

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

VANESSA TANARA FESTCH

**OBTENÇÃO DE EXTRATO DE CAFÉ PARA APLICAÇÃO COMO
ANTIOXIDANTE NATURAL EM LINGUIÇA TOSCANA**

DISSERTAÇÃO

MEDIANEIRA

2021

VANESSA TANARA FETSCH

OBTENÇÃO DE EXTRATO DE CAFÉ PARA APLICAÇÃO COMO ANTIOXIDANTE NATURAL EM LINGUIÇA TOSCANA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Câmpus Medianeira/ Campo Mourão, como parte dos pré-requisitos para obtenção do título de mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Marinês Paula Corso
Co-orientadora: Dra. Daneysa Lahis Kalschne

MEDIANEIRA

2021



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite que outros remixem, adaptem e criem a partir do seu trabalho para fins não comerciais, desde que atribuam o devido crédito e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



**Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Medianeira**



VANESSA TANARA FETSCH

**OBTENÇÃO DE EXTRATO DE CAFÉ PARA APLICAÇÃO COMO ANTIOXIDANTE NATURAL EM LINGUIÇA
TOSCANA**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestra Em Tecnologia De Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Tecnologia De Alimentos.

Data de aprovação: 08 de Setembro de 2021

Prof.a Marines Paula Corso, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.a Marta Toledo Benassi, Doutorado - Universidade Estadual de Londrina (Uel)

Prof.a Rosana Aparecida Da Silva Buzanello, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 08/09/2021.

“A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa”

AGRADECIMENTOS

A Profa. Dra. Marinês P. Corso, pela valiosa orientação, obrigada pela dedicação e todo conhecimento compartilhado.

A Profa. Dra. Daneysa L. Kalschne pela atenção e contribuições importantes durante o desenvolvimento do trabalho.

As Profas. Dras. Cristiane Canan e Rosana Buzanello por todo o auxílio e conhecimento compartilhado.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação da UTFPR, pela dedicação e conhecimento transmitidos.

A todos os colegas e companheiros de laboratório que compartilharam conhecimento e experiência.

A Cia Iguaçu de Café Solúvel pelo fornecimento de matéria-prima para realização do trabalho.

A Conditec, pelo fornecimento de insumos para realização do trabalho.

A Frimesa Cooperativa Central pelo fornecimento da matéria-prima carne para a realização do trabalho.

Ao Laboratório Multiusuário Central Analítica do Campus Toledo (LABCA) e do Campus Medianeira (CEANMED), da Universidade Tecnológica Federal do Paraná pelo suporte.

Aos membros participantes da banca pelo tempo empregado na análise, críticas e sugestões para aperfeiçoamento deste trabalho.

As bolsistas Juliana Castioni e Luana Klein pela ajuda na realização da parte experimental.

A minha mãe Lourdes e toda minha família, agradeço pelo apoio e suporte.

Ao meu namorado Fábio, a todos os meus amigos, sobretudo aos amigos Fernando, Kelly, Beatriz e Gabriele que sempre estiveram ao meu lado, me apoiando e tornando este período mais leve e alegre, muito obrigada.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a UTFPR (Edital PROPPG N° 07/2020 – PAPCDT - E4K2020090000200 e Edital PROPPG N° 07/2021 – PAPCDT - E3K2021020000146) pelo apoio financeiro.

Dedico este trabalho à minha mãe, que sempre foi o alicerce da minha vida e a todos os profissionais que se dedicam a educação e a ciência.

RESUMO

FETSCH, Vanessa T. **Obtenção de extrato de café para aplicação como antioxidante natural em linguiça toscana.** 2021. 113f. Dissertação (Mestrado Tecnologia de Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira, 2021.

