



UNIVERSIDADE
ESTADUAL de LONDRINA

IARA ELENÍ DE SOUZA PEREIRA

**POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO COPRODUTO DE CAMU-
CAMU (*Myrciaria dúbia* (H.B.K) McVaugh) E APLICAÇÃO
EM HAMBÚRGUER DE FRANGO**

Londrina

2024

IARA ELENÍ DE SOUZA PEREIRA

**POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO COPRODUTO DE CAMU-
CAMU (*Myrciaria dúbia* (H.B.K) McVaugh) E APLICAÇÃO
EM HAMBÚRGUER DE FRANGO**

Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível Mestrado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Ciência de Alimentos

Orientadora: Elisa Yoko Hirooka
Coorientadora: Adriana Lourenço Soares Russo

Londrina
2024

IARA ELENÍ DE SOUZA PEREIRA

**POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO COPRODUTO DE CAMU-CAMU
(*Myrciaria dúbia* (H.B.K) McVaugh) E APLICAÇÃO O EM
HAMBÚRGUER DE FRANGO**

Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível Mestrado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Ciência de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Elisa Yoko Hirooka
Universidade Estadual de Londrina

Profa. Dr Alexandre Oba
Universidade Estadual de Londrina

Prof. Dra Sandra Helena Prudencio
Universidade Estadual de Londrina

SUPLENTE

Profa. Dra Luciana Pereira Bernd
Inst. Fed. Edu.Ciênc.Tecnol. IFRS

Prof.Dr. André Luiz Buzzo Mori
Universidade Estadual de Londrina

Londrina, 05 de Julho de 2024

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Professora Dra. Elisa Hirooka por toda sua motivação, confiança e compreensão, gostaria de expressar minha gratidão pelo apoio e acolhimento.

À Professora Dra. Adriana Lourenço minha coorientadora, por todo o conhecimento transmitido, pela atenção, obrigada pela assistência durante a pesquisa.

À CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela bolsa durante o Mestrado;

À Universidade Estadual de Londrina, pela infraestrutura e condições para a realização desta pesquisa e, à Coordenadoria e a todos os Docentes do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PG CTA), pelos ensinamentos transmitidos, atenção e colaboração. Ao Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos e aos Professores do Programa de Mestrado e Doutorado em Ciência de Alimentos, pelos ensinamentos e colaboração durante o desenvolvimento do curso de Mestrado;

À minha amiga Doutoranda Bárbara Vicenzi, que contribuiu muito para a execução desta pesquisa, para que tudo desse certo, obrigada por toda ajuda e pela amizade.

Aos amigos e colegas que fiz no decorrer dessa jornada, Kawany Forato, Estefany Redondo, Tuany Pomini, Larissa Menon, Natália Pereira, Claudia Weis, Maikon Nascimento, Eduardo Lolato, Vinícius Domingues, Thiago Okagawa, Daniele Moraes, Viviane Leite e Carina Benis. Obrigada por todo o carinho e acolhimento que sempre tiveram comigo, pelos muitos momentos agradáveis, tornaram a caminhada muito mais leve.

À empresa Docefruta Indústria e Comércio de Produtos Alimentícios Ltda pela doação do coproduto de camu-camu que possibilitou a realização deste estudo.

À Lycio Shinji Watanabe por toda ajuda com as análises no UPLC-PDA essências para a pesquisa.

Às Professoras Dra Giselle Nobre e Renata Katsuko, pelas cepas bacterianas utilizadas nesta pesquisa.

À Deus, por me permitir concluir essa etapa tão importante de minha vida, por ter me mantido firme no meu propósito até o fim.

À minha família, especialmente minha mãe Ana Cristina, minha madrinha Maria Raimunda, as minhas tias Rosineide dos Santos, Alessandra Valéria e ao meu irmão Eduardo Rodrigues, obrigada por me apoiarem, e se fazerem presentes mesmo há quilômetros de distância, obrigada por acreditarem em mim e por tudo que fizeram para que eu conseguisse viver e concretizar esse sonho, muito obrigada!

À Élida Viana, que acompanhou meus passos na graduação e sempre foi uma das minhas principais motivadoras, obrigada por todas as oportunidades e ensinamentos que foram essenciais em minha vida acadêmica e pessoal.

Enfim, agradeço a todos aqueles que contribuíram para desenvolvimento deste trabalho, diretamente ou indiretamente.

Gratidão!

PEREIRA, Iara Eleni de Souza. **Potencial antioxidante do coproduto de camu-camu (*Myrciaria dúbia* (h.b.k) *mcvaugh*) e aplicação o em hambúrguer de frango** 2024. Número total de folhas 81 F. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

RESUMO

O camu-camu (*Myrciaria dúbia* (H.B.K) *McVaugh*) é um fruto da Amazônia, que contém elevado conteúdo de compostos bioativos, comprovada ação antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória. No processo do suco deste fruto é gerado resíduo que contém elevado conteúdo de bioativos e normalmente é descartado. Os produtos cárneos são fontes de proteínas e ferro essencial para organismo humano, um dos produtos mais consumidos devido a praticidade e baixo custo é o hambúrguer, que por outro lado apresenta susceptibilidade a oxidação lipídica, comprometendo cor, sabor e segurança. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo caracterizar o coproduto de camu-camu desidratado por liofilização e investigar sua aplicação em hambúrgueres de carne frango como substituto do antioxidante sintético durante a vida útil e avaliar aceitabilidade dos hambúrgueres pelos consumidores. O coproduto foi obtido de uma indústria de polpa de fruta, submetido a secagem por liofilização e caracterizado quanto a composição química, atividade de água, acidez total titulável, pH, cor, sólidos solúveis totais, compostos bioativos como antocianinas, ácido ascórbico, carotenoides, flavonoides, a capacidade antioxidante pelo método ABTS, DPPH e FRAP. Foi avaliada também a atividade antimicrobiana para cepas de *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Foram elaboradas 5 formulações de hambúrgueres de frango sendo: T1 (sem adição de antioxidante); T2 (com adição do antioxidante comercial eritorbato de sódio) e T3, T4 e T5 com adição de 0,5%, 0,75% e 1,0% do coproduto de camu-camu liofilizado, respectivamente. Os hambúrgueres foram avaliados tempos 0,15, 30, 45 e 60 dias de armazenamento a -18°C quanto ao pH, cor, composição química aproximada, perfil de textura, oxidação lipídica, aceitação sensorial e intenção de compra. O coproduto de camu-camu liofilizado apresentou alto conteúdo de ácido ascórbico (1,62g/100g), antocianinas (22,84mg/100g), carotenoides (1,27µg/100g), flavonoides (16,67mg/100g) e compostos fenólicos (5981mg/100g), além disso, apresentou uma alta atividade antioxidante pelos métodos ABTS (108,27 µmol Trolox/g), DPPH EC 50 (30,60 g/g DPPH) e FRAP (3.809,22 µmol Fe2SO4/g) e baixo valor de pH (2,88). O coproduto também revelou ação inibitória frente as três cepas patogênicas testadas. (*Escherichia coli*, *Salmonella*, e *S. aureus*, apresentando halos de inibição de 13,44 mm, 15,79 mm e 25,69 mm, respectivamente. Os hambúrgueres elaborados apresentaram composição química de acordo com o regulamento técnico. A adição do coproduto camu-camu nos hambúrgueres (T3, T4 e T5) ocasionou diminuição significativa ($p>0,05$) do valor de pH. Os hambúrgueres elaborados com adição de camu-camu (T3, T4 e T5) apresentaram-se mais escuros, com maior valor de a^* e menor valor de b^* . Em relação ao perfil de textura, a adição de camu-camu aumentou a dureza e mastigabilidade. Para oxidação lipídica durante o armazenamento, foi verificado que o coproduto do camu-camu liofilizado apresentou atividade antioxidante semelhante ao o antioxidante sintético comercial (eritorbato de sódio). Na análise sensorial, o

hambúrguer T2 apresentou melhor aceitação (7,72) quando comparado com os hambúrgueres T3 (6,07) e T4 (5,95). Na intenção de compra, as formulações com adição de camu-camu (T3 e T4) apresentaram escores referentes a “não sei se compraria ou não”. Conclui-se que o coproduto de camu-camu apresenta viabilidade para ser utilizado como antioxidante em alimentos diminuindo desperdício e descarte ambiental e que de forma geral, os hambúrgueres elaborados com adição de camu-camu podem ser uma alternativa para oferta de produtos cárneos mais saudáveis

Palavras-chave: Antioxidante natural; compostos bioativos; Oxidação lipídica;.

PEREIRA, Iara Eleni de Souza. **Potencial antioxidante do coproduto de camu-camu (*Myrciaria dúbia* (h.b.k) mcvaugh) e aplicação o em hambúrguer de frango.** 2024. Número total de folhas 81 F. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

ABSTRACT

Camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K) McVaugh) is a fruit from the Amazon, which contains a high content of bioactive compounds, with proven antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory action. The juice process of this fruit generates residue that contains a high content of bioactives and is normally discarded. Meat products are sources of protein and iron essential for the human body, one of the most consumed products due to its practicality and low cost is the hamburger, which on the other hand is susceptible to lipid oxidation, compromising color, flavor and safety. Therefore, the present study aimed to characterize the camu-camu co-product dehydrated by freeze-drying and investigate its application in chicken meat hamburgers as a substitute for the synthetic antioxidant during the shelf life and to evaluate the acceptability of the hamburgers by consumers. The co-product was obtained from a fruit pulp industry, subjected to freeze-drying and characterized as to chemical composition, water activity, total titratable acidity, pH, color, total soluble solids, bioactive compounds such as anthocyanins, ascorbic acid, carotenoids, flavonoids, antioxidant capacity by the ABTS, DPPH and FRAP methods. The antimicrobial activity for strains of *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076) and *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) was also evaluated. Five chicken burger formulations were prepared, namely: T1 (without added antioxidant); T2 (with addition of the commercial antioxidant sodium erythorbate) and T3, T4 and T5 with addition of 0.5%, 0.75% and 1.0% of the lyophilized camu-camu co-product, respectively. The burgers were evaluated at 0, 15, 30, 45 and 60 days of storage at -18°C regarding pH, color, approximate chemical composition, texture profile, lipid oxidation, sensory acceptance and purchase intention. The lyophilized camu-camu co-product showed high content of ascorbic acid (1.62 g/100 g), anthocyanins (22.84 mg/100 g), carotenoids (1.27 µg/100 g), flavonoids (16.67 mg/100 g) and phenolic compounds (5981 mg/100 g), in addition, it showed high antioxidant activity by the ABTS (108.27 µmol Trolox/g), DPPH EC 50 (30.60 g/g DPPH) and FRAP (3,809.22 µmol Fe2SO4/g) methods and low pH value (2.88). The co-product also revealed inhibitory action against the three pathogenic strains tested. (*Escherichia coli*, *Salmonella*, and *S. aureus*, presenting inhibition halos of 13.44 mm, 15.79 mm, and 25.69 mm, respectively). The prepared hamburgers presented chemical composition in accordance with the technical regulation. The addition of the camu-camu coproduct in the hamburgers (T3, T4, and T5) caused a significant decrease ($p>0.05$) in the pH value. The hamburgers prepared with the addition of camu-camu (T3, T4, and T5) were darker, with a higher a^* value and a lower b^* value. Regarding the texture profile, the addition of camu-camu increased hardness and chewiness. For lipid oxidation during storage, it was found that the lyophilized camu-camu coproduct presented antioxidant activity similar to the commercial synthetic antioxidant (sodium erythorbate). In the sensory analysis, the T2 hamburger presented better acceptance (7.72) when compared to the burgers T3 (6.07) and T4 (5.95). In terms of purchase intention, the formulations with added camu-camu (T3 and T4) presented scores referring to “I don’t know if I would buy it or not”. It is concluded that the camu-camu co-product is viable for use as an antioxidant in food, reducing waste and environmental disposal, and that, in general, burgers made with added camu-camu can be an alternative for offering healthier meat products

Keywords: Natural antioxidant; bioactive compounds; Lipid oxidation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - camu-camu (<i>Myrciaria dubia</i> (H.B.K.) McVaugh, Myrtaceae)	13
Figura 2 – Esquema oxidação de ácidos graxos	18
Figura 3 - Fluxograma geral do experimento	27
Figura 4 - Fluxograma de produção de hambúrguer de frango	32

ARTIGO

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Cromatograma do coproduto de camu-camu liofilizado no comprimento de onda de 270 nm	45
Figura 2 - Intenção de compra dos hambúrgueres de carne de frango com adição de coproduto de camu-camu (T2 - com adição do antioxidante comercial eritorbato de sódio; T3, T4 e com adição de 0,5% e 0,75% do coproduto de camu-camu liofilizado, respectivamente)	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Gradiente cromatográfico composto por (A) água acidificada com 0,1% ácido fórmico (v/v) e (B) metanol acidificada com 0,1% ácido fórmico (v/v)28

Tabela 2 - Classificação de pós com base na sua higroscopicidade31

Tabela 3 - Formulações de hambúrgueres de frango: T1 Controle - sem adição de antioxidante; T2 com adição do antioxidante comercial eritorbato de sódio; T3 com adição de 0,5% do coproduto de camu-camu liofilizado 0,50; T4 com adição de 0,75% do coproduto de camu-camu liofilizado e T5 com adição de 1,0% do coproduto de camu-camu liofilizado33

ARTIGO

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Formulações de hambúrgueres de frango: T1- sem adição de antioxidante; T2 - com adição do antioxidante comercial eritorbato de sódio; T3, T4 e T5 com adição de 0,5% 0,75% e 1,0% do coproduto de camu-camu liofilizado, respectivamente.....41

Tabela 2 - Caracterização físico-química e propriedade tecnológica do coproduto de camu-camu liofilizado.....44

Tabela 3 - Compostos bioativos e atividade antioxidante do coproduto de camu-camu liofilizado.....45

Tabela 4 - Composição química do coproduto de camu-camu liofilizado.....47

Tabela 5 - Atividade antimicrobiana do coproduto de camu-camu liofilizado medida pelo diâmetro do halo de inibição do crescimento bacteriano.....47

Tabela 6 - Composição química aproximada de hambúrguer de carne de frango com adição de co-produto de camu-camu (T1- sem adição de antioxidante; T2 - com adição do antioxidante comercial eritorbato de sódio; T3, T4 e T5 com adição de 0,5% 0,75% e 1,0% do coproduto de camu-camu liofilizado, respectivamente)48

Tabela 7 - Perfil de textura de hambúrguer de carne de frango com adição de co-produto de camu-camu (T1- sem adição de antioxidante; T2 - com adição do antioxidante comercial eritorbato de sódio; T3, T4 e T5 com adição de 0,5% 0,75% e 1,0% do coproduto de camu-camu liofilizado, respectivamente)49

Tabela 8 - Valores de pH de hambúrguer de carne de frango com adição de co-produto de camu-camu durante armazenamento a -18°C (T1- sem adição de antioxidante; T2 - com adição do antioxidante comercial eritorbato de sódio; T3, T4 e T5 com adição de 0,5% 0,75% e 1,0% do coproduto de camu-camu liofilizado, respectivamente)49

Tabela 9 - Parâmetros de cor de hambúrguer de carne de frango com adição de co-produto de camu-camu durante armazenamento a -18°C (T1- sem adição de antioxidante; T2 - com adição do antioxidante comercial eritorbato de sódio; T3, T4 e T5 com adição de 0,5% 0,75% e 1,0% do coproduto de camu-camu liofilizado, respectivamente)51

Tabela 10 - Oxidação lipídica (mg de TBARS/kg) de hambúrguer de carne de frango com adição de co-produto de camu-camu durante armazenamento a -18°C (T1- sem adição de antioxidante; T2 - com adição do antioxidante comercial eritorbato de sódio; T3, T4 e T5 com adição de 0,5% 0,75% e 1,0% do coproduto de camu-camu liofilizado, respectivamente)53

Tabela 11 - Aceitação sensorial dos hambúrgueres de carne de frango com adição de co-produto de camu-camu (T2 - com adição do antioxidante comercial eritorbato de

sódio; T3, T4 e com adição de 0,5% e 0,75% do coproduto de camu-camu liofilizado, respectivamente)54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS	Sequestro do radical (2,2'-azinobis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonate)
DPPH	Sequestro do Radical DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryl-hidrazil))
FRAP	Redução do Íon Ferro
GAE	Ácido Gálico Equivalente
TBA	Ácido 2-tiobarbitúrico
TBARS	Substâncias Reativas ao Ácido 2-tiobarbitúrico
TPA	Análise de Perfil de Textura (da sigla inglesa Texture Profile Analysis)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVO	12
2.1. Objetivo geral	12
2.2. Objetivo específico	12
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
3.1. Camu-camu	13
3.3. Oxidação Lipídica	15
3.4. Oxidação Lipídica em Produtos Cárneos	17
3.5. Antioxidantes	18
3.6 Deterioração microbiana em carnes e produtos cárneos	2
3.7. Microrganismos patogênicos associados em produtos cárneos	23
4 MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1 Obtenção do resíduo de camu-camu desidratado	24
4.2 Análise de compostos bioativos	24
4.2.1 Determinação de compostos bioativos	24
4.2.2 Antocianinas e flavonoides totais	26
4.2.3 Carotenoides Totais	26
4.3 Análises de atividade antioxidante	28
4.3.1 Conteúdo fenólico total (CFT)	29
4.3.2. Atividade antioxidante pela capacidade de sequestro do radical DPPH	29
4.3.3 Atividade antioxidante pela capacidade de sequestro do radical ABTS	29
4.3.3 Atividade antioxidante pela capacidade de redução do íon ferro	30
4.4. Atividade antimicrobiana	30
4.5. Análises físico químicas	31
4.5.1. Atividade de água (Aw)	31
4.5.2. Determinação de Umidade	31
4.5.3. Cor instrumental	31
4.5.4. Potencial hidrogeniônico (pH)	31

4.5.5.	Sólidos solúveis totais	31
4.5.6.	Acidez Total Titulável (ATT)	31
4.5.7.	Higroscopicidade	32
4.6.	Composição Centesimal	32
4.7.	Formulação dos Hambúrgueres	32
4.8.	Análise Centesimal	34
4.9.	Análise de estabilidade nas formulações de hambúrguer	34
4.9.1.	Determinação da formação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)	35
4.9.2.1.	Potencial hidrogeniônico (pH)	35
4.9.2.2.	Cor	36
4.9.2.3.	Atividade de água	36
4.10.	Análise sensorial	36
4.11.	Análise Estatística	37
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1	Artigo Científico - Potencial Antioxidante Do Coproduto De Camu-Camu (<i>Myrciaria Dúbia</i> (H.B.K) Mcvaugh em Hambúrguer de Frango e Aceitação Sensorial	38
	Resumo	38
	Introdução	38
	Material e Métodos	
	<i>Caracterização física do coproduto de camu-camu</i>	39
	<i>Composição química aproximada do coproduto de camu-camu</i>	39
	<i>Determinação de compostos bioativos e atividade antioxidante</i>	40
	<i>Atividade antimicrobiana</i>	40
	<i>Elaboração de Hambúrgueres de frango</i>	40
	<i>Composição química aproximada</i>	40
	<i>Análise de pH e cor dos hambúrgueres</i>	40
	<i>Análise textura</i>	41
	<i>Análise de Oxidação lipídica</i>	41
	<i>Análise Sensorial</i>	41
	<i>Análise estatística</i>	42
	<i>Resultados e Discussão</i>	42
	<i>Conclusão</i>	55
	Referências	56

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	60
REFERÊNCIAS.....	61
ANEXOS	70
ANEXO A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	71
ANEXO B - Questionário para Análise Sensorial	73
ANEXO C - Formulário de Avaliação	74

1. INTRODUÇÃO

Os lipídios atribuem as características desejáveis aos produtos cárneos, como sabor, aroma, especialmente a suculência e valor nutricional. Os atributos apreciados pelos consumidores são comprometidos pela oxidação lipídica, processo responsável pela perda de qualidade desses produtos, promovendo a rancificação com produção de compostos indesejáveis e tóxicos impactando negativamente na vida útil e na aceitabilidade (ZAGO, 2018).

