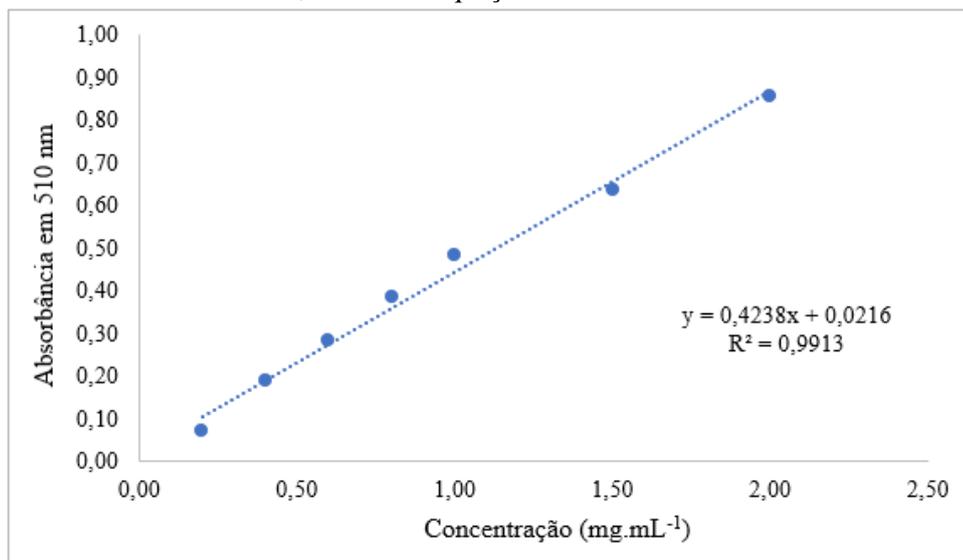
Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Apêndice 6 - Curva de Calibração - Concentrações de Trolox (mg.mL⁻¹) no eixo X *versus* as respectivas absorvâncias no eixo Y, calcular a equação da reta e R^2 .



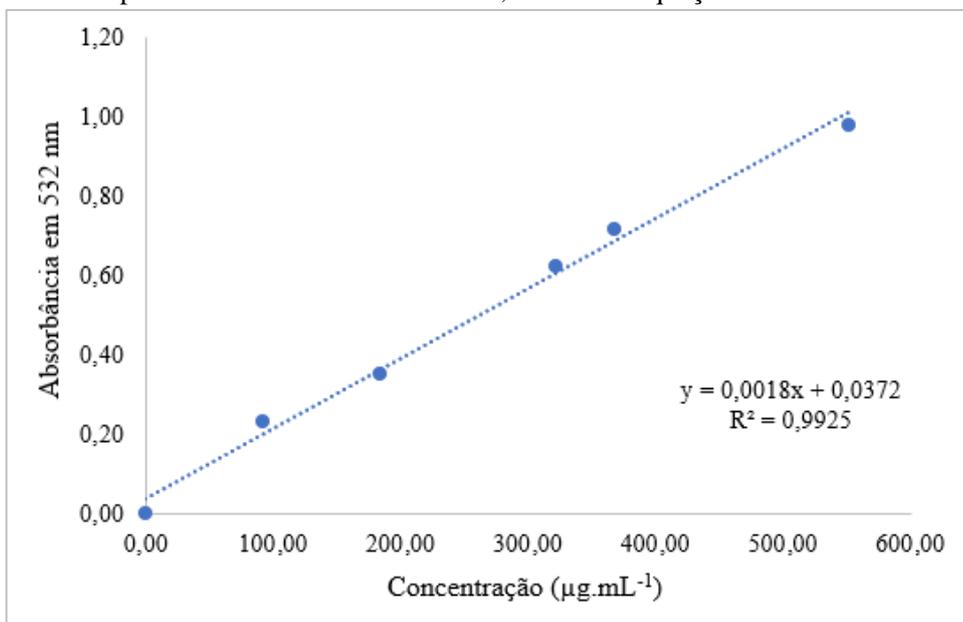
Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Apêndice 7 - Curva de Calibração - Concentrações de Catequina (mg.mL^{-1}) no eixo X *versus* as respectivas absorbâncias no eixo Y, calcular a equação da reta e R^2 .



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Apêndice 8 - Curva de Calibração - Concentrações de 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) no eixo X *versus* as respectivas absorbâncias no eixo Y, calcular a equação da reta e R^2 .



Fonte: Elaborado pelo autor, 2020.