Produtos cárneos são altamente suscetíveis a oxidação, industrialmente controlada por antioxidantes sintéticos. Devido ao crescente interesse por alimentos mais saudáveis, a demanda por alternativas naturais vem aumentando. O café é rico em compostos antioxidantes, o que o torna uma possível opção ao uso de antioxidantes sintéticos. Este estudo objetivou avaliar a eficiência de extratos de café como antioxidante natural em linguiça toscana. Inicialmente, avaliou-se o uso da extração por agitação em shaker e assistida por ultrassom (banho e sonda indireta) em diferentes temperaturas (30 a 80 °C) empregando-se água e solução etanólica 30% como solvente. Maiores valores de atividade antioxidante foram obtidos em banho ultrassom a 70 °C com solução etanólica 30% ($p < 0,05$). Posteriormente, foi empregado um Delineamento Composto Central Rotacional 2^3 com as variáveis independentes: (x_1) tempo de extração (1,6 a 18,4 min); (x_2) proporção etanol/água (21,6 a 38,4% de etanol); e (x_3) razão amostra/solvente (g ml^{-1}) (1,6/100 a 18,4/100). Os ensaios foram conduzidos em um banho ultrassom na temperatura de 70 °C. As variáveis respostas estudadas foram teores de compostos escuros, ácidos clorogênicos, ácido cafeoilquínico e cafeína, atividade redutora e atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS+•. Com exceção do DPPH, foram obtidos modelos válidos ($p \leq 0,05$), com coeficiente de determinação $> 0,751$. Verificou-se que um maior teor de bioativos e uma maior atividade antioxidante, podem ser obtidos na região do ponto central com otimização das respostas nas condições de 14,2 min, proporção de etanol/água de 34,2% e razão amostra/solvente (g ml^{-1}) de 5,8/100. Utilizando parâmetros do ponto central e otimizados, caracterizou-se amostras *Coffea canephora* e *Coffea arabica* (verde e torra média), a fim de avaliar quais apresentavam extratos com maiores teores de bioativos e capacidade antioxidante. Os extratos com maior atividade antioxidante, nos parâmetros utilizados foram os da espécie *Coffea canephora* verde e torrado, os quais foram secos em *spray dryer* e aplicados a uma formulação padrão de linguiça toscana em duas concentrações, 0,32 e 1% e comparados a uma amostra com antioxidante eritorbato de sódio. As amostras foram avaliadas quanto a composição centesimal e qualidade microbiológica exigidas pela legislação. Nos tempos 0, 10, 20 e 30 dias, foram avaliadas medida instrumental de cor, perfil de textura (TPA), formação de metamioglobina e oxidação lipídica das amostras. Os parâmetros cor, TPA e formação de metamioglobina, não apresentaram alterações significativas ($p \leq 0,05$) ao longo do tempo para nenhuma das amostras, enquanto para a formação de malonaldeído, só houve um aumento significativo ao final da vida útil das amostras, sendo superior para as amostras com 0,32% de extrato de café. Na avaliação sensorial de escala hedônica, a amostra com 0,32% de café verde apresentou uma aceitação semelhante ao padrão enquanto as demais foram significativamente menos aceitas, mas com exceção da amostra com 1% de extrato de café torrado as demais apresentaram notas acima de 7 em uma escala de 9 pontos. Portanto, o extrato de café é um ótimo substituto como antioxidante para a linguiça toscana e possivelmente para outros produtos cárneos.

Palavras-chave: produto cárneo; *Coffea canephora*; *Coffea arabica*; delineamento composto central rotacional; aceitação Sensorial.

ABSTRACT

FETSCH, Vanessa T. **Obtaining coffee extract for application as a natural antioxidant in Tuscan sausage**, 2021. 113f. Project (Master's Degree) - Post-Graduate Program in Food Technology, Federal Technological University of Paraná. Medianeira, 2021.