Dentre os produtos cárneos de maior preferência e susceptibilidade a oxidação destaca-se o hambúrguer, que devido a sua praticidade e baixo custo, abrangendo um grande grupo de consumidores de diferentes faixas etárias, a perecibilidade está associada as características intrínsecas do próprio produto, somada aos processos envolvidos em sua produção (OLIVEIRA, 2018).

Visando ampliar a vida útil da carne e seus derivados, dentre as alternativas tecnológicas existentes, emprega-se compostos antioxidantes, sendo que os de fontes naturais tem sido mais procurado, indo ao encontro das expectativas dos consumidores como uma estratégia importante e inovadora (ZAGO, 2018).

O camu camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh, *Myrtaceae*) é um fruto da região amazônica, é reconhecido principalmente pela alta concentração de ácido ascórbico, que pode chegar até 3000 mg/100g, por essa razão, ele é considerado como uma das espécies de maior potencial econômico da região amazônica. No processamento do fruto para obtenção da polpa do fruto é gerado resíduo constituído de tegumento, semente e polpa residual, o que corresponde a proximamente 40% do fruto, ainda com elevado teor de compostos bioativos, cuja utilização evitaria o descarte no ambiente (SOLIS 2009; LOURENÇO, 2021).

Desta forma, torna-se importante investigar a potencial atividade antioxidante do coproduto de camu-camu liofilizado e sua adição em hambúrguer de carne de frango como substituição ao antioxidante sintético proporcionando a elaboração de produtos mais saudáveis contribuindo para aproveitamento do fruto, sustentabilidade e meio ambiente.

2. OBJETIVO

2.1. Objetivo geral

Caracterizar o coproduto de camu-camu desidratado por liofilização e investigar sua aplicação em hambúrgueres de carne frango como substituto do antioxidante sintético durante a vida útil e avaliar aceitabilidade dos hambúrgueres pelos consumidores.

2.2. Objetivo específico

- Produção do coproduto de camu-camu desidrato por liofilização;
- Determinar os compostos bioativos presentes no coproduto de camu-camu liofilizado;
- Caracterizar o coproduto liofilizado de camu-camu em relação a composição química, a atividade antioxidante e antimicrobiana;
- Elaborar hambúrgueres de frango com adição de coproduto de camu-camu liofilizado em substituição ao antioxidante sintético;
- Avaliar a composição química e a textura dos hambúrgueres de frango elaborados;
- Avaliar estabilidade oxidativa dos hambúrgueres formulados com coproduto de camu-camu durante 60 dias de armazenamento sob congelamento
- Analisar ao longo do tempo os parâmetros de cor, atividade de água e pH;
- Avaliar sensorialmente os hambúrgueres formulados com coproduto de camu-camu pelo teste de aceitabilidade e intenção de compra.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Camu-camu

A grande biodiversidade frutífera existentes na região amazônica brasileira é rica em compostos bioativos, que apresentam importantes funções no organismo humano. (FIGUEIREDO, 2019).

O camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh, Myrtaceae), é uma fruta típica da amazônica, encontrada naturalmente nas margens dos rios, lagos e igapós, tanto nas águas escuras como nas águas claras. No Brasil, advém nos estados do Amapá, Maranhão, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins (YUYAMA, AGUIAR; YUYAMA, 2002; NASCIMENTO; CARVALHO, 2012). É um fruto rico em vitamina C, compostos fenólicos, constituintes responsáveis pela sua alta capacidade antioxidantes (BARRETO, et al., 2013). Embora o camu-camu seja uma importante fonte vitamina C (2780 mg de ácido ascórbico/100 g de polpa) e apresente um elevado potencial de exploração comercial, no entanto, o fruto é pouco conhecido pela população brasileira (SUGUINO; ARAÚJO; SIMÃO, 2001).

Figura 1 - Fruto de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh, Myrtaceae)



Fonte: Ana Tovazi (2018)

Chagas (2019) ao estudar a produção caracterização e aplicação de farinhas obtidas a partir de resíduo agroindustrial do processamento de camu-camu, constatou que todas as farinhas detinham concentrações significativas, de compostos fenólicos, carotenóides e vitamina C (ácido ascórbico + ácido dehidroascórbico), valores maiores ao relatado na literatura. Todas as farinhas estudadas pelo autor apresentaram um elevado potencial antioxidante.

Ação antioxidante do camu-camu também foi comprovada por Silva e Mourão (2022), relataram em seu estudo que extratos hidroalcoólicos e glicólicos obtidos de casca do fruto de *Myrciaria dubia*, apresentam capacidade antioxidante, os autores atribuíram essa propriedade ao alto teor de compostos bioativos como polifenóis e ácido ascórbico.

Ao analisarem o teor de antocianinas, ácido ascórbico, polifenóis totais e atividade antioxidante, na casca de camu-camu em diferentes estagios de maturação Villanueva-Tiburcio, Condezo-Hoyos e Asquieri (2010), relataram que o extrato da casca da amostra madura demonstrou as concentrações mais altas de ácido ascórbico e de antocianinas em relação a semimaduro e verde, com 21,95 mg.g⁻¹ de casca e 46,42 mg.L⁻¹ de cianidin-3-glucosídeo, respectivamente, mas o extrato da casca seca semimadura obteve o maior conteúdo de ácido ascórbico em relação a madura e verde (53,49 mg.g⁻¹) e de polifenóis totais: 7,70 mg Ác. Gálico/g. O extrato da casca seca da amostra semimaduro, revelou uma maior atividade antioxidante perante aos três radicais DPPH, ABTS⁺ e Peroxílo.

Estudando o efeito do pó da polpa de camu-camu sobre a glicemia e o perfil lipídico de adultos jovens, Vargas (2012) observou que cápsulas de camu-camu liofilizado foram mais eficientes, apresentando ação hipolipidêmica e hipoglicemiante nos voluntários estudados. Tais resultados demonstram o potencial benéfico da vitamina C e do camu-camu à saúde, apresentando o fruto como uma excelente fonte desta vitamina.

Ao avaliar o efeito antimicrobiano do camu-camu, Mori (2013), observou que o extrato hidroalcoólico das folhas e casca de *Myrciaria dubia* nas concentrações de 800 mg/ml, 700 mg/ml e 600 mg/ml, apresentam atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*. Gomez (2018) identificou que o extrato etanólico de *Myrciaria dubia* tem um efeito antimicrobiano in vitro sobre cepas de *Staphylococcus aureus* maior em relação ao antibiótico Oxacilina. Delgado e Heras (2022), ao estudarem atividade antibacteriana in vitro da polpa do camu camu (*myrciaria dubia*) em extrato etanol contra *Staphylococcus aureus*, comprovaram a eficácia do extrato contra o patógeno.

Guedes-Oliveira *et al.* (2018), ao estudarem o impacto dos extratos de casca e semente de camu-camu no processo de oxidação e estabilidade de cor de cordeiro moído, durante 9 dias de armazenamento a 4°C, mostram que os extratos tanto da casca quanto da semente exerceram um efeito protetor contra oxidação lipídica.

Silva *et al.* (2021) ao estudarem os feitos do Camu-Camu (*Myrciaria dubia*) em pó (CCP), sobre os parâmetros físico-químicos e cinéticos de microrganismos deterioradores e *Salmonella enterica Subsp. enterica Serovar Typhimurium* em carne bovina moída refrigerada embalada a vácuo, observaram que a inclusão de CCP diminui a oxidação lipídica da carne moída embalada a vácuo, e teve efeito no aspecto de cor, levando a uma diminuição da tonalidade vermelha na carne contendo CCP. Em relação à atividade antimicrobiana, o CCP não teve impacto sob *S. entérica*.

Azevêdo (2015) estudou as características bioativas, funcionais e efeito protetor do resíduo desidratado de camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. (McVaugh) sobre doenças degenerativas utilizando modelos in vivo *C. elegans*. Em seus resultados relacionado aplicação de dois processos de secagem, por convecção em secador de bandejas e por liofilização sobre o resíduo de camu-camu, nas condições estudadas, os grupos obtidos por convecção a 50°C e 4 m/ s (SC50) e 80°C e 6 m/ s (SC80) apresentaram melhor combinação de concentração de ácido ascórbico, capacidade redutora do Folin-Ciocalteu e carotenóides totais. O autor relatou maior concentração dos constituintes bioativos no grupo resíduo fresco, seguido do resíduo liofilizado e, por último, os resíduos desidratados por convecção, SC50 e SC80, respectivamente. Na segunda etapa, ao analisar atividades antioxidante, microbiológica e antienzimática, onde também relatou que foi observada a mesma tendência nos resultados. Além disso, foi identificado, pela primeira vez na literatura, a presença do ácido sirínico no resíduo do camu-camu. O estudo ainda revelou que extratos de camu-camu foram capazes de atenuar a indução dopaminérgica associada ao mal de Parkinson.

3.2. Oxidação Lipídica

A oxidação lipídica envolve uma série extremamente complexa de reações químicas que intercorre entre a interação do oxigênio atmosférico e os ácidos graxos insaturados dos lipídios. Os triacilgliceróis e os fosfolipídeos por apresentarem pouca volatilidade, não contribuem de forma direta para o aroma dos alimentos. Durante reações de oxidação de lipídeos, os ácidos graxos esterificados em triacilgliceróis e fosfolipídeos decompõem-se, formando moléculas pequenas e voláteis que produzem os aromas indesejados conhecidos como rancidez oxidativa. Os compostos voláteis formados são indesejáveis em relação a qualidade dos alimentos, no entanto para

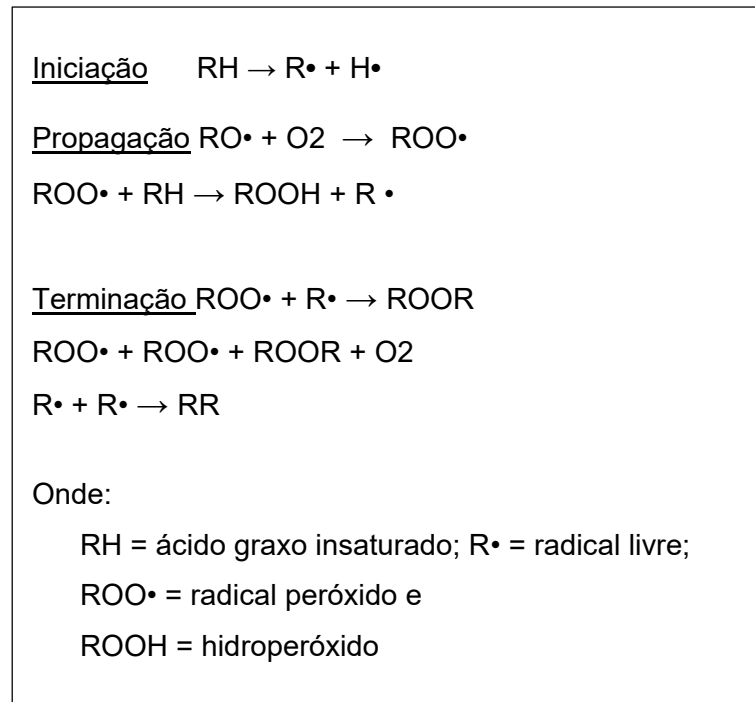
alguns produtos, como alimentos fritos, cereais desidratados e queijos, para os quais pequenas quantidades de produtos da oxidação de lipídeos constituem componentes positivos do sabor (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

A reação é acelerada pelo oxigênio, luz (principalmente ultravioleta), alta temperatura, metais (especialmente cobre, ferro, cobalto, manganês) enzimas (lipoxidase), metaloproteínas e presença de oxidantes naturais (GAVA, 2008).

A oxidação lipídica ocorre em três etapas: iniciação, propagação e terminação (Figura 1).

- Iniciação – Acontece a formação de um radical livre, como consequência da retirada de um átomo de hidrogênio de um grupo metileno de um ácido graxo insaturado. A reação de oxidação ocorre na presença do oxigênio e de uma certa energia inicial. Um radical peróxido é formado quando oxigênio é adicionado ao radical livre (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007).
- Propagação – Nessa etapa ocorre um alto consumo de oxigênio, alto teor de peróxidos e início da alteração de aroma e sabor. Os radicais peróxidos podem retirar um hidrogênio (H) de uma molécula de ácido graxo não oxidada. Os peróxidos formados podem participar das reações de decomposição e de formação de novos radicais livres. Os íons metálicos (Cu, Co, Fe, Mo), por serem pró-oxidantes, auxiliam a formação de radicais livres, decompondo os hidroperóxidos e aumentando os radicais livres (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007).
- Terminação – Ocorre com interação de dois radicais livres, para formar substâncias estáveis, finalizando a atuação como propagadores da reação. Nessa etapa acontece a diminuição do consumo de oxigênio e a redução de peróxidos. Nesta etapa o alimento apresenta alterações de aroma, sabor e consistência. (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007).

Figura 1 - Esquema oxidação de ácidos graxos



Fonte: Ramalho e Jorge, (2006).

3.3. Oxidação Lipídica em Produtos Cárneos

Para Pinheiro *et al.* (2009), a carne pode ser definida como o produto resultante das contínuas transformações que ocorrem no músculo após a morte do animal. Ela e os seus derivados, são fontes consideráveis de proteína, gordura, aminoácidos essenciais, minerais e vitaminas e outros nutrientes, sendo um alimento muito importante na dieta humana (RASPE, *et al.*, 2020).

O lipídeo presente nas carnes é um importante componente que confere a ela características desejáveis de suculência, sabor e aroma. No entanto, são facilmente oxidáveis, levando à formação de produtos tóxicos e indesejáveis (OLIVO, 2001).

A carne de frango contém um alto teor de ácidos graxos insaturados, por essa razão é um alimento muito susceptível a oxidação lipídica. Assim, a formação de óxidos de colesterol, as alterações na composição de ácidos graxos e a consequente formação de compostos voláteis provenientes da oxidação lipídica são fatores responsáveis pela perda de qualidade durante as etapas de processamento e o armazenamento da carne de frango e seus derivados (MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2009).

São considerados produtos e derivados cárneos os produtos alimentícios elaborados total ou parcialmente com carnes, miúdos ou gordura, e subprodutos comestíveis procedentes dos animais de abate ou outras espécies e, eventualmente, ingredientes de origem vegetal ou animal, como também condimentos, especiarias e aditivos autorizados (ORDÓÑEZ, 2005).

Dentre os produtos cárneos destaca-se o hambúrguer, que é um dos alimentos mais consumidos e difundidos em todo o mundo, seu consumo tem aumentado ao longo dos anos, em virtude de seu sabor, baixo custo e praticidade (PAULA, 2019).

O hambúrguer é definido pelo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ), do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), como 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, 2022).

Dessa forma, os hambúrgueres, são produtos cárneos provenientes de fragmentos da carne e por essa razão, são propensos a oxidação lipídica devido a elevada exposição ao oxigênio. (SANTOS, 2020).

Portanto, a oxidação lipídica, é uma das principais alterações que acometem as carnes e derivados, ocasionando a perda da qualidade, em razão da composição rica em lipídios e íons ferro, e dos procedimentos aplicados na formulação de seus produtos (GARCIA, et al., 2012).

A ação dos antioxidantes retarda a oxidação lipídica, prolongando a vida de prateleira dos produtos cárneos, tendo em vista que, esses agentes são compostos capazes de doar radicais de hidrogênio para parear com outros radicais livres disponíveis. (LEÃO, et al., 2017).

3.4. Antioxidantes

Os antioxidantes tem como objetivo prevenir a deterioração oxidativa dos alimentos e minimizar os danos oxidativos nos seres vivos. Para seu uso os antioxidantes devem atender os seguintes critérios: ser compatível com o substrato, não conferir odor ou sabor estranhos ao produto, ser efetivo durante o período de armazenamento do produto alimentício, ser estável ao processo de aquecimento e ser facilmente incorporado ao alimento (DEL RÉ; JORGE, 2012; MELO; GUERRA, 2002).