Meat products are highly susceptible to oxidation, industrially controlled by synthetic antioxidants. Due to the growing interest of consumers for healthier foods, the demand for natural alternatives is increasing. Coffee is rich in antioxidant compounds, which makes it a possible option to use synthetic antioxidants. This study aimed to evaluate the efficiency of coffee extracts as a natural antioxidant in Tuscan sausage. Initially, the use of extraction by shaking in a shaker and assisted by ultrasound (bath and indirect probe) at different temperatures (30 to 80 °C) using water and 30% ethanol solution as solvent was evaluated. Higher antioxidant activity values were obtained in an ultrasound bath at 70 °C using 30% ethanol solution ($p < 0.05$). Subsequently, a Central Composite Rotational Design 2^3 was used with the independent variables: (x_1) extraction time (1.6 to 18.4 min); (x_2) ethanol/water ratio (21.6 to 38.4% ethanol); and (x_3) sample/solvent ratio (g ml^{-1}) (1.6/100 to 18.4/100). The tests were carried out in an ultrasound bath at 70 °C. The response variables studied were the levels of dark compounds, total phenolics, chlorogenic acids, caffeoylquinic acid and caffeine, in addition to the antioxidant activity by the DPPH and ABTS+• methods. Except for the DPPH, valid models ($p \leq 0.05$) were obtained, with a coefficient of determination > 0.751 . It was found that a higher content of bioactives and, consequently, a higher antioxidant activity, can be obtained in the central point region with optimization of responses under the conditions of 14.2 min, ethanol/water ratio of 34.2% and ratio sample/solvent (g ml^{-1}) of 5.8/100. Using central point and optimized parameters, *Coffea canephora* and *Coffea arabica* (green and medium roast) were characterized in order to evaluate which ones presented extracts with higher contents of bioactives and antioxidant capacity. The extracts with the highest antioxidant activity, in the parameters used, were the green and roasted *Coffea canephora* species, which were dried in a spray dryer and applied to a standard formulation of Tuscan sausage at two concentrations, 0.32 and 1%, and compared to one sample with sodium erythorbate antioxidant. These samples were evaluated for approximate composition and microbiological quality required by law. At times 0, 10, 20 and 30 days, instrumental color measurement, texture profile analysis (TPA), metmyoglobin formation and lipid oxidation of the samples were evaluated. The parameters color, TPA and metmyoglobin formation did not show significant changes ($p \leq 0.05$) over time for any of the samples, while for the formation of malonaldehyde, there was only a significant increase at the end of the shelf life of samples, being superior for the samples with 0.32% coffee extract. In the sensory evaluation of the hedonic scale, the sample with 0.32% green coffee proved an acceptance like the standard, while the others were significantly less accepted, but with the exception of the sample with 1% roasted coffee extract, the others had scores above 7 on a 9-point scale. Finally, coffee extract was found to be a great substitute as an antioxidant for Tuscan sausage and possibly other meat products.

Keywords: meat product; *Coffea canephora*; *Coffea arabica*; composite central rotational design; sensory acceptance.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Mecanismo de autoxidação.	26
Figura 2 - Reação do teste de avaliação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.	27
Figura 3 - Mecanismo de ação dos antioxidantes primários.	30
Figura 4 - Reação entre o antioxidante BHT e o radical DPPH•.	38
Figura 5 - Reação do antioxidante ácido gálico com molibdênio, componente do reagente de Folin-Ciocalteu.	39
Figura 6 - Amostras de cafês <i>C. arabica</i> verde (a) e torra média (b) e <i>C. canephora</i> verde (c) e torra média (d).	46
Figura 7 - a) Extração sólido-líquido em Banho Ultrassônico; b) Extração sólido-líquido em Incubadora Shaker; c) Extração em Processador Ultrassônico.	47
Figura 8 - Fluxograma do processo de preparo das amostras de linguiça toscana.	58
Figura 9 - Ficha de avaliação do teste de escala Hedônica.	62
Figura 10 - Superfície de contorno para avaliação do rendimento dos compostos escuros	74
Figura 11 - Superfície de contorno para avaliação do rendimento do teor de cafeína.	75
Figura 12 - Superfície de contorno para avaliação do rendimento do teor de 5-ACQ.	76
Figura 13 - Superfície de contorno para avaliação do rendimento do teor estimado de ácidos clorogênicos.	77
Figura 14 - Superfície de contorno para avaliação da atividade redutora.	78
Figura 15 - Superfície de contorno para avaliação do rendimento da atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS+•.	79
Figura 16 - Perfil dos valores previstos/otimizados e da desejabilidade.	80
Figura 17 - Superfícies de contorno para a função desejabilidade.	82
Figura 18 - Extratos de café canéfora, verde e torra média, secos em <i>spray dryer</i>	85
Figura 19 - Aspecto da massa e das linguiças padrão e com extratos de cafés, tempo 0.	87
Figura 20 - Diagrama do espaço de cor CIELAB.	89
Figura 21 - Aspecto visual das amostras de linguiça toscana ao longo da vida útil, 10, 20 e 30 dias.	90
Figura 22 - Aspecto das amostras de linguiça após assadas.	96

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Padrões Microbiológicos para linguiça toscana.	23
Tabela 2 - Formulações base para 10 kg de linguiça toscana crua.	57
Tabela 3 - Resultado da análise granulométrica da amostra de café comercial.	63
Tabela 4 – Influência da temperatura e do método de extração no teor de compostos bioativos e atividade antioxidante utilizando água como solvente.	64
Tabela 5 - Influência da temperatura, do solvente e do método no teor de compostos bioativos e atividade antioxidante dos extratos obtidos a partir de diferentes condições de extração....	66
Tabela 6 - Compostos bioativos e atividade antioxidantes em extratos de café arábica obtidos por extração hidroalcolica assistida por ultrassom utilizando um delineamento central composto rotacional 2 ³ com triplicata no ponto central.....	69
Tabela 7 - Sólidos solúveis.	70
Tabela 8 - Efeitos estimados para as variáveis resposta do rendimento do processo.....	70
Tabela 9 - Análise de variância dos modelos.	72
Tabela 10 - Modelos quadráticos do DCCR para a predição das variáveis respostas.....	73
Tabela 11 - Resultados preditos e experimentais obtidos nas condições de ponto ótimo de processo e repetição do ponto central.....	83
Tabela 12 - Medida instrumental de cor e umidade das diferentes amostras de café.....	83
Tabela 13 - Caracterização dos diferentes tipos de café, quanto ao teor de compostos bioativos e atividade redutora e quanto a atividade antioxidante avaliada pelos métodos DPPH e ABTS.	84
Tabela 14 - comparação entre os extratos de café secos e eritorbato de sódio.....	86
Tabela 15 - Composição centesimal das amostras.	87
Tabela 16 - Valores de cor para os parâmetros luminosidade L*, a* (vermelho/ verde) e b* (amarelo/ azul) para as formulações de linguiça toscana com extrato de café e com antioxidante sintético, para amostras cruas e assadas.	88
Tabela 17 - Análise de perfil de textura das amostras de linguiça durante a vida útil de 30 dias.	92
Tabela 18 - Resultado da análise de TBARS (mg de TBARS kg ⁻¹ de amostra) para as amostras de linguiça toscana com extrato de café como antioxidante e com eritorbato de sódio durante a vida útil de 30 dias.....	93

Tabela 19 - Resultados de formação de metamioglobina (%) para as linguiças toscanas com extrato de café e com eritorbato de sódio durante a vida útil de 30 dias.....	95
Tabela 20 - Resultados da avaliação sensorial por meio do teste de escala hedônica.....	97
Tabela 21 - Índice de aceitabilidade para as diferentes amostras de linguiça analisadaas.	97
Tabela 22 - Respostas dos ensaios estudados no DCCR considerando os sólidos solúveis....	111

LISTA DE SIGLAS E ACRÔNIMOS

AA	Atividade antioxidante
Ab	Absorbância
ABTS	2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico
ACGs	Ácidos clorogênicos
ANOVA	Análise de variância
ATC	Café arábica torrado com extração no ponto central
ATO	Café arábica torrado com extração no ponto ótimo
AVC	Café arábica verde com extração no ponto central
AVO	Café arábica verde com extração no ponto ótimo
A525	Absorbância a 525 nm
A572	Absorbância a 572 nm
A700	Absorbância a 700 nm
5-ACQ	Ácido cafeoilquínico
b.s.	base seca
BHA	Hidroxianisol butilado
BHT	Hidroxitolueno butilado
CTC	Café conilon torrado com extração no ponto central
CTO	Café conilon torrado com extração no ponto ótimo
CT0,32%	Linguiça toscana com 0,32% de extrato de café canéfora torra média
CT1%	Linguiça toscana com 1% de extrato de café canéfora torra média
CVC	Café conilon verde com extração no ponto central
CVO	Café conilon verde com extração no ponto ótimo
CV0,32%	Linguiça toscana com 0,32% de extrato de café canéfora verde
CV1%	Linguiça toscana com 1% de extrato de café canéfora verde
DCCR	Delineamento Composto Central Rotacional
DPPH	(2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)
EAG	Equivalente ao Ácido Gálico
EqTrolox	Equivalente ao Trolox
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
FP	Formulação de linguiça padrão com eritorbato de sódio
FECV1	Formulação de linguiça com 0,32 % de extrato de café verde