São classificados como antioxidante primário e antioxidante secundário. Os antioxidantes primários agem retardando ou inibindo a iniciação ou interrompendo a propagação da autooxidação. Atuam doando átomos de hidrogênio e cessando a reação em cadeia. São exemplos de antioxidante primário utilizados em alimentos são os compostos sintéticos, como exemplos o BHA (butil hidroxianisol), BHT (butilhidroxitolueno), PG (galato de propila) e TBHQ (terc-butil hidroquinona). Os tocoferóis presentes naturalmente em alguns alimentos também agem como antioxidantes primários e são comumente adicionados em alimentos, assim como, os carotenoides, no entanto seus mecanismos de ação é diferente. Os antioxidantes secundários reduzem a taxa de oxidação por diferentes formas. É capaz de quelar metais pró-oxidantes e desativá-los, repor hidrogênio para antioxidantes primários, decompor hidroperóxidos a espécies não radicais, desativar o oxigênio singlete, absorver radiação ultravioleta ou agir com sequestrante de oxigênio. O ácido cítrico, ácido ascórbico e ácido tartárico como bons exemplos de sinergistas (TIVERON, 2010; CARVALHO, 2020)

Antioxidante sintético

Os antioxidantes sintéticos, apresentam baixo custo e eficiente ação, por essa razão, são amplamente utilizados pelas indústrias de alimentos. Os antioxidantes fenólicos sintéticos aprovados para o uso em alimentos são hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), ao galato de propila e o di-*t*-butil-hidroquinona (TBHQ) (FREIRE, 2021; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

O BHA, é um antioxidante altamente solúvel em óleo e gordura e insolúvel em água, é muito eficiente em gordura animal e de pouca eficiência em óleos vegetais. Além disso, é particularmente efetivo no controle de oxidação de ácidos graxos de cadeia curta. É altamente eficiente em gorduras animais e óleos vegetais. Apresenta como desvantagem ser ligeiramente volátil podendo evaporar e se perdido parcialmente em processos como a desidratação e destilação. Para carnes o limite máximo permitido, é de 0,01 g para 100 g. Além disso, possui grande estabilidade térmica, porém, em temperaturas elevadas confere aos alimentos odor desagradável (FERNANDES, 2019; ORDÓÑEZ, 2007).

O BHT, apresenta o limite máximo permitido para carnes de 0,01 g para 100 g assim como o BHA. Com relação a estabilidade térmica, não é tão eficaz quanto o BHA, em temperaturas altas atribui um odor desagradável. É largamente aplicado em gordura animal por ser mais eficiente, no entanto, possui menor eficácia em óleos

vegetais. Embora esse antioxidante seja amplamente empregado e apresente propriedade semelhantes ao BHA, o BHT é menos efetivo, em decorrência da presença de dois grupos butil, os quais conferem maior impedimento estérico que o BHA, além de ser vaporizado mais facilmente durante aquecimento (OLIVEIRA, 2012; RIBEIRO, SERAVALLI, 2007; FERNANDES, 2019).

O PG, é um antioxidante mais solúvel em água do que em gorduras, possui pouca resistência ao calor não suportando tratamentos de cocção, acarreta a perda da sua eficiência. Em contato com íons metálicos como o ferro, forma compostos escuros, em óleos podem provocar efeitos adversos durante o armazenamento (ORDÓÑEZ, 2005; RIBEIRO e SERAVALLI, 2007).

O TBHQ, é o antioxidante primário mais eficaz para óleos vegetais, é resistente a altas temperaturas e possui menor volatilidade em relação ao BHA e BHT, em produtos assados apresenta efeito moderado em relação ao BHA, mas, possui alta eficiência em frituras (FERNANDES, 2019).

A volatilidade do BHA e BHT é benéfica em alimentos que contêm baixo conteúdo de gordura. Ao acrescentar pequenas quantidades do BHA ou do BHT ao produto antes do cozimento ou secagem provoca a dispersão pela volatilização, resultando na proteção do produto durante o processamento e o armazenamento. A estabilidade para esses produtos pode ser obtida também mediante a aplicação de altas concentrações do antioxidante na parede interna das embalagens. O antioxidante entra em contato com a porção gordurosa do produto mais eficientemente por volatilização (FERNANDES, 2019).

Antioxidante natural

No início dos anos 80 despertou-se o interesse pelos antioxidantes naturais para utilização em alimentos, surgiu com a finalidade de substituir os antioxidantes sintéticos, os quais tem sido apontado como potencialmente cancerígenos, e em função disso, seu uso restrito em diversos países. Dentre as substâncias naturais que tem sido estudada ao longo dos anos estão os extratos vegetais, concentrados de suco de frutas, extratos de sementes, entre outros (OLIVEIRA, 2012; SELANI, 2010).

O emprego de antioxidante naturais em produtos cárneos tem como objetivo torná-los mais seguros para o consumo e prolongar a vida útil dos mesmos através da inibição ou retardamento do processo de oxidação lipídica. Além disso, a aplicação de antioxidantes naturais em produtos cárneos tem como vantagem a aceitação

imediate pelo consumidor e sua utilização não é restringida pela legislação (SCAPIN, 2014; BORBA, et al., 2012).

Freitas *et al.* (2012), ao estudarem os extratos etanólicos da manga como antioxidantes para frangos de corte, identificaram que o extrato etanólico do caroço da manga (ECAR), na dosagem de 200 e 400 ppm, retarda a oxidação lipídica da carne de frangos e, entre os tratamentos avaliados, o ECAR a 400 ppm demonstrou ser o mais eficiente.

Carvalho (2020), em seu estudo sobre atividade antioxidante e antimicrobiana dos extratos de murici (*Byrsonima sp.*), pau-terra (*Qualea grandiflora*), mama cadela (*Brosimum gaudichaudii*) e pimenta de macaco (*Xylopia aromatica*) em almôndegas de carne de carne do peito de frango armazenadas sob refrigeração e congelamento, todos os extratos analisados apresentaram atividade antioxidante na proteção dos lipídios durante o tratamento térmico e o armazenamento, especialmente os extratos de murici e pau-terra que desempenharam ação superior ao antioxidante sintético nas condições de armazenamento estudadas pelos autores, além disso, todos os extratos utilizados demonstraram potencial antioxidante na proteção das proteínas durante o armazenamento refrigerado, principalmente os extratos de murici e pau-terra.

Freire (2021), apontou que o extrato de resíduo de acerola evidenciou eficiência como antioxidante no hambúrguer bovino durante o período estudado, sem interferir em outros parâmetros de qualidade (capacidade de retenção de água, cor, pH, redução do tamanho, perda de peso por cocção).

Kufner (2010), avaliou a atividade antioxidante do extrato aquoso de manjerona em linguiça frescal de frango, constatou que a adição do extrato foi satisfatória na redução da oxidação lipídica do produto cárneo estudado. Zago (2018), estudou a estabilidade oxidativa de linguiça tipo Toscana com extrato liofilizado de casca de romã (*Punica granatum L.*), comprovou que o extrato estudado tem efeito antioxidante e pode ser utilizado no retardamento da oxidação lipídica em linguiça tipo Toscana.

3.5. Deterioração microbiana em carnes e produtos cárneos

A atividade metabólica natural de alguns microrganismos, resulta em alterações desagradáveis nos aspectos gerais dos alimentos, esse processo é denominado de deterioração. Essa degradação é resultado da multiplicação indesejáveis de

microrganismos produtores de compostos voláteis durante o seu metabolismo os quais o olfato humano pode detectar. (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

A carne apresenta uma composição química que a torna um excelente meio de cultura, além disso, a mesma detém uma alta atividade de água e o pH é favorável para a maioria dos microrganismos (FRANCO; LANDGRAF, 2008). A carne moída possui uma grande superfície de contato, o que favorece o crescimento de bactérias aeróbias, que frequentemente causam deterioração em baixas temperaturas (JAY, 2005).

Os microrganismos lipolíticos podem ocasionar a lipólise, por meio da ação das lipases como também acelerar a oxidação da gordura presente na carne por meio das oxidases. As *pseudomonas* e outros Gram-positivos, *Bacillus*, leveduras e bolores são os principais microrganismos lipolíticos causadores da deterioração de gorduras na carne e tem também atuação na degradação oxidativa de ácidos graxos. (FRANCO ;LANDGRAF, 2008).

3.6. Microrganismos patogênicos associados em produtos cárneos

As carnes e os produtos cárneos são frequentemente associados aos casos doenças veiculadas por alimentos. Dentre os produtos cárneos, os hambúrgueres são considerados alimentos que requerem atenção, tendo em vista, que o consumo do mesmo tem aumentado expressivamente, são fabricados com matéria-prima que pode apresentar contaminação microbiana e seu processo produtivo pode propiciar contaminação patogênica devido a falhas nas boas práticas de fabricação (CASARIN, 2005).

Os principais microrganismos patogênicos nas carnes são as *Salmonella spp.*, os Clostrídios sulfito redutores e o *Staphylococcus aureus*. As *Salmonella* pertencem à família *Enterobacteriaceae*, são bacilos Gram-negativos não produtoras de esporos, anaeróbias facultativas que estão presentes no trato intestinal do homem e dos animais, principalmente aves e suínos. O consumo de alimentos contaminados por *Salmonella*, provoca doenças como febre tifoide, febre entérica e salmoneloses. Doenças de origem alimentar com maior ocorrência e potencialmente fatal (KOBELITZ, 2011; FRANCO e LANDGRAF, 2008).

Os patógenos *Clostridium botulinum* e *C. perfringens* são as espécies causadoras de toxinfecções alimentares, anaeróbio estritos, produtores de toxinas e

esporogênicos. *Staphylococcus aureus*, são cocos Gram-positivos pertencem à família *Micrococcaceae*, é uma bactéria anaeróbia facultativa e não formadora de esporos. *S. aureus* provoca intoxicação alimentar quando ocorre a ingestão de alimentos contendo a sua toxina pré-formada. O microrganismo tem como habitat natural a cavidade nasal, dessa forma, a contaminação do alimento ocorre principalmente por falhas da higiene pessoal durante a manipulação (KOBLITZ, 2011; FRANCO e LANDGRAF, 2008; GAVA, 2008).

A *Escherichia coli* é um microrganismo gram-negativo, anaeróbico facultativo que constituiu a microbiota de animais de sangue quente, dessa forma, sua presença em alimentos denota uma contaminação de origem fecal, condição higiênica insatisfatória (FRANCO; LANDGRAF, 2008). *Escherichia coli* é uma das principais bactérias causadoras de enteroinfecções em crianças e adultos e, nas últimas décadas (MERENGUE, 2022).

A RDC 724/2022 e IN 161/2022 da Anvisa, estabelece padrões de qualidade microbiológicos para Produtos cárneos crus à base de carne moída ou picada de aves, temperados ou não, embutidos ou não, refrigerados ou congelados (hambúrgueres, almôndegas, empanados crus de rotisseria, linguças frescas), sendo atualmente exigidas análises para *Salmonella*, *Escherichia coli* e Aeróbios mesófilos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O coproduto do camu-camu foi doado pela empresa Doce frutas localizada no município de São Pedro do Turvo, no estado de São Paulo. O coproduto do fruto foi ensacado, congelado, transportado em caixa térmica e encaminhado para o laboratório LIM-DCTA, CCA / UEL (Universidade Estadual de Londrina) mantido congelado em um freezer convencional a - 20°C.

4.1. Obtenção do resíduo de camu-camu desidratado

O coproduto foi descongelado e fracionado, congelado em um ultrafreezer -80°C (Sanyo MDF-U56VC) por 24 horas do laboratório DCTA, posteriormente liofilizado por 120 horas em um liofilizado equipamento Christ Alpha 2-4 LD plus, as amostras desidratadas, foram trituradas em moinho de facas (IKA A11), acondicionadas em frascos âmbar de 1L devidamente identificado e submetidos ao

congelamento - 20°C em um freezer convencional até a realização das análises, bem como sua utilização nos tratamentos experimentais (formulações de hambúrguer).

4.2. Análise de compostos bioativos

4.2.1. Determinação de compostos bioativos

Foi realizada análise de identificação e quantificação para os compostos bioativos ácido ascórbico, ácido gálico e quercetina, a extração foi realizada de acordo com o procedimento descrito por Percio (2021). Foram pesados 100 mg de amostra, e adicionados 1,5 mL do solvente de extração (metanol acidificado 10%) e agitado por 2 minutos e por mais 10 minutos em ultrassom, Ultra Cleaner 800. (UNIQUE). Após esta etapa, a amostra foi centrifugada por 5 minutos a 9056 g. Em seguida, diluiu-se 150 µL do sobrenadante em 850 µL de diluente (água: ácido fórmico e metanol, 80:10:10), sendo filtrado em membrana de PVDF (0.22 µm Millipore, Cork, Ireland).

Reagentes e Padrões Analíticos

Os reagentes e padrões analíticos utilizados foram de alta pureza seguindo as características exigidas para a aplicação da técnica de espectrometria de massas. Metanol grau LC-MS (JT Baker, Phillipsburg, EUA) e ácido fórmico 98-100% grau HPLC (Merck, Kenilworth, EUA). Todos os padrões utilizados eram de grau analítico (Sigma Aldrich, ST Louis, EUA).

Sistema Cromatográfico

O equipamento utilizado consistiu em um sistema de cromatografia líquida de ultra alta performance I-Class (Acquity UPLC, Waters, Milford, EUA), composto por um gerenciador de solvente binário (BSM), sistema de injeção automática de amostra e matriz de fotodiodos detector (PDA). O volume de injeção da amostra foi de 10,0 µL em loop parcial com modo de enchimento de agulha com solvente de lavagem fraco (WW) e forte (SW) composto de água e metanol, respectivamente. A coluna utilizada consistiu em uma BEH C18 2,1 x 100 mm 1,8 µm. Para a detecção dos analitos no detector PDA e TQD, o comprimento de onda foi mantido em 270 e 320 nm e as condições de trabalho foram ajustadas para cada composto, respectivamente.

Método cromatográfico

O método cromatográfico utilizou as fases móveis água (A) e metanol (B) ambas com adição de ácido fórmico 0,1% (v/v) em modo gradiente (Tabela1).

Tabela 1 - Gradiente cromatográfico composto por (A) água acidificada com 0,1% ácido fórmico (v/v) e (B) metanol acidificada com 0,1% ácido fórmico (v/v).

Tempo (min)	Vazão (mL/min)	%A	%B	Gradiente da curva
0,00	0,300	95,0	5,0	0,7
10,00	0,300	5,0	95,0	0,7
12,00	0,300	5,0	95,0	0,7
12,10	0,300	95,0	5,0	0,7
15,00	0,300	95,0	5,0	0,7

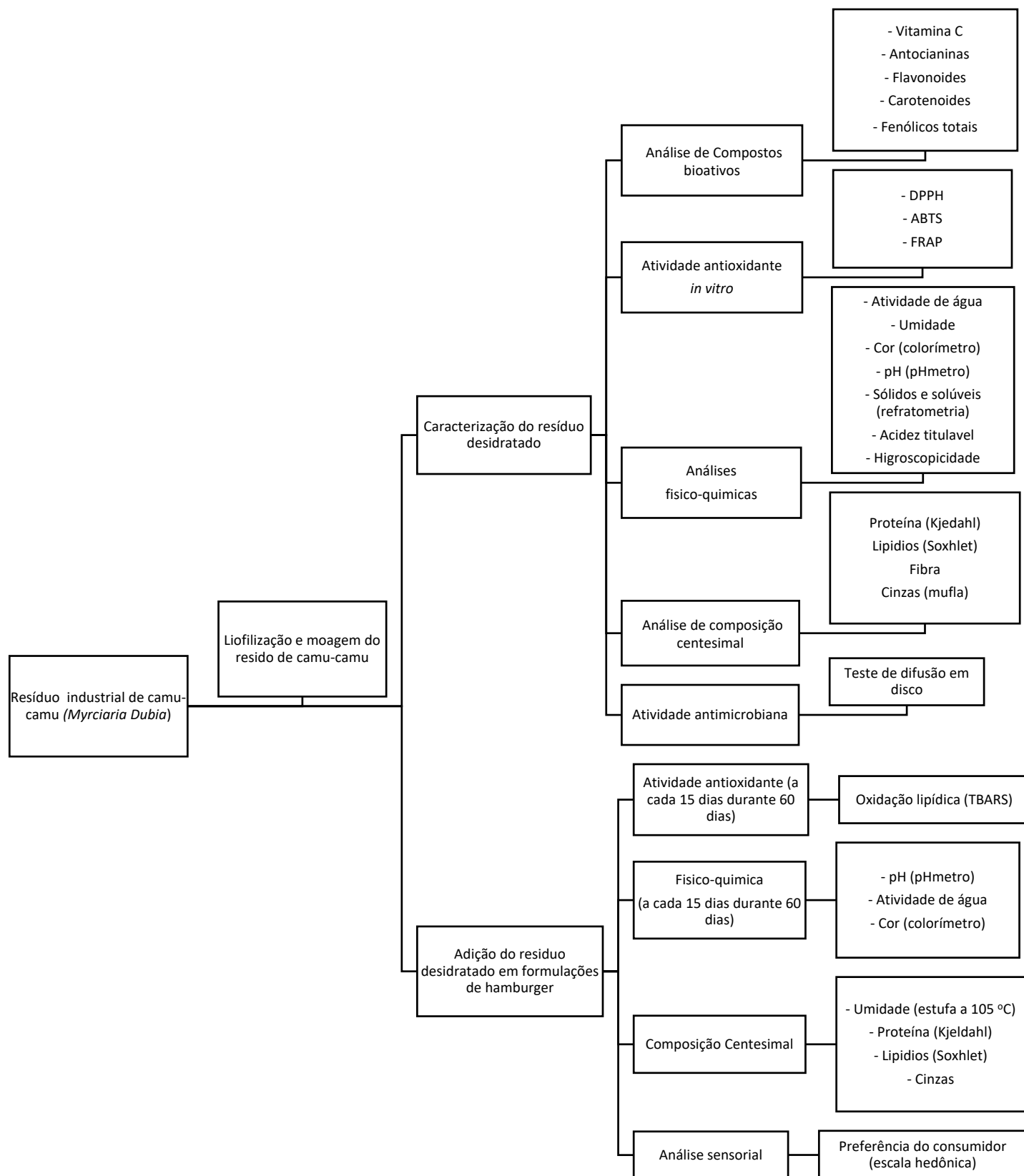
4.2.2 Antocianinas e flavonoides totais

A determinação de antocianinas total foi realizada conforme os procedimentos descritos por Francis (1982). Inicialmente foi pesado 1 g do coproduto desidratado em um béquer, em seguida foram adicionados 30 mL de solução de extração de etanol 95% e HCl 1,5 M (85:15) e homogeneizado por 2 minutos á 5000 rpm em um homogeneizador rotativo TE-102. O extrato foi transferido para um balão volumétrico de 50 mL envolto de papel alumínio e o volume foi completado com a solução de extração. Os extratos foram mantidos sob refrigeração por 12 h. Após esse período os extratos foram filtrados e efetuada a leitura da absorbância em um espectrofotômetro UV/Vis (Libra S22, Biochrom, England) de onda de 535 nm. Para flavonoides, foi realizado o mesmo procedimento, no entanto, absorbância foi medida no comprimento de onda de 374 nm.