FECT1	Formulação de linguiça com 0,32 % de extrato de café torrado
FECV2	Formulação de linguiça com 1 % de extrato de café verde
FECT2	Formulação de linguiça com 1 % de extrato de café torrado
IA	Inibição da atividade do radical livre
MDA	Malonaldeídos
MetMb	Metamioglobina
OxyMb	Oximioglobina
P	Linguiça toscana padrão (com eritorbato de sódio)
PG	Propil Galato
PRMs	Produtos da reação de Maillard
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
ROS	Substâncias Reativas ao Oxigênio
RTIQ	Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade
TBA	Ácido Tiobarbitúrico
TBARS	Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
TBHQ	Terc-butilhidroquinona
TEP	1,1,3,3-tetraetoxipropano
UA	Unidade Arbitrária
UV	Ultra Violeta
Vis	Visível

LISTA DE SÍMBOLOS

RH	Ácido graxo insaturado
Y ₃	Ácido 5 – cafeoilquínico
Y ₇	Atividade antioxidante pela captura do radical livre DPPH
Y ₆	Atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS+•
Y ₂	Cafeína
cm	Centímetro
Y ₄	Clorogênicos totais
[(PMoW ₁₁ O ₄) ⁴⁻]	Complexos molibdênio-tungstênio
Y ₁	Compostos escuros
R ²	Coefficiente de determinação
R ² -adj	Coefficiente de determinação ajustado
β _{ij}	Coefficientes de interação entre as variáveis
β _i	Coefficientes lineares estimados
β _{ii}	Coefficientes quadráticos estimados
b*	Coordenada amarelo/ azul
a*	Coordenada vermelho/ verde
<i>di</i>	Desejabilidade
<i>d</i>	Desejabilidade global
CO ₂	Dióxido de carbono
ROOR ou RR	Espécies não radicais
Y ₅	Atividade redutora
g	Grama
°C	Graus celsius
ROOH	Hidroperóxidos lipídicos
COH	Hidroxila
h	Hora
Fe ²⁺	Íon ferroso
L	Litro
L*	Luminosidade
m v ⁻¹	Massa por volume
m	Metro

μ	Micro
mL	Mililitro
mm	Milimetro
min	Minuto
M	Mol
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Molibdato de sódio dihidratado
CO	Monóxido de carbono
nm	Nanômetro
N	Newton
k	Número de respostas
O_2	Oxigênio
$^1\text{O}_2$	Oxigênio singleto
$^3\text{O}_2$	Oxigênio tripleto
COOH	Peróxido de alquila
X_2	Proporção etanol/água
KDa	Quilodalton
Kg	Quilograma
kHz	Quilohertz
CO•	Radical alcoxi
C•	Radical centrado no carbono
R•	Radical livre
ROO•	Radicais peroxil
COO•	Radical peróxido de alquil
X_3	Razão amostra/solvente
RPM	Rotação por minuto
X_1	Tempo de extração
UA	Unidade arbitrária
v	Volume
W	Watts

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 OBJETIVOS.....	19
2.1 Objetivo Geral.....	19
2.2 Objetivos Específicos	19
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
3.1 Carne Suína.....	21
3.1.1 Composição da Carne Suína.....	22
3.1.2 Linguiça Toscana.....	22
3.2 Oxidação Em Carnes.....	24
3.2.1 Oxidação Lipídica.....	24
3.2.2 Análise de Oxidação Lipídica Através da Avaliação das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico – TBARS	27
3.2.3 Oxidação Proteica	28
3.3 Antioxidantes.....	29
3.4 Café	32
3.4.1 Café Verde	34
3.4.2 Café Torrado	34
3.4.3 Propriedades Antioxidantes do Café	36
3.5 Metodologias Para Avaliar A Capacidade Antioxidante.....	37
3.5.1 Método DPPH.....	37
3.5.2 Método Folin-Ciocalteu	38
3.5.3 Atividade Doadora De Íons Hidrogênio Ao Radical ABTS• ⁺	39
3.6 Extração de Antioxidantes Naturais	40
3.6.1 Métodos de Extração	41
4 MATERIAIS E MÉTODOS	44