4.2.3 Carotenoides Totais

A análise de carotenóides totais foi realizada de acordo com o método de Lichtenthaler e Buschmann (2001). Foi pesado 2 g da amostra em béquer e em seguida adicionados 18 mL de acetona pura. A mistura foi filtrada na ausência de luz. A leitura do sobrenadante foi realizada em espectrofotômetro UV/Vis (Libra S22, Biochrom, England), a 661 nm, 644 nm e 470 nm para o cálculo dos carotenóides. A quantidade de carotenóides foi expressa em µg/mL

Figura 2. Fluxograma geral do experimento



4.3 Análises de atividade antioxidante

4.3.1 Conteúdo fenólico total (CFT)

Para a determinação de compostos fenólicos totais foi preparado extrato aquoso conforme os procedimentos descritos por Rufino et al., (2010) e adaptado por Azevedo (2015). Foi pesado 0,5 g das amostras desidratadas posteriormente foi adicionado a 25 mL de água destilada e mantido durante 30 min sob agitação. Logo após foi realizada a filtração utilizando papel Whatman número 1 e o material retido foi submetido à extração semelhante com 25 mL de água. Os 50 mL de filtrados foram homogeneizados, centrifugados a 10°C e 3500 rpm, por 10 minutos. Na etapa final acondicionados em recipiente protegido da luz, devidamente identificados e refrigerados para posterior análise.

Uma alíquota de 500 µL de amostra foi colocada em tubo de ensaio, em seguida adicionado 500 µL de folin 0,9 N e 500 µL e homogeneizado em seguida adicionado 500 µL de carbonato de sódio 10%, posteriormente foi realizada novamente a agitação dos tubos, os quais foram deixados em repouso por 1 hora. Após o termino foi realizada a leitura da absorbância no comprimento de onda de 760 nm em um espectrofotômetro UV/Vis (Libra S22, Biochrom, England).

4.3.2 Atividade antioxidante pela capacidade de sequestro do radical DPPH

Foi efetuado de acordo com a metodologia descrita por Rufino *et al.*, (2007b). Sendo transferido alíquota de 0,1 mL do extrato para tubos de ensaio com 3,9 mL do radical DPPH 06mM e homogeneizada em um agitador de tubos. Posteriormente foram efetuadas as leituras (515 nm) através de um espectrofotômetro UV/Vis (Libra S22, Biochrom, England), sendo monitoradas a cada minuto, onde é observada a redução da absorbância até sua estabilização.

4.3.3 Atividade antioxidante pela capacidade de sequestro do radical ABTS

O ensaio ABTS foi realizado seguindo a metodologia descrita por Rufino *et al.* (2007a). Em um ambiente escuro foi transferida uma alíquota de 30 µL de do extrato, para tubos de ensaio e adicionados 3,0 mL da solução de radical ABTS. As absorbâncias foram medidas a 734 nm após 6 minutos de reação, em um

espectrofotômetro UV/Vis (Libra S22, Biochrom, England), utilizando-se o etanol como branco.

4.3.4 Atividade antioxidante pela capacidade de redução do Íon ferro (FRAP)

A atividade antioxidante, foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Rufino et al. (2006). Alíquotas 90 µL de diluições do extrato foram adicionadas em tubos de ensaio com 270 µL de água destilada e com 2,7 mL do reagente FRAP. Com o auxílio de um agitador de tubos do tipo Vortex, as soluções foram homogeneizadas e mantidas à 37°C em Banho maria, por 30 minutos. Após este período, a absorbância das soluções foram medidas em um espectrofotômetro UV/Vis (Libra S22, Biochrom, England) à 593 nm.

4.4 Atividade antimicrobiana

A avaliação da atividade antimicrobiana do coproduto de camu-camu liofilizado foi realizada através do teste de difusão em ágar, de acordo com as recomendações do CLSI (2009). Foram utilizadas cepas de *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076), *Escherichia coli* (ATCC 25922), e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), previamente isoladas e identificadas.

O extrato foi preparado seguindo o método descrito por Bona et al (2012), foi pesado 2 g do coproduto de camu-camu desidratado e adicionado 10 mL de álcool etílico e colocado sob agitação por 24 h, posteriormente o solvente foi evaporado em um rota evaporador a 40°C. O extrato concentrado foi resuspenso em 10 mL de água destilada estéril, em seguida, filtrado em membrana filtrante com porosidade de 0,45 µm. Foi realizado o teste de difusão em ágar Mueller-Hinton, as cepas bacterianas com turbidez padrão de 0,5 da escala de McFarland, foram transferidas para o meio com o auxílio de um swab estéril, sendo realizado o estriamento, nos poços foram adicionados 200 µL do extrato, no controle positivo 20 µL do complexo antibiótico (Penicilina estreptomicina) e no controle negativo 20 µL (água destilada estéril), as placas foram incubadas a 35°C por 24 horas em estufa bacteriológica. O diâmetro do halo de inibição foi medido através de paquímetro.

4.5 Análises físico químicas

Foram realizadas análises físico-química em triplicata no coproduto liofilizado para os parâmetros de atividade de água (A_w), umidade, cor, pH, sólidos solúveis totais, acidez titulável e higroscopicidade.

4.5.1 Atividade de água (A_w)

A atividade de água foi determinada utilizando um determinador de atividade de água, da marca AQUA LAB, a amostra foi colocada em cápsulas plástica apropriadas para a realização da leitura.

4.5.2 Cor instrumental

A cor foi determinada através do colorímetro Minolta CR 400 com iluminante D65 e ângulo de visão de 10° , os valores de cor foram expressos de acordo com o sistema de coordenadas CIELAB, e as variáveis L^* (luminosidade), a^* (componente vermelho-verde) e b^* (componente amarelo-azul).

4.5.3 Potencial hidrogeniônico (pH)

Foi empregada a técnica potenciométrica através do pHmetro digital devidamente calibrado. Em uma balança analítica foi pesado 10 g da amostra, logo após, foi diluído em 100 mL de água destilada mantidas sob agitação em um agitador magnético por 30 minutos. Posteriormente as dispersões foram mantidas em repouso por 10 minutos. O pH foi determinado através do pHmetro devidamente calibrado com as soluções tampões 7 e 4.

4.5.4 Sólidos solúveis totais

Foi determinado utilizando um refratômetro portátil, previamente calibrado com água destilada. Para isso, foi pesado 1,0 g da amostra diluída em 10,0 mL de água destilada, o resultado obtido de sólidos solúveis totais foi expresso em $^\circ\text{Brix}$,

4.5.5 Acidez Total Titulável (ATT)

A acidez Total Titulável, foi determinada por titulação potenciométrica, utilizando pHmetro devidamente calibrado com as soluções tampões 7 e 4, titulada

com a solução de hidróxido de sódio 1 M até a faixa de pH (8,2- 8,4). O resultado foi expresso em porcentagem de ácido cítrico (g/100 g).

4.5.6 Higroscopicidade

Higroscopicidade foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Cai e Corke, (2000). Primeiramente foi pesado 1 g das amostras do coproduto liofilizado espalhado uniformemente sob placa de petri em seguida a amostra foi armazenada em dessecadores contendo solução saturada de NaCl (75%) e mantidos a 25°C por 7 dias. Após esse período, a massa da amostra foi pesada utilizando uma balança analítica e a higroscopicidade será calculada como g de água absorvida/100 g de matéria seca.

$$\% \text{ Higroscopicidade} = \frac{\text{Peso amostra final} - \text{Peso amostra inicial}}{\text{Peso amostra inicial}}$$

Tabela 2. Classificação de pós com base na sua higroscopicidade

Higroscopicidade	
Não Higroscópico	<10%
Ligeiramente Higroscópico	10,1 – 15%
Higroscópico	15,1 – 20%
Muito Higroscópico	20,1 – 25%
Extremamente higroscópico	> 25%

Fonte: GEA Niro Research Laboratory (2010).

4.6 Composição Química

A composição química do coproduto liofilizado foi determinada conforme os procedimentos da A.O.A.C (2000). A análise para proteínas foi realizada pelo método de Kjeldahl, adotando-se o fator 6,25 para conversão do nitrogênio. A determinação lipídeos realizado pela extração de gordura em Soxhlet utilizando o éter de petróleo como solvente e análise de fibras. O conteúdo de cinzas por incineração em mufla

(550°C). O conteúdo de carboidratos totais obtido pela diferença dos demais componentes analisados.

4.7 Formulação dos Hambúrgueres

Foram elaboradas 5 formulações de hambúrgueres de frango, sendo: T1 (Controle negativo) - sem adição de antioxidante; T2 (controle positivo) - com adição do antioxidante comercial eritorbato de sódio; T3 com adição de 0,5% do coproduto de camu-camu liofilizado; T4 com adição de 0,75% do coproduto de camu-camu liofilizado e T5 com adição de 1,0% do coproduto de camu-camu liofilizado, conforme descrito na (Tabela 3). A matéria-prima utilizada foi a coxa e sobrecoxa de frango e a fonte de gordura foi a pele de frango.

Para elaboração dos hambúrgueres seguiu-se o fluxograma apresentado na Figura 3, primeiramente foi realizada a desinfecção dos equipamentos e utensílios utilizados na preparação com solução clorada (10 mL de cloro ativo a 2,5% misturado com 1L de água destilada) e álcool a 70%. Então, a carne e a pele de frango foram moídas em um cutter e então divididas em cinco partes de acordo com os tratamentos. Os demais ingredientes foram pesados de acordo com os tratamentos (tabela 1) e adicionados e homogeneizados em misturadeira e, em seguida, as porções foram modeladas com o auxílio de uma forma. Todas as amostras foram colocadas em bandejas de poliestireno (Figura 4) e embaladas em filmes plásticos de PVC (policloreto de vinila) e armazenadas a uma temperatura de -18 °C em um freezer comercial.

Figura 3. Fluxograma de produção de hambúrguer de frango.

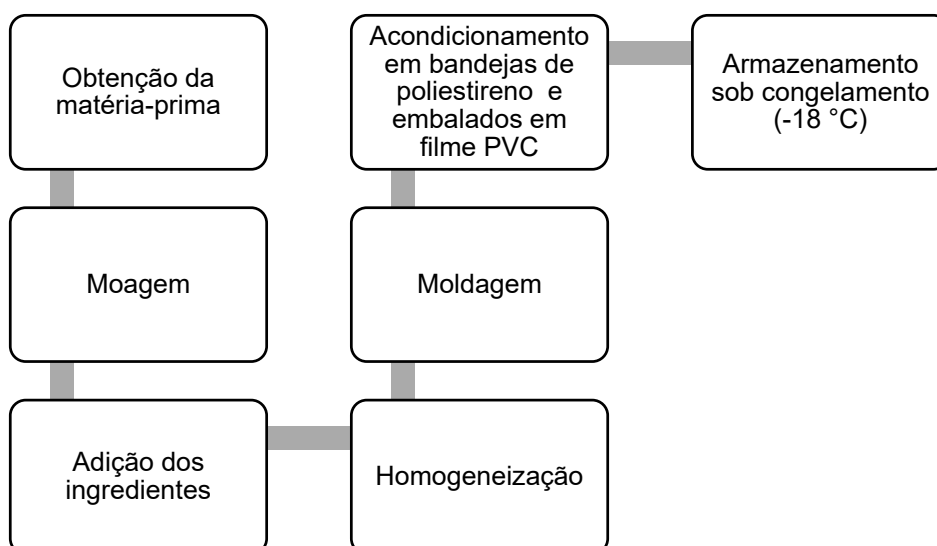


Tabela 3: Formulações de hambúrgueres de frango: T1 Controle - sem adição de antioxidante; T2 com adição do antioxidante sintético eritorbato de sódio; T3 com adição de 0,5% do coproduto de camu-camu liofilizado 0,50; T4 com adição de 0,75% do coproduto de camu-camu liofilizado e T5 com adição de 1,0% do coproduto de camu-camu liofilizado

	T1	T2	T3	T4	T5
Ingredientes (%)	Controle	Antioxidante sintético	Camu-camu	Camu-camu	Camu-camu
Coxa e sobrecoxa	65,49	65,24	64,99	64,74	64,49
Gordura animal	18	18	18	18	18
Proteína isolada de soja	4	4	4	4	4
Água	10,25	10,25	10,25	10,25	10,25
Sal	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7
Camu-camu liofilizado	0	0	0,50	0,75	1,00
Eritorbato de sódio	0	0,25	0,00	0,00	0,00
Alho em pó	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Cebola em pó	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11
Pimenta branca em pó	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

Fonte: Autor, 2023.

As amostras foram descongeladas sob refrigeração a 4°C, durante aproximadamente 12 horas, antes das análises nos tempos 0, 15, 30, 45 e 60 dias.

4.8 Composição química

As análises foram realizadas de acordo com a metodologia da A.O.A.C (2000). A umidade foi determinada pelo método gravimétrico em secagem em estufa a 105 °C até o peso constante. O teor de lipídios foi obtido por Soxhlet e o conteúdo de proteína determinado pela concentração de nitrogênio, utilizando-se o método Kjeldahl, empregando-se o fator de 6,25 para a conversão de nitrogênio total em proteína. Para análise de cinzas foi empregada a mufla a 550°C, os carboidratos foram calculados por diferença dos demais componentes analisados.

4.9 Análise de estabilidade nas formulações de hambúrguer

4.9.1 Determinação da formação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

O procedimento foi realizado seguindo a metodologia descrita por Tarladgis, Pearson e Dugan (1964). Inicialmente foi pesado 10 g de cada amostra em tubo de falcon, posteriormente com auxílio de uma proveta foi adicionado 15mL da solução de Ácido Tricloroacético (TCA) a 7,5%, homogeneizada com o auxílio de um agitador mecânico por 1 minuto. Foi realizada a centrifugação a 6000 rpm a 20 °C por 10 minutos e realizada a filtração em papel de filtro, um volume de 5mL foi transferido para tubos de ensaios rosqueados previamente identificados, 5mL de solução de Ácido Tiobarbitúrico (TBA) foi adicionado e vigorosamente e agitado, os tubos foram colocados sob aquecimento em banho-maria a 100 °C por 35 minutos e resfriados em água corrente, posteriormente foi efetuada a leitura da absorbância em espectrofotômetro (Libra S22, Biochrom, England) a 532 nm.

4.9.2 Análises físico-químicas formulações

4.9.2.1 Potencial hidrogeniônico (pH)

O pH foi determinado utilizando o potenciômetro Texto 205 com inserção do eletrodo diretamente no hambúrguer.

4.9.2.2 Cor

A cor foi determinada através do colorímetro Minolta CR 400 com iluminante D65 e ângulo de visão de 10°, os valores de cor foram expressos de acordo com o sistema de coordenadas CIELAB, e as variáveis L* (luminosidade), a* (componente vermelho-verde) e b* (componente amarelo-azul).

4.9.2.3 Atividade de água

A atividade da água foi determinada utilizando o aparelho analisador de atividade de água AQUALAB 4TE.

4.9.2.4 Análise de Textura

A análise de perfil de textura (TPA) foi realizada em um texturometro universal (TATX-2i), com probe cilíndrico (P35) de acordo com os procedimentos descrito por Bourne (1978), altura de 50 mm, velocidade de pré-teste de 5,0 cm min⁻¹, velocidade de teste de 20,0 cm min⁻¹, velocidade de pós-teste de 10 cm min⁻¹, distância de 0,70 cm e força de 0,98 N. Os hambúrgueres foram cozidos em chapa elétrica até atingirem a temperatura interna de 72°C e então cortados em cubos de 1 cm³. Os parâmetros analisados foram: dureza (N), coesividade, mastigabilidade e resiliência.

4.10 Análise sensorial

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de ética em pesquisa envolvendo seres humanos da Universidade Estadual de Londrina (CAAE: 75681123.4.0000.5231). A análise sensorial foi realizada com 100 avaliadores adultos não treinados que foram recrutados aleatoriamente na Universidade Estadual de Londrina. As avaliações dos hambúrgueres foram realizadas em cabines individuais iluminadas por luz branca, inicialmente, os participantes receberam uma amostra de hambúrguer (20g) previamente cozido em chapa elétrica (temperatura interna de 72°C) receberão as amostras em pratos descartáveis brancos, codificados com números de três dígitos, em ordem aleatória, acompanhado de um copo de água a temperatura ambiente para enxaguar a boca e biscoito tipo água e sal para ser consumido entre as amostras. Em seguida, os consumidores foram solicitados a avaliar a aceitação por meio de uma escala hedônica de 9 pontos (1 = desgostei muitíssimo; 9 = gostei muitíssimo), considerando aparência, aroma, sabor, textura e impressão global. Após, os avaliadores avaliaram a intenção de compra (1 = certamente não compraria o produto; 5 = certamente compraria o produto).

4.11 Análise Estatística

Todas as análises efetuadas foram realizadas em triplicata, os dados obtidos referentes a caracterização do coproduto foram expressos em média e desvio padrão. Os resultados pertencentes a caracterização das formulações, estabilidade e análise

sensorial foram submetidos a análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste Tukey ao nível de 5% de significância utilizando o programa STATISTICA 7.

5 Resultados e Discussão

Os resultados foram redigidos no formato de artigo científico, a ser submetido para publicação no periódico *Journal of Food Science and Technology*.

ARTIGO CIENTÍFICO

POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO COPRODUTO DE CAMU-CAMU (*Myrciaria dúbia* (H.B.K) McVaugh) EM HAMBÚRGUER DE FRANGO E ACEITAÇÃO SENSORIAL

Resumo: Esse trabalho teve como objetivo avaliar o potencial antioxidante do coproduto de camu-camu em hambúrguer de carne de frango durante o armazenamento sob congelamento. Foram elaboradas 5 formulações de hambúrgueres de frango sendo: T1 (sem adição de antioxidante); T2 (com adição do antioxidante comercial eritorbato de sódio) e T3, T4 e T5 com adição de 0,5%, 0,75% e 1,0% do coproduto de camu-camu liofilizado, respectivamente. O coproduto de camu-camu liofilizado apresentou alto conteúdo de ácido ascórbico, compostos fenólicos, alta atividade antioxidante pelos métodos ABTS, DPPH EC 50 e FRAP, baixo valor de pH (2,88) e também revelou ação inibitória frente as três cepas patogênicas testadas. Os hambúrgueres elaborados com adição de camu-camu (T3, T4 e T5) apresentaram-se com pH mais baixo, mais escuros, com maiores valores de a^* e menores valores de b^* e com maior dureza e mastigabilidade que os hambúrgueres T1 e T2. A adição de camu-camu nos hambúrgueres (T3, T4, T5) promoveu estabilidade oxidativa semelhante ao antioxidante sintético (T2). A aceitação e intenção de compra para os hambúrgueres T3 e T4 foram menores quando comparados ao T2. O camu-camu apresentou potencial para utilização como antioxidante natural em hambúrgueres de frango.

Palavras chaves: Antioxidante natural. oxidação lipídica. TBARS. escala hedônica. compostos bioativos.

INTRODUÇÃO

O hambúrguer é um produto cárneo processado de elevado consumo devido a conveniência e praticidade em seu preparo (RIBEIRO *et al.*, 2019). O hambúrguer devido ao alto conteúdo lipídico e a constituição da carne para sua produção é altamente suscetível a sofrer oxidação lipídica (REAL *et al.*, 2019). Os processos oxidativos não só comprometem a aceitação sensorial dos produtos cárneos como

também podem afetar a segurança com produção de radicais livres e produtos tóxicos como malonaldeído e óxidos de colesterol que são prejudiciais à saúde do consumidor (UTRERA; ESTÉVEZ, 2013; PARK et al., 2012).

Para manutenção da qualidade e vida útil dos produtos cárneos são utilizados os antioxidantes que têm a capacidade de retardar ou inibir a oxidação de alimentos (OSWELL et al, 2018), dentre os principais antioxidantes utilizados na indústria cárnea estão o BHA e BHT e eritorbato de sódio. A segurança dos antioxidantes sintéticos, têm sido questionada devido seus possíveis efeitos tóxicos e carcinogênicos para a saúde humana durante a ingestão a longo prazo (ABEYRATHNE et al., 2018; ZEHIROGLU e SARIKAYA, 2019; SOUZA et al., 2019). Nesse sentido, os antioxidantes naturais, derivados de fontes vegetais, surgem como uma alternativa promissora, oferecendo benefícios antioxidantes sem os potenciais riscos associados aos aditivos sintéticos (OSWELL, 2018).

O camu camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh, *Myrtaceae*) é um fruto da região amazônica, é reconhecido principalmente por sua alta concentração de ácido ascórbico, que pode chegar de até 3000 mg/100g, por essa razão, é considerado como uma das espécies de maior potencial econômico da região amazônica. No processamento do fruto para obtenção de polpa fruta é gerado resíduo constituído de tegumento, semente e polpa residual, o que corresponde a proximamente 40% do fruto, sendo atualmente descartado. Este resíduo ainda apresenta elevado teor de compostos bioativos, cuja utilização evitaria o descarte no ambiente (SOLIS 2009; LOURENÇO, 2021), promovendo melhor aproveitamento e diminuição de poluição ambiental.

Com isso, o presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial antioxidante do coproduto de camu-camu liofilizado adicionado em hambúrguer de carne de frango durante o armazenamento sob congelamento.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

O coproduto do camu-camu foi doado por uma empresa comercial processadora de frutas do estado de São Paulo. O coproduto foi congelado em um freezer e posteriormente desidratado por liofilização por 120 horas.

Caracterização física e composição do coproduto de camu-camu

A atividade de água foi determinada através do ponto de orvalho utilizando AQUA LAB. A cor instrumental foi determinada utilizando colorímetro Minolta CR 400 com iluminante D65 e ângulo de visão de 10° e os valores de cor foram expressos de acordo com o sistema de coordenadas CIELAB, e as variáveis L* (luminosidade), a* (componente vermelho-verde) e b* (componente amarelo-azul).

O pH foi quantificado empregando um pontecímetro previamente calibrado em solução tampão. O teor de sólidos solúveis totais foi determinado utilizando um refratômetro na amostra diluída (1,0g em 10mL de água) e o resultados expresso em °Brix.

A acidez total titulável foi determinado por titulometria com hidróxido de sódio e o resultado foi expresso em porcentagem de ácido cítrico (g/100 g).

A higroscopicidade foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Cai e Corke, (2000).

Composição química do coproduto de camu-camu

Foram realizadas análises em triplicata no coproduto de camu-camu liofilizado para umidade, proteína, lipídios, cinzas e fibras, efetuadas de acordo com os procedimentos descritos pela A.O.A.C (2000).

Determinação de compostos bioativos e atividade antioxidante

Os compostos bioativos (ácido ascórbico, ácido gálico e quercetina) foram determinados de acordo com o procedimento de extração descrito por Percio (2021), análise realizada em cromatógrafo líquido de ultra alta eficiência (UHPLC) (Acquity UPLC I Class Waters©) com coluna BEH C18 2,1 x 100 mm 1,8 µm (mantida a 40°C) e detector de arranjo de diodo.

Os compostos fenólicos totais foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu e realizada de acordo com a metodologia descrita por Kumazawa, Hamasaka e Nakayama (2004) com modificações, utilizando ácido gálico como padrão e os resultados foram expressos em mg de EAG. g⁻¹ de extrato.

A determinação de antocianinas e flavonóides total foi por espectrofotometria conforme procedimento descritos por Francis (1982). Os carotenóides totais foram

determinados por espectrofotometria de acordo com o método de Lichtenthaler e Buschmann (2001).

A atividade antioxidante foi determinada foi avaliada pelos métodos de ABTS, DPPH, redução do ferro (FRAP) e capacidade redutora por Folin. O ABTS foi realizado seguindo o método proposto Rufino et al. (2007a). Para determinação do sequestro do radical DPPH foi empregado o método descrito por Brand-Willians, Cuvelier e Berset, (1995) e modificado por Rufino et al. (2007b) e os resultados foram expressos em EC₅₀ como g de extrato por g de DPPH. A redução do ferro foi avaliada conforme metodologia descrita por Rufino et al. (2006) e os resultados foram expressos em mM de Trolox. g⁻¹ de extrato.

Atividade antimicrobiana

A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada através do teste de difusão em ágar, de acordo as recomendações do CLSI (2009), para três cepas patogênicas de *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

Elaboração de Hambúrgueres de frango

Foram elaboradas 5 formulações de hambúrgueres de frango, sendo: T1 (Controle - sem adição de antioxidante; T2 - com adição do antioxidante comercial eritorbato de sódio; T3 com adição de 0,5% do coproduto de camu-camu liofilizado 0,50; T4 com adição de 0,75% do coproduto de camu-camu liofilizado e T5 com adição de 1,0% do coproduto de camu-camu liofilizado, conforme descrito na Tabela 1. A matéria-prima utilizada foi a coxa e sobrecoxa de frango e a fonte de gordura foi a pele de frango. Foram elaborados hambúrgueres de 90 g que foram embalados em bandejas de poliestireno cobertas com filmes plásticos de PVC (policloreto de vinila) e armazenadas a uma temperatura de -18 °C em um freezer.

Composição química aproximada

As análises foram realizadas seguindo os procedimentos descritos da A.O.A.C (2000). A umidade foi determinada pelo método gravimétrico em estufa a 105 °C até o peso constante. O teor de lipídios por Soxhlet após hidrólise ácida, o conteúdo de proteína determinado pela concentração de nitrogênio, utilizando-se o método Kjeldahl, empregando-se o fator de 6,25 para a conversão de nitrogênio total em

proteína. Para análise de cinzas foi empregada mufla a 550°C, os carboidratos foram determinados por diferença dos demais componentes analisados.

Análise de pH e cor dos hambúrgueres

As análises de pH e cor dos hambúrgueres foram realizadas nos tempos de 0, 15, 30, 45 e 60 dias de armazenamento a -18°C. Após 12 horas de descongelamento a 4 °C os hambúrgueres foram submetidos a determinação do pH através do uso potenciômetro e cor instrumental pelo colorímetro conforme descritos anteriormente.

Tabela 1: Formulações de hambúrgueres de frango: T1- sem adição de antioxidante; T2 - com adição do antioxidante sintético eritorbato de sódio; T3, T4 e T5 com adição de 0,5% 0,75% e 1,0% do coproduto de camu-camu liofilizado, respectivamente.

Ingredientes (%)	T1	T2	T3	T4	T5
Coxa e sobrecoxa	65,49	65,24	64,99	64,74	64,49
Gordura animal	18	18	18	18	18
Proteína isolada de soja	4	4	4	4	4
Água	10,25	10,25	10,25	10,25	10,25
Sal	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7
Camu-camu liofilizado	0	0	0,50	0,75	1,00
Eritorbato de sódio	0	0,25	0,00	0,00	0,00
Alho em pó	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Cebola em pó	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11
Pimenta branca em pó	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

Fonte: O autor

Análise textura

A análise de perfil de textura (TPA) foi realizada em um universal (TATX-2i), com probe cilíndrico (P35) de acordo com os procedimentos descrito por Bourne (1978) após cocção dos hambúrgueres em chapa elétrica até a temperatura interna de 72°C. Os parâmetros analisados foram: dureza (N), coesividade, mastigabilidade e resiliência.

Análise de Oxidação lipídica

A oxidação lipídica foi determinada nos tempos de 0, 15, 30, 45 e 60 dias nos hambúrgueres armazenados a -18°C conforme procedimento descrito por Tarladgis, Pearson e Dugan (1964) e os resultados foram expresso em mg de TBARS por quilograma de amostra.

Análise Sensorial

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de ética em pesquisa envolvendo seres humanos da Universidade Estadual de Londrina (CAAE: 75681123.4.0000.5231). A análise sensorial foi realizada com 100 avaliadores adultos não treinados que foram recrutados aleatoriamente, sendo 62% do sexo feminino, maioria adulto jovem de até 50 anos e que consumiam hambúrguer pelo menos 1 vez na semana. As avaliações dos hambúrgueres foram realizadas em cabines individuais iluminadas por luz branca, inicialmente, os avaliadores receberam uma amostra de hambúrguer (20g) previamente cozido (temperatura interna de 72°C) receberão as amostras em pratos descartáveis brancos, codificados com números de três dígitos, em ordem aleatória, acompanhado de um copo de água a temperatura ambiente para enxaguar a boca e biscoito tipo água e sal para ser consumido entre as amostras. Em seguida, os avaliadores foram solicitados a avaliar a aceitação por meio de uma escala hedônica de 9 pontos (1 = desgostei muitíssimo; 9 = gostei muitíssimo), considerando aparência, aroma, sabor, textura e impressão global. Após, os avaliadores avaliaram a intenção de compra (1 = certamente não compraria o produto; 5 = certamente compraria o produto).

Antes da realização da análise sensorial os hambúrgueres foram analisados quanto a qualidade microbiológica segundo padrão sanitário exigido pela legislação vigente RDC 724/2022 e foi constatado que todas as formulações estavam seguras para o consumo na análise.

Análise estatística

Os resultados obtidos foram analisados no Programa Statistica 7.0 for Windows, através de análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADO E DISCUSSÃO

A Tabela 2 apresenta os resultados da caracterização físico-química e propriedade tecnológica do coproduto de camu-camu liofilizado. O coproduto liofilizado apresentou um baixo valor de atividade de água de (0,188), como o esperado, em decorrência do processo de secagem por liofilização, resultado um pouco foi superior ao relatado por Azevedo (2015) de $0,091 \pm 0,02$ para o resíduo do fruto liofilizado, mas inferior ao reportado por Garcia et al., (2020) para camu-camu seco por spray drying que foi de $0,37 \pm 0,01$. Vale ressaltar que, alimentos com menor atividade de água possuem uma maior estabilidade. O coproduto apresentou uma higroscopicidade intermediária de 11,00 que de acordo com classificação proposta pela GEA Niro Research Laboratory (2010) para pós, valores na faixa de 10,1 – 15% são considerados ligeiramente higroscópico. A elevada higroscopicidade dos pós torna-se um problema para uso e armazenamento, a higroscopicidade intermediária indica viabilidade no uso e armazenamento do coproduto liofilizado.

O teor de sólidos solúveis presentes no coproduto camu-camu liofilizado solubilizado em água foi 3,5 ° Brix, indicando baixo teor de açúcares.

O coproduto apresentou de pH baixo de 2,88 e uma alta acidez total 1,83. Silva e Mourão (2022) encontraram pH de $2,53 \pm 0,05$ para de casca pulverizada enquanto que Azevedo (2015) relataram pH de 3,34, já Chagas (2019) ao estudar resíduo agroindustrial submetida secagem em três diferentes temperaturas (50, 60 e 70°C) obtiveram valores de $2,90 \pm 0,04$, $2,90 \pm 0,04$, $3,00 \pm 0,02$. A alta acidez é consequência do teor de ácidos presente no fruto que depende de inúmeros fatores como plantio, solo e estagio de maturação. O baixo valor de pH contribui para maior estabilidade, indicando que associado a baixa A_w e higroscopicidade, o pó de coproduto de camu-camu apresenta alto tempo de vida útil favorecendo a aplicação em alimentos.

Em relação ao parâmetro de cor, observou-se um alto valor de luminosidade (76,58), evidenciando uma tonalidade mais clara, o resultado foi superior ao observado por Chagas (2019), em farinhas obtidas a partir do resíduo agroindustrial do processamento do camu-camu, que observou valores de (52, 54 e 54) para o resíduo seco em diferentes temperaturas 50, 60 e 70°C respectivamente. Araújo (2019) obteve resultado semelhante ao encontrado no presente estudo, para resíduo de camu-camu liofilizado por 48 h (70,26), no entanto inferior para o resíduo seco nas temperaturas de 50 e 80°C (65,26 e 58,96 respectivamente). Vale ressaltar, que no

processo de secagem por liofilização ocorre a remoção da água por sublimação, evitando dessa forma a degradação dos pigmentos responsáveis pela coloração do fruto. Os parâmetros de a^* e b^* foram positivos indicando uma coloração vermelho e amarelo, respectivamente. O coproduto aparentou uma tonalidade rosada, atribuída possivelmente a presença de antocianinas identificada na amostra, pigmento responsável pela coloração presente no coproduto.

Tabela 2. Caracterização físico-química e propriedade tecnológica do coproduto de camu-camu liofilizado

Análises físico-químicas		Coproduto de camu-camu liofilizado
Atividade de água (AW)		0,188 ± 0,01
Acidez total titulável (g ácido cítrico/100g)		1,83 ± 0,06
pH		2,88 ± 0,01
Sólidos solúveis totais (°Brix)		3,57 ± 0,06
Higroscopicidade (%)		11,00 ± 0,37
Cor	L^*	76,58 ± 0,34
	a^*	12,30±0,30
	b^*	16,06±0,21

L^* - luminosidade; a^* - intensidade da cor vermelha; b^* - intensidade da cor amarela
Valores expressos em média e $\pm$ desvio padrão

O coproduto de camu-camu liofilizado revelou um elevado conteúdo de vitamina C 1,62 g/100g (Tabela 3), indicando que o coproduto é uma rica fonte de vitamina C (Figura 1) e não deve ser desprezado, considerando que a quantidade presente no coproduto é superior a encontrada na maioria das frutas. Azevêdo (2014) obteve valores semelhantes de 1,39g no resíduo de camu-camu liofilizado, mas maiores que para o resíduo de camu-camu seco por aquecimento. O alto teor de vitamina C no coproduto é consequência da quantidade presente no fruto, de fato Fracassetti et al., (2013) relataram valores de vitamina C 3,51 g/100g e 9,04 g/100g para pó de polpa e farinha da casca. O teor de ácido gálico foi relativamente baixo quando comparado com outros autores (Pércio, 2021) e a quercetina não foi detectada.

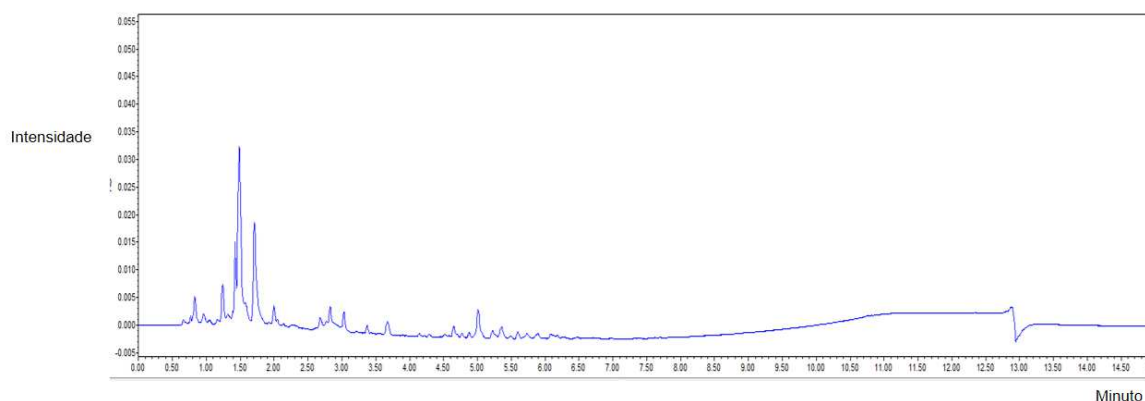


Figura 1 – Cromatograma referente a amostra do coproduto de camu-camu liofilizado no comprimento de onda de 270 nm.

Com relação a antocianinas, o coproduto liofilizado apresentou 22,84 mg/100g (Tabela 3) resultado superior aos observado por Araújo (2019) para resíduo industrial de camu-camu submetido à secagem nas temperaturas de 40, 50 e 60 °C, de 12,60; 14,20; 16,35 mg/100, respectivamente. A presença desse pigmento corrobora com os resultados obtidos para cor (Tabela 2).

Para os compostos fenólicos, foi observado um alto teor 5981 mg AGE/100g superior ao relatados por Azevêdo (2014) para o resíduo de camu-camu liofilizado (2160,2 mg AGE/100g) e por secagem convectiva a 50 °C (1843.6 mg AGE/100g) e a 80°C (1349,4 mg AGE/100g). O teor de flavonóides para o camu-camu foi de 16,67 mg/100g, enquanto que Rufino (2010) ao analisar o fruto de camu-camu fresco obteve valores de 20,1 mg/100g.

Tabela 3. Compostos bioativos e atividade antioxidante do coproduto de camu-camu liofilizado

Compostos Bioativos e atividade antioxidante	Coproduto de camu-camu liofilizado
Ácido ascórbico (g/100g BS)	1,62 ± 0,00
Ácido Gálico (g/100g BS)	0,20± 0,00
Quercetina (1g/100g BS)	ND
Antocianinas totais (mg/100g BS)	22,84 ± 0,13
Carotenoides totais (µg/100g BS)	1,27 ± 0,14
Flavonoides (mg/100g BS)	16,67 ± 0,12
Compostos fenólicos (mg AGE/100g BS)	5981 ± 306
ABTS (µmol Trolox/g)	108,27 ± 6,58
DPPH EC ₅₀ (g/g DPPH)	30,60 ± 1,37
FRAP (µmol Fe ₂ SO ₄ /g)	3.809,22± 42,63

ND= Não detectado

BS= Base seca

Valores expressos em média e ± desvio padrão

Em relação a atividade antioxidante, para o ensaio de ABTS, o valor obtido foi 108,27 µmol Trolox/g (Tabela 3), superior ao reportado por Silva e Mourão (2022) para extratos de camu camu hidroalcoólico, extrato glicólico 10% e extrato glicólico 20 % (92,91; 74,59 e 77,21 µmol Trolox/g) porém, inferior ao identificado por Fracassetti (2013) que obteve para polpa em pó obteve valores de 167.5 e para farinha de camu-camu 752,3. Referente a atividade antioxidante pelo método DPPH EC 50, o coproduto demonstrou alta atividade na eliminação do radical livre DPPH (30,60 g/g DPPH), resultado superior ao relato por Rufino e colaboradores (2010) para o camu-camu fresco (42,6 g/g DPPH). O resultado para o método FRAP foi de 3.809,22 µmol Fe₂SO₄/g (Tabela 3), inferior ao constatado por Garcia e colaboradores (2020) em camu-camu em pó obtido por secagem por pulverização (6283,4µmol Fe₂SO₄/g). Estes resultados revelaram que o coproduto de camu-camu apresentou elevada capacidade antioxidante o que pode ser atribuída ao elevado conteúdo de vitamina C e compostos fenólicos, demonstrando a potencialidade do produto ser utilizado como

antioxidante em alimentos, contribuindo para aproveitamento do resíduo agregando valor e diminuindo a contaminação ambiental.

Em relação a composição química descrita na Tabela 4, observou-se que a umidade foi de 5,69%, próximo ao encontrado por Azevedo (2015) para o resíduo de camu-camu liofilizado e desidratado por secagem convectiva nas temperaturas de 50°C e 80°C, obtendo valores de 5,90, 5,87 e 5,95 respectivamente. Garcia et al., (2020), encontraram valor de 2,5 para camu-camu seco por spray drying, menor que o identificado no presente estudo, o que pode explicar o melhor resultado para atividade antioxidante encontrada por estes autores. O conteúdo de cinzas foi de 1,88%, valor similar ao determinado por Silva e Mourão (2022) para casca pulverizada de *Myrciaria dubia* (H.B.K.). O coproduto apresentou 4,10% de lipídios, semelhante ao determinado por Araújo (2019) para o resíduo industrial de camu-camu submetido à secagem nas temperaturas de 40, 50 e 60 °C (4,0; 4,0 e 4,2 %) e superiores ao relatado por Azevedo (2015) que observou valores de 3,70; 3,37 e 3,73 para do resíduo de camu-camu liofilizado e seco por secagem convectiva nas temperaturas de 50 e 80°C. Chagas (2019) também obteve menores valores quando comparado os dados obtidos neste trabalho, para o resíduo do processamento do camu-camu submetido a secagem a 50,60 e 70°C (3,80; 3,88 e 3,77).

O coproduto apresentou elevado teor de fibras alimentares (38,40%) (Tabela 4), valor superior ao relatado por Chagas (2019) para fibra bruta em farinhas de camu-camu (13,56; 13,27; 13,49%). O alto teor de fibras do coproduto era esperado devido a sua constituição de sementes e casca e é uma propriedade interessante quanto ao seu aproveitamento em produtos cárneos pois pode além de atuar como antioxidante natural contribuir para aumento de fibras, produzindo produtos mais saudáveis.

Tabela 4. Composição química aproximada do coproduto de camu-camu liofilizado.

Composição química	(g/100g)
Umidade	5,69 ± 0,19
Proteína	6,41 ± 0,15
Lipídios	4,10 ± 0,16
Carboidratos	43,52
Fibra alimentar total	38,40 ± 4,88
Cinzas	1,88 ± 0,07

Valores expressos em média e ± desvio padrão

Em relação a atividade antimicrobiana do coproduto, nota-se que apresentou uma ação inibitória para o crescimento de *E. coli* em 13,44 mm, *Salmonella* em 15,79 mm e *Staphylococcus aureus* em 25,69 mm (Tabela 5). Com destaque para a inibição *S. aureus* o halo de inibição formado foi semelhante ao controle de Penicilina estreptomicina. Vale ressaltar que as bactérias gram positivas são sensíveis ação antimicrobiana presente nos frutos, isso justifica maior halo de inibição para esse patógeno. A atividade antimicrobiana observada também é uma característica interessante para aplicação do coproduto em alimentos.

Tabela 5. Atividade antimicrobiana do coproduto de camu-camu liofilizado medida pelo diâmetro do halo de inibição do crescimento bacteriano

Cepas bacterianas	Diâmetro de inibição (mm)
<i>Escherichia coli</i>	13,44 $\pm$ 0,52
<i>Salmonella</i>	15,79 $\pm$ 0,14
<i>Staphylococcus aureus</i>	25,69 $\pm$ 0,52

Valores expressos em média e $\pm$ desvio padrão

Observa-se na Tabela 6 que os hambúrgueres formulados com adição de camu-camu apresentaram composição química de acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de hambúrguer (Brasil, 2022) que especifica valor máximo de 25% para lipídios e mínimo de 15% para proteína. O teor de umidade, lipídios e cinzas não apresentaram diferença ($p > 0,05$) entre os tratamentos, indicando assim que a inclusão do coproduto de camu-camu liofilizado não teve efeito significativo nestes parâmetros. O teor de proteína foi superior ($p > 0,05$) para os tratamentos T1 e T2 quando comparados os tratamentos T3, T4 e T5 contendo coproduto camu-camu liofilizado, que não diferiram entre si, isto foi devido a quantidade de carne, uma vez que, o coproduto foi utilizado em substituição a carne, não comprometendo a qualidade, visto que ainda estavam dentro do limite mínimo estabelecido pelo regulamento técnico.

Tabela 6. Composição química aproximada de hambúrguer de carne de frango com adição de co-produto de camu-camu (T1- sem adição de antioxidante; T2 - com adição do antioxidante comercial eritorbato de sódio; T3, T4 e T5 com adição de 0,5%, 0,75% e 1,0% do coproduto de camu-camu liofilizado, respectivamente)

Tratamentos	Parâmetros (%)				
	Umidade	Proteína	Lipídios	Carboidratos	Cinza
T1	67,79±0,19 ^a	18,59±0,53 ^a	9,12±0,80 ^a	1,51	2,77±0,08 ^a
T2	66,70±0,78 ^a	18,27±0,36 ^a	8,57±0,51 ^a	3,77	2,69±0,10 ^a
T3	66,10±0,53 ^a	17,43±0,27 ^b	9,10±0,37 ^a	4,66	2,74±0,09 ^a
T4	65,98±1,55 ^a	17,74±0,26 ^b	9,54±0,21 ^a	4,01	2,73±0,03 ^a
T5	66,39±0,97 ^a	17,58±0,32 ^b	8,68±0,16 ^a	4,58	2,73±0,09 ^a

^{a-b} Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A tabela 7 apresenta os resultados da análise de perfil de textura dos hambúrgueres, observa-se que para o parâmetro dureza, a inclusão de coproduto de camu-camu (T3, T4, T5) ocasionou aumento da dureza dos hambúrgueres, apresentando os maiores valores médios, especialmente o T5 o qual o obteve diferença significativa em relação aos tratamentos controle T1 e T2. Para a coesividade, resiliência não foi observada diferença significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$). Os tratamentos com maior conteúdo de camu-camu T4 e T5 apresentaram maiores valores para a mastigabilidade quando comparados os tratamentos T1, T2 e T3. O aumento da mastigabilidade pode ser decorrente do teor de fibras do camu-camu (Tabela 4) que pode ter contribuído para o aumento de fibras do hambúrguer. Sharma e Yadav (2020) também verificaram aumento da mastigabilidade em hambúrgueres tratados com pó do bagaço de romã.

Tabela 7. Perfil de textura de hambúrguer de carne de frango com adição de coproduto de camu-camu (T1- sem adição de antioxidante; T2 - com adição do antioxidante comercial eritorbato de sódio; T3, T4 e T5 com adição de 0,5% 0,75% e 1,0% do coproduto de camu-camu liofilizado, respectivamente)

Tratamentos	Dureza (N)	Coesividade	Mastigabilidade	Resiliência
T1	31,15±0,72 ^{ab}	0,54±0,02 ^a	19,19±5,48 ^b	0,24±0,02 ^a
T2	24,50±1,68 ^b	0,50±0,05 ^a	17,20±3,89 ^b	0,23±0,03 ^a
T3	35,84±6,03 ^a	0,49±0,06 ^a	22,15±3,49 ^b	0,25±0,04 ^a
T4	37,84±0,37 ^a	0,52±0,03 ^a	33,05±6,59 ^a	0,26±0,03 ^a
T5	40,92±3,83 ^a	0,50±0,05 ^a	33,03±5,13 ^a	0,24±0,02 ^a

As médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna para a mesma fonte de variação diferem significativamente de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os valores de pH dos hambúrgueres foram avaliados durante o armazenamento sob congelamento (Tabela 8). A adição do coproduto camu-camu nos hambúrgueres (T3, T4 e T5) ocasionou diminuição significativa do pH, ainda a adição de maior concentração de camu-camu (1%) foi mais baixo ($p < 0,05$) que os tratamentos T3 e T4 durante todos os tempos de armazenamento estudados, o que é consequência do baixo pH e elevada acidez do camu-camu (Tabela 2). Em relação ao tempo de armazenamento, os tratamentos T1 e T2 não apresentaram diferença nos tempos 0, 15, 30 dias e apresentaram diferença significativa em entre si a partir do tempo 45 dias. Ao final dos últimos períodos de armazenamento 45 e 60 todos os tratamentos apresentaram diferença significativa entre si.

Tabela 8. Valores de pH de hambúrguer de carne de frango com adição de coproduto de camu-camu durante armazenamento a -18°C (T1- sem adição de antioxidante; T2 - com adição do antioxidante comercial eritorbato de sódio; T3, T4 e T5 com adição de 0,5% 0,75% e 1,0% do coproduto de camu-camu liofilizado, respectivamente)

Tratamentos	Tempo de armazenamento (dias)				
	0	15	30	45	60
T1	6,56±0,03 ^{aA}	6,63±0,04 ^{Aa}	6,60±0,02 ^{aA}	6,58±0,00 ^{bA}	6,45±0,02 ^{bB}
T2	6,61±0,02 ^{aA}	6,61±0,05 ^{aA}	6,62±0,01 ^{aA}	6,62±0,00 ^{aA}	6,52±0,01 ^{aB}
T3	6,33±0,02 ^{bB}	6,38±0,02 ^{bA}	6,36±0,00 ^{bAB}	6,38±0,02 ^{cA}	6,33±0,01 ^{cB}
T4	6,27±0,02 ^{bC}	6,36±0,03 ^{bA}	6,35±0,03 ^{bAB}	6,34±0,02 ^{dABC}	6,30±0,01 ^{dB}
T5	6,14±0,02 ^{cBC}	6,18±0,01 ^{cAB}	6,17±0,03 ^{cAB}	6,20±0,02 ^{eA}	6,10±0,02 ^{eC}

^{a-b} Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

^{A,B} Médias na mesma linha, dentro de um parâmetro, seguidas por letras maiúsculas diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

Na Tabela 9 são apresentados os resultados dos parâmetros de cor, observa-se que a luminosidade dos tratamentos T1 e T2 não diferiram significativamente entre si ao longo do período de estocagem, obtendo os maiores valores, revelando um produto mais claro, que quando comparado aos tratamentos com a inclusão do coproduto de camu-camu (T3, T4 e T5), o que é devido a cor do produto (Tabela 2). Munekata (2016), ao avaliar o potencial antioxidante do extrato de pele de amendoim em hambúrguer de frango durante a estocagem sob refrigeração, identificou que os tratamentos com extrato ocasionaram a diminuição da luminosidade, o autor atribuiu

essa redução a presença de compostos fenólicos presente na pele de amendoim. No presente estudo, o coproduto de camu-camu liofilizado obteve um alto conteúdo de compostos fenólicos (Tabela 2), a inclusão nas formulações de hambúrgueres também impactou na luminosidade, os quais obtiveram os menores valores durante todo o período de armazenamento sob congelamento quando comparados os tratamentos T1 e T2.

O parâmetro a^* representa a intensidade da coloração vermelha no produto, o controle negativo (T1) sem inclusão dos antioxidantes comerciais e naturais, obteve os menores valores, apresentando diferença significativa durante todo o período de armazenamento com relação os tratamentos com a adição do coproduto de camu-camu liofilizado (T3, T4 e T5) os quais obtiveram os maiores valores. O tratamento T2 não apresentou diferença significativa quando comparado aos demais tratamentos com coproduto ao longo de período de armazenamento. Demonstrando assim, que o antioxidante comercial bem como o natural preservaram a intensidade de cor vermelho no produto.

Com relação ao atributo b^* intensidade da cor amarela, os tratamentos com adição do coproduto de liofilizado (T3, T4 e T5) promoveram a diminuição durante todo o período de armazenamento sob congelamento, não apresentando diferença significativa entre si, entretanto, diferindo ($p > 0,05$), dos tratamentos T1 e T2.

Tabela 9. Parâmetros de cor de hambúrguer de carne de frango com adição de co-produto de camu-camu durante armazenamento a -18°C (T1- sem adição de antioxidante; T2 - com adição do antioxidante comercial eritorbato de sódio; T3, T4 e T5 com adição de 0,5% 0,75% e 1,0% do coproduto de camu-camu liofilizado, respectivamente)

Parâmetros		Tempo de armazenamento (dias)				
		0	15	30	45	60
L*	T1	62,32±0,80 ^{aB}	63,77±0,85 ^{aAB}	63,62±0,56 ^{aAB}	64,83±0,62 ^{aA}	64,49±1,01 ^{aA}
	T2	61,53±1,44 ^{aB}	62,72±0,47 ^{aAB}	62,30±1,15 ^{aB}	64,74±0,38 ^{aA}	63,44±0,47 ^{aAB}
	T3	55,73±0,36 ^{bB}	56,62±0,46 ^{bAB}	56,85±0,25 ^{bA}	57,84±0,37 ^{bA}	56,63±0,25 ^{bAB}
	T4	56,29±0,59 ^{bA}	57,09±1,11 ^{bA}	56,92±0,74 ^{bA}	57,74±0,16 ^{bA}	57,42±0,19 ^{aA}
	T5	54,28±1,02 ^{bB}	55,37±1,26 ^{bAB}	55,34±0,64 ^{bA}	56,39±0,31 ^{cAB}	55,12±0,18 ^{cAB}
a*	T1	5,49±0,04 ^{bA}	5,59±0,34 ^{bA}	5,33±0,18 ^{bA}	5,21±0,30 ^{bA}	4,87±0,41 ^{bA}
	T2	6,49±0,38 ^{aA}	5,97±0,27 ^{aA}	5,94±0,45 ^{aA}	5,72±0,37 ^{aA}	5,79±0,37 ^{aA}
	T3	6,37±0,07 ^{aA}	6,45±0,09 ^{aA}	6,48±0,31 ^{aA}	6,35±0,16 ^{aA}	6,43±0,10 ^{aA}
	T4	6,25±0,04 ^{aA}	6,20±0,02 ^{aA}	6,12±0,24 ^{aA}	6,44±0,21 ^{aA}	6,04±0,26 ^{aA}
	T5	6,22±0,24 ^{aA}	6,52±0,16 ^{aA}	6,39±0,16 ^{aA}	6,04±0,16 ^{aA}	6,24±0,36 ^{aA}
b*	T1	15,16±0,47 ^{aA}	15,53±1,33 ^{aA}	15,55±0,54 ^{aA}	17,05±0,42 ^{aA}	15,43±0,17 ^{aA}
	T2	14,55±0,34 ^{aA}	14,93±0,27 ^{aA}	15,10±0,37 ^{aA}	14,69±0,73 ^{aA}	14,70±0,73 ^{aA}
	T3	11,47±0,52 ^{bAB}	11,30±0,31 ^{bB}	11,58±0,47 ^{bAB}	12,37±0,05 ^{bA}	12,10±0,37 ^{bAB}
	T4	11,00±0,21 ^{bB}	11,06±0,80 ^{bB}	11,32±0,3 ^{bAB}	12,26±0,21 ^{bA}	12,09±0,18 ^{bAB}
	T5	11,13±0,63 ^{bA}	11,35±0,51 ^{bA}	11,44±0,23 ^{bA}	11,48±0,31 ^{bA}	11,66±0,38 ^{bA}

L* - luminosidade; a* - intensidade da cor vermelha; b* - intensidade da cor amarela

^{a-b} Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

^{A,B} Médias na mesma linha, dentro de um parâmetro, seguidas por letras maiúsculas diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

Na Tabela 10 são apresentados os resultados referentes a análise de estabilidade oxidativa. No tempo 0 os tratamentos não apresentaram diferença significativa, após 15 dias de armazenamento, o tratamento T1 (sem adição de antioxidante comercial e natural) apresentou maior oxidação diferindo dos demais tratamentos ($p < 0,05$). O tratamento T2 (com adição do antioxidante comercial) não diferiu ($p > 0,05$) dos tratamentos com a adição de diferentes concentrações do coproduto de camu-camu liofilizado (T3, T4 e T5).

Após 30 dias de armazenamento, o T1 tornou a apresentar diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparado aos demais tratamentos, enquanto os tratamentos com a adição do antioxidante comercial (T2) e com coproduto de camu-camu liofilizado (T3, T4 e T5) não diferiram significativamente entre si. O mesmo comportamento foi observado também nos últimos tempos 45 e 60, todos os tratamentos com a inclusão de antioxidante sintético (T2) e camu-camu (T3, T4 e T5) diferiram do T1 (sem adição de antioxidante). Estes resultados demonstram que o coproduto do camu-camu liofilizado apresentou atividade antioxidante sendo capaz de atuar nos hambúrgueres com comportamento semelhante ao o antioxidante sintético comercial (eritorbato de sódio). A boa estabilidade oxidativa proporcionada pela adição do camu-camu é consequência do alto conteúdo de compostos fenólicos e ácido ascórbico presentes e de sua elevada atividade antioxidante conforme apresentado na Tabela 2. Guedes-Oliveira et al., (2018), ao investigarem o impacto da casca e da semente *Myrciaria Dubia* em hambúrguer de carne de cordeiro durante 9 dias de estocagem sob refrigeração, obtiveram também uma maior ação protetora frente a oxidação lipídica, o autor associou a presença de compostos fenólicos no fruto.

Tabela 10. Oxidação lipídica (mg de TBARS/kg) de hambúrguer de carne de frango com adição de co-produto de camu-camu durante armazenamento a -18°C (T1- sem adição de antioxidante; T2 - com adição do antioxidante comercial eritorbato de sódio; T3, T4 e T5 com adição de 0,5% 0,75% e 1,0% do coproduto de camu-camu liofilizado, respectivamente)

Tratamentos	Tempo de armazenamento (dias)				
	0	15	30	45	60
T1	0,20 $\pm$ 0,05 ^{aA}	0,29 $\pm$ 0,10 ^{aA}	0,20 $\pm$ 0,20 ^{aA}	0,28 $\pm$ 0,01 ^{aA}	0,23 $\pm$ 0,00 ^{aA}
T2	0,15 $\pm$ 0,01 ^{aA}	0,15 $\pm$ 0,01 ^{bA}	0,12 $\pm$ 0,14 ^{bB}	0,15 $\pm$ 0,02 ^{bA}	0,14 $\pm$ 0,00 ^{bAB}
T3	0,21 $\pm$ 0,02 ^{aA}	0,15 $\pm$ 0,01 ^{bB}	0,14 $\pm$ 0,15 ^{bB}	0,17 $\pm$ 0,03 ^{bAB}	0,15 $\pm$ 0,02 ^{bB}
T4	0,20 $\pm$ 0,03 ^{aA}	0,16 $\pm$ 0,01 ^{bA}	0,13 $\pm$ 0,15 ^{bA}	0,19 $\pm$ 0,05 ^{bA}	0,15 $\pm$ 0,01 ^{bA}
T5	0,21 $\pm$ 0,04 ^{aA}	0,16 $\pm$ 0,02 ^{bAB}	0,14 $\pm$ 0,14 ^{bB}	0,20 $\pm$ 0,01 ^{bA}	0,16 $\pm$ 0,01 ^{bAB}

^{a-b} Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

^{A,B} Médias na mesma linha, dentro de um parâmetro, seguidas por letras maiúsculas diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

Em relação a aceitação sensorial (Tabela 11), observa-se que o hambúrguer do tratamento T2 (antioxidante comercial) apresentou maior aceitação para todos os parâmetros avaliados ($p>0,05$), quando comparado com os hambúrgueres com adição do coproduto liofilizado T3 (0,50%) e T4 (0,75%), os quais não apresentaram diferença significativa entre si.

O atributo de aparência obteve uma maior média de aceitação para o T2 (7,67) diferindo dos tratamentos com adição do coproduto T3 e T4 os quais não diferiram entre si ($p>0,05$), e apresentaram valores médio de (6,26 e 6,38), correspondendo na escala hedônica a “gostei ligeiramente”, esse fator pode estar associado possivelmente a coloração mais escura das formulações contendo o camu-camu. Para os atributos aroma e sabor as maiores médias foram para o hambúrguer T2, indicando que a adição de camu-camu, independente da concentração diminui a aceitação, isto pode ser atribuído ao baixo valor de pH e alto conteúdo de ácido ascóbrico, uma vez que, em algumas fichas os avaliadores apontaram que as formulações que correspondiam aos tratamentos com adição do coproduto liofilizado, apresentavam um sabor picante acentuado. Pinho et al., (2011) obtiveram resultados similar ao analisarem a aceitação de hambúrguer com resíduo do pedúnculo do caju no qual os produtos formulados com resíduo branqueado e desidratado em estufa apresentaram menores médias para os atributos aroma e sabor, os autores sustentam que à característica da liofilização em preservar compostos voláteis responsáveis pelo aroma característico do fruto, pode ter impactado na aceitação.

O parâmetro textura também apresentou menores médias para os hambúrgueres com adição do camu-camu (T3 e T4) em relação ao hambúrguer com adição de antioxidante comercial (T2). Essa diferença pode estar relacionada principalmente a maior dureza e mastigabilidade observados para as amostras T3 e T4 (Tabela 9), as médias de aceitação para textura do tratamento T2 equivalem a “Gostei moderadamente”, enquanto T3 “Indiferente” e T4 Gostei ligeiramente.

Com relação a impressão global, o T2 apresentou maior valor médio que os tratamentos T3 e T4 que é consequência da menor pontuação dos parâmetros analisados impactando diretamente na impressão global.

Tabela 11. Aceitação sensorial dos hambúrgueres de carne de frango com adição de co-produto de camu-camu (T2 - com adição do antioxidante comercial eritorbato

de sódio; T3, T4 e com adição de 0,5% e 0,75% do coproduto de camu-camu liofilizado, respectivamente)

Atributo Sensorial	Tratamentos		
	T2	T3	T4
Impressão Global	7,71±1,22 ^a	6,07±3,05 ^b	5,95±3,35 ^b
Aparência	7,67±1,60 ^a	6,26±2,54 ^b	6,38±3,05 ^b
Aroma	7,37±1,67 ^a	6,80±2,55 ^b	6,71±2,71 ^b
Sabor	7,84±1,15 ^a	6,37±3,85 ^b	5,99±4,13 ^b
Textura	7,62±2,22 ^a	5,94±3,43 ^b	6,11±3,63 ^b

^{a-b} Médias na mesma linha, seguidas por letras minúsculas diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A Figura 2 apresenta os resultados do percentual de intenção de compra, no qual foi possível constatar que os avaliadores estariam mais dispostos a comprar o hambúrguer T2 (50%) comparado aos hambúrgueres com a adição de camu-camu T3 e T4 (31%) equivalente a “não sei se compraria ou não”. A incerteza quanto a compra dos produtos com a adição do coproduto pode estar associada as alterações no produto, como a aparência (cor escura) e quanto ao sabor (picante) e textura. No entanto, destaca-se que os avaliadores não foram informados quanto a substituição de um antioxidante sintético por um produto natural, o que pode impactar a decisão pela compra, outrossim, há possibilidade de melhora na formulação para que seja possível alterar as características sensoriais.

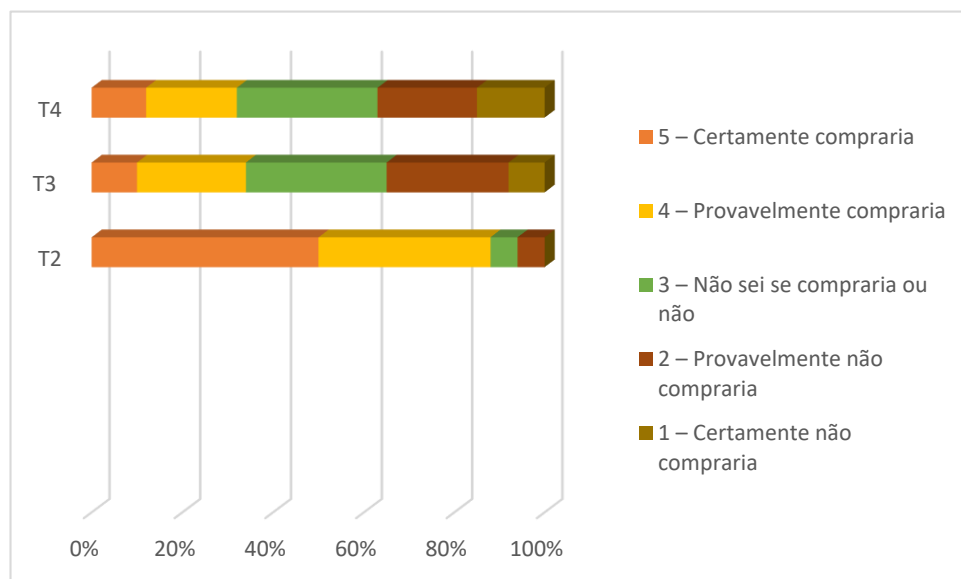


Figura 2. Intenção de compra dos hambúrgueres de carne de frango com adição de coproduto de camu-camu (T2 - com adição do antioxidante comercial eritorbato de sódio; T3, T4 e com adição de 0,5% e 0,75% do coproduto de camu-camu liofilizado, respectivamente)

Conclusão

O coproduto de camu-camu apresentou alto conteúdo de ácido ascórbico e elevada atividade antioxidante, atividade antimicrobiana frente a patógeno demonstrando potencialidade em sua utilização como antioxidante natural em alimentos diminuindo desperdício e descarte ambiental e agregando valor ao produto.

Os hambúrgueres elaborados com adição de camu-camu apresentaram estabilidade oxidativa semelhante ao antioxidante sintético, com alteração na cor, aumento da dureza e mastigabilidade e discreta diminuição da aceitação e intenção de compra, sendo, portanto, uma alternativa viável para oferta de produtos cárneos mais saudáveis.

Referências

A.O.A.C. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 17th ed. Gaithersburg: AOAC International, 2000.

Abeyrathne, E.D.N.S. Huang, X.; Ahn, D.U.(2018) Antioxidant, angiotensin-converting enzyme inhibitory activity and other functional properties of egg white proteins and their

derived peptides – A review. **Poultry Science**, v. 97, n. 4, p. 1462-1468.
<https://doi.org/10.3382/ps/pex399>

Azevêdo, J. C. S; Fujita A, Oliveira E L. (2014) Dried camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. *McVaugh*) industrial residue: A bioactive-rich Amazonian powder with functional attributes. / **Food Research International** 62, 934–940.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.05.018>

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portaria nº724, de 23 de dezembro de 2022. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do hambúrguer. Diário Oficial da União, Brasília/DF, 23 de dez. 2022.

Cai, Y.Z., Corke, H. (2000). Production and properties of spray dried *Amaranthus* Betacyanin Pigments. *Journal of Food Science*, v. 65, p. 1248–1252.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb10273.x>

CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test; Approved Standard-Tenth Edition. Wayne, CLSI document M02-A10.

Chagas E.G.L. **Produção, caracterização e aplicação de farinhas obtidas a partir do resíduo agroindustrial do processamento do camu-camu**. 2019. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

Fracassetti, D. *et al.* (2013). Ellagic acid derivatives, ellagitannins, proanthocyanidins and other phenolics, vitamin C and antioxidant capacity of two powder products from camu-camu, fruit (*Myrciaria dubia*). **Food Chemistry**. 139, 578–588.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.121>.

Garcia, V. A. S., Borges, J. G., Vanin, F. M., & Carvalho R. A. (2020). Vitamin C stability in acerola and camu-camu powder obtained by spray drying. *Brazilian Journal of Food Technology*, 23, e2019237. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.23719>

Guedes-Oliveira, J.M. et al. (2018). Impact of *Myrciaria Dubia* Peel and Seed Extracts on Oxidation Process and Colour Stability of Ground Lamb. CYTA – JOURNAL OF FOOD. 16, NO. 1, 931–937. <https://doi.org/10.1080/19476337.2018.1512529>

Lourenço, C. A. M. **Veiculação de compostos bioativos extraídos do resíduo industrial de camu-camu em filmes de desintegração oral**. 2021. 104. Tese (Doutorado). Programa de pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo. São Paulo. 2021.

MUNEKATA, P.S. **Avaliação do potencial antioxidante do extrato de pele de amendoim em produtos cárneos**. Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

Oswell Nj, Thippareddi H, Pegg Rb. (2018). Practical use of natural antioxidants in meat products in the U.S.: A review. **Meat Science**, v.145, p.469-479. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.07.020>

Park, E. Y.; Imazu, H. (2012). Effects Of Peptide Fractions With Different Isoelectric Points From Wheat Gluten Hydrolysates On Lipid Oxidation In Pork Meat Patties. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, V. 60, N. 30, P. 7483-7488.

Real, C. F.et al.(2019). Uso de antioxidantes naturais em hambúrgueres elaborados com carne mecanicamente separada de aves. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 21, n. 4.

Pinho, L.X. *et al.* (2011). Desidratação e Aproveitamento de Resíduo de Pedúnculo de Caju como Adição de Fibra Na Elaboração de Hambúrguer. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 22, n. 4, p. 571-576.

Ribeiro, J. S. et al. Natural antioxidants used in meat products: A brief review. **Meat Science**, v. 148, p. 181–188, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.10.016>

Rufino, M..S.M. *et al.* (2010). Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. Food Chemistry. **Food Chemistry**. 121, 996–1002. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.037>

Sharma, P. & Yadav, S. (2020). Effect of Incorporation of Pomegranate Peel and Bagasse Powder and Their Extracts on Quality Characteristics of Chicken Meat Patties. **Food Science of Animal Resources**, 40(3), 388-400. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2020.e19>.

Tarladgis, B. G., Watts, B. M., Younathan, M. T. & Dugan-Jr, L. (1960). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. Journal of the American Oil Chemists' Society, 37, 44–48. <https://doi.org/10.1007/BF02630824>

ZAPATA, J. F. F., et al (2006). Avaliação preliminar do armazenamento em congelamento sobre a qualidade da carne de peito de frangos de dois tipos genéticos. **Brazilian Journal of Food Technology**, 9(3):185-191.

Zehiroglu C, Sarikaya Sb (2019). The Importance Of Antioxidants And Place In Today's Scientific And Technological Studies. **Journal Of Food Science And Technology**, V56, N.11, P.4757-4774. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03952-x>

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente pesquisa, demonstrou resultados satisfatórios tanto na caracterização quanto para aplicação do coproduto em hambúrguer de frango. Os dados obtidos com a caracterização do coproduto revelaram a presença de compostos bioativos, e alta capacidade antioxidante e atividade antimicrobiana frente as cepas dos três patógenos estudados. Embora o camu-camu, tenha promovido alteração na cor, aumento da dureza e mastigabilidade e discreta diminuição da aceitação e intenção de compra. O coproduto de camu-camu liofilizado adicionado nas formulações de hambúrgueres, independente da concentração utilizada conferiu um efeito protetor para a oxidação lipídica durante o período de armazenamento, igualmente ao antioxidante sintético, demonstrando assim, um alto potencial como conservante natural, sua aplicação é uma alternativa viável para oferta de produtos cárneos mais saudáveis.

REFERÊNCIAS

A.O.A.C. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of AOAC** International. 17th ed. Gaithersburg: AOAC International, 2000.

ABEYRATHNE, E.D.N.S. HUANG, X.; AHN, D.U. Antioxidant, angiotensin-converting enzyme inhibitory activity and other functional properties of egg white proteins and their derived peptides – A review. **Poultry Science**, v. 97, n. 4, p. 1462-1468 2018,

AZEVEDO, J.C.S. **Características bioativas, funcionais e efeito protetor do resíduo desidratado de camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. (McVaugh)) sobre doenças degenerativas utilizando modelos in vivo *C. elegans***. 2015. 127. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Tecnologia. Programa de Pós-graduação em Engenharia Química. Supervisão externa: Texas State University. Departamento de Nutrição. Natal, 2015.

BARRETO, A. G. *et al.* Clarificação de polpa de camu-camu por microfiltração. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 16, n. 3, p. 207-215, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 724, de 1 de julho de 2022. Dispõe sobre padrões microbiológicos para alimentos e suas aplicações. Brasília – DF, 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Listas de padrões microbiológicos para alimentos. Instrução Normativa IN nº 161, de 1º de julho de 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portaria nº724, de 23 de dezembro de 2022. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do hambúrguer. Diário Oficial da União, Brasília/DF, 23 de dez. 2022.

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E; BERSET, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. Bruinsma, J.

CAI, Y.Z.; CORKE, H. **Production and properties of spray dried *Amaranthus* Betacyanin Pigments**. *Journal of Food Science*, v. 65, p. 1248–1252, 2000.

CARVALHO, J.C. **Atividade Antioxidante E Antimicrobiana Dos Extratos De Plantas Do Cerrado Em Carne De Peito De Frango**. 2020. 85. Dissertação (Mestrado) Programa De Pós-Graduação Em Saúde Animal. Universidade De Brasília, Brasília/DF, 2020.

CHAGAS E.G.L. **Produção, caracterização e aplicação de farinhas obtidas a partir do resíduo agroindustrial do processamento do camu-camu**. 2019. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test; Approved Standard-Tenth Edition. Wayne, CLSI document M02-A10.

Damodaran, S; Parkin, K.L; Fennema, O.R. **Química de Alimentos de Fennema**. Artmed, Porto Alegre (2010).

DELGADO, V. E; HERNA, H. C. J. **Actividad antibacteriana in vitro de la pulpa del camu camu (*Myrciaria dubia*) en extracto etanólico frente al *Staphylococcus aureus***. 2022. Tese (Químico farmacêutico), Faculdade de Ciências da saúde, Escola profissional de Ciências Farmacêuticas e bioquímica, Huancayo, Perú.

FIGUEIREDO, J.A. **Estabilidade Dos Compostos Bioativos Do Extrato De Camu-Camu Em Pó**. 2019. 117. Dissertação de (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG, 2019.

FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (Ed.). Anthocyanins as food colors. New York: Academic Press, 1982. p. 181-207.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.

FREITAS, E.R; BORGES, A.S. Extratos etanólicos da manga como antioxidantes para frangos de corte. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.47, n.8, p.1025-1030, ago. 2012.

FREIRE, J.M.M. **Efeito Antioxidante Do Extrato De Resíduos Do Processamento Da Acerola (Malpighia Emarginata) Na Estabilidade Oxidativa De Hambúrguer De Carne Bovina**. 2021. 41. Trabalho de Conclusão de Curso, Graduação em Engenharia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Ceará, 2021.

GARCIA, C.E.R; *et al.* Carotenoides bixina e norbixina extraídos do urucum (*Bixa orellana* L.) como antioxidantes em produtos cárneos. **Ciência Rural**, v.42, n.8, ago, 2012.

GAVA A.J, SILVA, C.A.B, FRIAS, J.R.G, **Tecnologia de Alimentos: Princípios e Aplicações**. Nobel, São Paulo, 2008.

GEA Niro Research Laboratory. GEA Niro analytical methods. Disponível em: <<http://www.niro.com/methods>>. Acesso em: em 2022.

GUEDES-OLIVEIRA, J.M. et al. (2018). Impact of *Myrciaria Dubia* Peel and Seed Extracts on Oxidation Process and Colour Stability of Ground Lamb. **CYTA - Journal Of Food**. 16, NO. 1, 931–937 2018.

GOMEZ, J.A.F. **Efecto Antimicrobiano In Vitro Del Extracto Etanólico Del Myrciaria Dubia “Camu Camu” Sobre Cepas De Staphylococcus Aureus Comparado Con Oxacilina.** 2018. Tese de Doutorado (Profissional Medico Cirurgião). Faculdade de Ciências medicas, Trujillo/ Peru.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos.** São Paulo: Artmed, 2005.

KOBLITZ, M. G. B. **Matérias-primas alimentícias: composição e controle de qualidade.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011

KUFNER, D.E. **Atividade Antioxidante Do Extrato Aquoso De Manjerona (Origanum Majorana L.), Em Linguiça Frescal De Frango.** 2010. 56. Dissertação de (Mestrado) Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Campus de Erechim. Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos. ERECHIM, RS, 2010.

LEAO, L.L., et al. Uso de antioxidantes naturais em carnes e seus subprodutos. **Cad. Ciênc. Agra**, v. 9, n. 1, p. 94-100, 2017 - ISSN 2447-6218.

LOURENÇO, C. A.M. **Veiculação de compostos bioativos extraídos do resíduo industrial de camu-camu em filmes de desintegração oral.** 2021. 104. Tese (Doutorado). Programa de pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo. São Paulo. 2021.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. **Current protocols in food analytical chemistry**, F4.3.1-F4.3.8, 2001.

MARIUTT, L.R.B; BRAGAGNOLO, N. A oxidação lipídica em carne de frango e o impacto da adição de sálvia (*Salvia officinalis*, L.) e de alho (*Allium sativum*, L.) como antioxidantes naturais. **Rev Inst Adolfo Lutz**, 68(1):1-11, 2009

MELO, E. A.; GUERRA, N. B. **Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presente em alimentos**. Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.36, n. 1, p. 1-11, 2002.

MENEGALI, B. S. **Incorporação de antioxidante natural em hambúrguer de frango: estabilidade oxidativa e percepção sensorial temporal descritiva e hedônica**. 2020. 77. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2020.

MORI, T; et al. Efecto antimicrobiano de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Cyperus luzulae* (piri piri) sobre microorganismos patógenos. **Conoc. amaz.** 4(1): 49-57. 2013.

MUNEKATA, P.S. **Avaliação do potencial antioxidante do extrato de pele de amendoim em produtos cárneos**. Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

NASCIMENTO, W.M.O do; CARVALHO, J.E.U de. **Camu-camu**. Embrapa Amazônia Oriental, Brasília: Embrapa, 2012. 89 p. (Coleção Plantar, 71).

NEVES, L. C. et al. Bioactive compounds and antioxidant activity in pre-harvest camu-camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh] fruits. **Scientia Horticulturae**, v. 186, n. April, p. 223–229, 2015.

OLIVO, R. **Fatores que Influenciam as Características das Matéria Primas Cárneas e suas Implicações Tecnológicas**. 2001. Disponível em: <<http://www.globalfood.com.br/site/site/arquivos/03.pdf>>. Acesso em: 03/11/2021.

ORDÓÑEZ, P. J. A. et al. **Tecnologia de Alimentos: Componentes dos Alimentos e Processos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. v. 1.

ORDÓÑEZ, J. A. et al. **Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal**. Porto Alegre: Artmed, 2005. v. 2

OSWELL, N.J; THIPPAREDDI, H; PEGG, R.B. Practical use of natural antioxidants in meat products in the U.S.: A review. **Meat Science**, v.145, p.469-479, 2018.

OLIVEIRA, R, R. **Utilização Do Ácido Fítico Como Antioxidante Natural Em Produtos Carneos**. 2012. 36. Seminário (Doutorado) – Universidade Federal De Goiás Escola De Veterinária E Zootecnia Programa De Pós-Graduação Em Ciência Animal. Goiânia, 2012.

OLIVEIRA, A. A. N. **Avaliação da Oxidação Lipídica em Hambúrguer de Carne Bovina Adicionado de Farinha da Casca do Abacaxi (Ananas comosus (L.) Merrill) como Antioxidante Natural**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2018

PAULA, G., DE FARIAS, H., ALI, L. R., RIBEIRO, R., PEREIRA, V., PAIVA, E., ALVES, R., & PEREIRA, M. Desenvolvimento De Uma Formulação Do “Tipo Hambúrguer” De Okara Com Shitake. **Semioses**, 13(1), 33-46, 2019.

PARK, E. Y.; IMAZU, H.; MATSUMURA, Y.; NAKAMURA, Y.; SATO, K. Effects of Peptide Fractions with Different Isoelectric Points from Wheat Gluten Hydrolysates on Lipid Oxidation in Pork Meat Patties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 30, p. 7483-7488, 2012.

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

REAL, C. F.; BASSO, G. O.; ALVES, G.; PASCHOAL, E. C.; SANTOS, I. C.; OTUTUMI, L. K. Uso de antioxidantes naturais em hambúrgueres elaborados com carne mecanicamente separada de aves. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 21, n. 4, 2019.

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

ROSSATO, A. S. **Uso De Antioxidantes Naturais Em Hambúrgueres Preparados Com Carne**. 2010. 89. Dissertação de (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho” Faculdade De Ciências Farmacêuticas. Programa De Pós-Graduação Em Alimentos e Nutrição. Araraquara-SP, 2010.

RUFINO, M. S. M. et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS•+. Embrapa Agroindustrial Tropical: **Comunicado Técnico 128**. Fortaleza - CE. 4p., 2007a.

RUFINO, M. S. M. et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. Embrapa Agroindustrial Tropical: **Comunicado Técnico 127**. Fortaleza – CE. p. 4, 2007b.

RUFINO, M. D. S. M. et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP). **Comunicado Técnico Embrapa**, v. 125, p. 1–4, 2006.

RUFINO, M.S.M; et al. Free radical scavenging behavior of ten exotic tropical fruits extracts. **Food Research International** 44 (2011) 2072–2075.

RUFINO, M. D. S. M., et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 nontraditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry** 121(4), (2010).

SILVA, C.S.M; MOURAO, R.H.V. **Atividade antioxidante de extratos de Myrciaria dubia (camu-camu) Myrtaceae**. Research, Society and Development, v. 11, n. 2, e5811225130, 2022.

SILVA, J.L. *et al.* Effects of Camu-Camu (*Myrciaria dubia*) Powder on the Physicochemical and Kinetic Parameters of Deteriorating Microorganisms and *Salmonella enterica* Subsp. Enterica Serovar Typhimurium in Refrigerated Vacuum-Packed Ground Beef. **Agriculture**.11030252. 2021.

SOUZA, B. A.; PIAS, K. K. S.; BRAZ, N. G.; BEZERRA, A. S. Aditivos alimentares: aspectos tecnológicos e impactos na saúde humana. **Revista Contexto & Saúde**, v. 19, n. 36, p. 5–13, jan/jul. 2019.

SUGUINO, E; DE ARAÚJO, P.S.R; SIMÃO, S. **Cultivo do camu-camu (*Myrciaria dubia*)**. Piracicaba: ESALQ - Divisão de Biblioteca e Documentação, 2001. 37 p: (Série Produtor Rural, 16).

Solis, V.S. *et al.* Evaluación de la actividad antioxidante de la pulpa, cáscara y semilla del fruto del camu camu (*Myrciaria dubia* HBK). **Revista de la sociedad química del Perú** 75 (3), 293-299, 2009.

SCAPIN, G. **Avaliação Da Atividade Antioxidante E Antimicrobiana Do Extrato De Semente De Chia (*Sálvia Hispânica*) E Sua Aplicação Em Linguça Frescal**. 2014. 97. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal De Santa Maria Centro De Ciências Rurais Programa De Pós-Graduação Em Ciência e Tecnologia Dos Alimentos. Santa Maria, 2014.

SHARMA, P; YADAV, S. (2020). Effect of Incorporation of Pomegranate Peel and Bagasse Powder and Their Extracts on Quality Characteristics of Chicken Meat Patties. **Food Science of Animal Resources**, 40(3), 388-400.

TARLADGIS, B. G., WATTS, B. M., YOUNATHAN, M. T; DUGAN-JR, L. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 37, 44–48, 1960.

TIVERON, A. P. **Atividade antioxidante e composição fenólica de legumes e verduras consumidos no Brasil**. 2010. 102. Dissertação de (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2010.

TOVAZI, A. “Onde o camu camu em pó pode ser usado?”[Imagem]. Disponível em: <https://www.bluemacawflora.com.br/camu-camu-em-po-onde-pode-ser-usado/>. Acesso em: 08 ago 2021.

VILLANUEVA-TIBURCIO, JUAN, EDSON; CONDEZO-HOYOS, LUIS, ALBERTO; ASQUIERI, EDUARDO, RAMÍREZ. Antocianinas, ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante, en la cáscara de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K) *McVaugh*). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 30 (Supl.1): 151-160, maio 2010.

YUYAMA, K.; AGUIAR, J. P.; YUYAMA, L. K. O. Camu-camu: um fruto fantástico como fonte de vitamina C. **ACTA AMAZONICA**, v. 32, n. 1, p. 169-174, 2002.

ZAGO, G. R. **Estabilidade oxidativa de linguiça tipo Toscana com extrato liofilizado de casca de romã (*Punica granatum* L.)**. 2018. 120. Dissertação (Mestrado) Programa De Pós-Graduação Em Ciência Tecnologia De Alimentos, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2018.

ZAPATA, J. F. F; et al. Avaliação preliminar do armazenamento em congelamento sobre a qualidade da carne de peito de frangos de dois tipos genéticos. **Brazilian Journal of Food Technology**, 9(3):185-191, 2006.

ZEHIROGLU C, SARIKAYA SB. The importance of antioxidants and place in today's scientific and technological studies. **Journal of Food Science and Technology**, v56, n.11, p.4757-4774, 2019.

ANEXOS

ANEXO A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



Universidade Estadual de Londrina

Projeto: AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DO RESÍDUO DE CAMU-CAMU (*Myrciaria dúbia* (H.B.K) McVaugh) ADICIONADO EM HAMBÚRGUER DE FRANGO'

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Gostaríamos de convidá-lo a participar do projeto de pesquisa " AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DO RESÍDUO DE CAMU-CAMU (*Myrciaria dúbia* (H.B.K) McVaugh) ADICIONADO EM HAMBÚRGUER DE FRANGO" a ser realizada no "Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos". O objetivo do projeto é avaliar o potencial da aplicação de atividade antioxidante e antimicrobiana do resíduo de camu-camu em hambúrguer de carne frango. Camu-camu é um fruto comestível originário da Amazônia, o resíduo de camu-camu foi doado por uma empresa de doces, sendo constituído por casca e semente congelados, que foram desidratados por secagem por congelamento (liofilização). Os ingredientes do hambúrguer serão: coxa e sobrecoxa de frango, gordura animal, proteína isolada de soja, água, sal, camu-camu desidratado, alho em pó, cebola em pó, pimenta branca em pó, em uma das formulações será adicionado o antioxidante comercial eritorbato de sódio, aprovado pela legislação brasileira não apresentando risco para consumidor. Sua participação no teste sensorial é muito importante e ela se dará da seguinte forma: o (a) senhor (a) fará parte da equipe de avaliadores da aceitação e intenção de compra do hambúrguer recém-preparado, inicialmente será solicitado a preencher um questionário de informações pessoais e em seguida irá identificar descrições relacionadas às características sensoriais dos hambúrgueres e avaliar o quanto gostou ou desgostou das amostras apresentadas durante uma sessão de avaliação com duração de no máximo 15 minutos, as avaliações dos hambúrgueres serão realizadas em cabines individuais e as amostras serão servidas em pratos descartáveis brancos, codificados com números de três dígitos, em ordem aleatória, cerca de 10 g de hambúrguer por amostra e acompanhado de um copo de água a temperatura ambiente para enxaguar a boca e biscoito tipo água e sal para ser consumido entre as amostras. Esclarecemos que sua participação é totalmente voluntária, podendo o (a) senhor (a): recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento, sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Esclarecemos, também, que suas informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade. Esclarecemos ainda, que o (a) senhor (a) não pagará e nem será remunerado (a) por sua participação. Garantimos, no entanto, que todas as despesas decorrentes da pesquisa serão ressarcidas, quando devidas e decorrentes especificamente de sua participação. O

benefício esperado é produção de hambúrguer mais saudável com redução no uso de aditivo sintético (antioxidante) e aproveitamento do resíduo de camu-camu diminuindo o descarte ambiental. Os riscos associados à ingestão das formulações de hambúrguer são mínimos, pois se trata de um produto preparado de forma segura e com ingredientes seguros e de uso comum na alimentação humana. Poderá haver alguma fadiga durante os testes, nesse caso, o avaliador será dispensado. Caso ocorra qualquer tipo de desconforto, o avaliador será prontamente atendido e amparado pelo pesquisador responsável. Caso o(a) senhor(a) tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos poderá nos contatar (Prof.a. Dra. Adriana L. Soares DCTA/UEL, cel.: _____, e-mail: adri.soares@uel.br e Iara Eleni de Souza Pereira DCTA/UEL, cel.: _____, e-mail: _____), ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, situado junto ao LABESC – Laboratório Escola, no Campus Universitário, telefone 3371-5455, e-mail: cep268@uel.br. Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas devidamente preenchida, assinada e entregue ao (à) senhor(a).

Londrina, ____ de _____ de 2023.

Iara Eleni de Souza Pereira

Eu, _____ (**NOME POR EXTENSO DO SUJEITO DE PESQUISA**), tendo sido devidamente esclarecido sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em participar **voluntariamente** da pesquisa descrita acima.

Assinatura (ou impressão dactiloscópica): _____

Data: _____

ANEXO B
QUESTIONÁRIO PARA ANÁLISE SENSORIAL

Desejamos formar uma equipe de avaliadores para o projeto " AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DO RESÍDUO DE CAMU-CAMU (*Myrciaria dúbia* (H.B.K) McVaugh) ADICIONADO EM HAMBÚRGUER DE FRANGO". A avaliação sensorial não tomará muito seu tempo e não envolverá nenhuma tarefa difícil., levará em torno de 10 a 15 minutos. Se o (a) Senhor (a) deseja participar da equipe, por favor, preencha este questionário:

1. Gênero: ☐ Feminino ☐ Masculino ☐ Outro _____ ☐ Prefiro não declarar
2. Faixa etária: ☐ 15-25 ☐ 26-35 ☐ 36-50 ☐ acima de 50 anos
3. Escolaridade
☐ Ensino fundamental ☐ Graduação ☐ Ensino médio ☐ Pós-Graduação
4. Já participou de algum teste sensorial? ☐ Sim ☐ Não
De que tipo? ☐ Aceitação ☐ Discriminativo ☐ Descritivo
5. Indique se você possui:
☐ Alguma doença ou está em tratamento médico
☐ Hipertensão (pressão alta)
☐ Diabetes
☐ Hipotensão (pressão baixa)
5. Você se encontra em dieta alimentar por razões de saúde? ☐ Sim ☐ Não
6. Especifique os alimentos que você não pode comer ou beber por razões de saúde

7. Você consome hambúrguer?
☐ Sim ☐ Não
8. Qual tipo de hambúrguer você consome? ☐ Frango ☐ Carne bovina ☐ Vegetal ☐ Outros: _____
9. Indique a frequência de consumo de hambúrguer:
☐ Diariamente
☐ 3 a 4 vezes por semana
☐ 1 a 2 vezes por semana
☐ Raramente (1 vez por mês ou menos)
☐ Nunca

ANEXO C
Formulário para avaliação sensorial

NOME: _____ DATA: ____/____/____

Prove a amostra codificada de hambúrguer de frango e use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou de cada atributo na amostra.

- 9 – Gostei muitíssimo
- 8 – Gostei muito
- 7 – Gostei moderadamente
- 6 – Gostei ligeiramente
- 5 – Nem gostei / nem desgostei
- 4 – Desgostei ligeiramente
- 3 – Desgostei moderadamente
- 2 – Desgostei muito
- 1 – Desgostei muitíssimo

Código da amostra	Aparência	Aroma	Sabor	Textura	Avaliação global

Utilizando a escala abaixo assinale o grau de certeza com que você compraria ou não compraria cada amostra:

- 5 – Certamente compraria o produto;
- 4 – Possivelmente compraria o produto;
- 3 – Talvez compraria/ talvez não compraria o produto;
- 2 – Possivelmente não compraria o produto;
- 1 – Certamente não compraria o produto