4.1 Reagentes	44
4.2 Caracterização da Amostra	45
4.3 Testes Preliminares de Extração de Compostos Bioativos de Café por Diferentes Processos e Solventes	46
4.3.1 Tratamento dos Dados	48
4.4 Otimização dos Parâmetros de Extração	49
4.4.1 Análise de Dados do DCCR	49
4.4.3 Validação Experimental.....	50
4.5 AVALIAÇÃO DE EXTRATOS DE CAFÉ OBTIDOS A PARTIR DE DIFERENTES AMOSTRAS DE CAFÉ NA CONDIÇÃO OTIMIZADA.....	50
4.5.1 Tratamento dos Dados	51
4.6. Secagem dos extratos de Café Selecionado a partir dos melhores resultados de atividade antioxidante	51
4.7. Definição da concentração de antioxidante natural	52
4.8 Determinações Analíticas de Compostos Bioativos e Atividade Antioxidantes dos Extratos	52
4.8.1 Determinação de Compostos Escuros	52
4.8.2 Determinação de Ácido 5-Cafeilquínico, Cafeína e Estimativa do Conteúdo de Ácidos Clorogênicos	53
4.8.3 Determinação de Atividade redutora	54
4.8.4 Determinação da Atividade Doadora de Íons Hidrogênio ao Radical ABTS• ⁺	55
4.8.5 Determinação da Atividade Antioxidante Pela Captura Do Radical Livre DPPH•.....	55
4.9 Aplicação Dos Extratos De Café Como Antioxidantes Naturais Em Linguiça Toscana	56
4.10 Avaliação instrumental e físico química dos produtos elaborados	58
4.10.1 Composição centesimal	58
4.10.2 Medida instrumental de cor	59
4.10.3 Análise do Perfil de Textura	59

4.10.5 Porcentagem de formação de metamioglobina.....	59
4.10.4 Medida de oxidação lipídica.....	60
4.11 Avaliação sensorial dos produtos elaborados.....	61
4.11.1 Análise de dados.....	62
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	63
5.1 AVALIAÇÃO DO PROCESSO E DO TIPO DE SOLVENTE PARA OBTENÇÃO DE EXTRATOS DE CAFÉ.....	63
5.2 OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES.....	68
5.3 Caracterização de Diferentes Amostras de Café.....	83
5.4 Aplicação Dos Extratos De Café Como Antioxidantes Naturais Em Linguça Toscana.....	86
5.4.1 Composição centesimal.....	86
5.4.2 Medida instrumental de cor.....	87
5.4.3 Análise do Perfil de Textura.....	91
5.4.4 Medida de oxidação lipídica.....	93
5.4.5 Porcentagem de formação de metamioglobina.....	94
5.4.6 Análise Sensorial.....	95
6 CONCLUSÃO.....	100
REFERÊNCIAS.....	101
APÊNDICE A - Questionário de avaliação do perfil do avaliador.....	108
APÊNDICE B - Respostas dos ensaios estudados no DCCR considerando os sólidos solúveis.....	110
ANEXO A – Parecer consubstanciado da Comissão de Ética em Pesquisa.....	112

1 INTRODUÇÃO

A carne é um alimento tradicional consumido em todo o mundo desde a antiguidade, seu alto consumo está relacionado principalmente ao seu grande valor nutritivo, pois fornece proteínas, gordura, minerais, vitaminas e muitos outros micronutrientes (JIANG; XIONG, 2016).

Carne *in natura* e produtos à base de carne são muito suscetíveis a mudanças oxidativas, sendo o nível de susceptibilidade dependente da composição, principalmente do conteúdo de gordura, corte, processamento, armazenamento e embalagem (SHAHIDI, 2016). A oxidação de lipídios e proteínas é responsável por uma série de modificações indesejadas durante o armazenamento de carnes, levando a alterações do sabor, cor, textura e valor nutricional, além de levar a formação de compostos potencialmente tóxicos (ESTÉVEZ, 2017; ESTÉVEZ; LORENZO, 2019; SHAH; BOSCO; MIR, 2014).

Diversos métodos foram desenvolvidos para diminuir a taxa de oxidação em alimentos, sendo a adição de antioxidantes considerada um dos mais eficientes. Esses aditivos alimentares possuem propriedades únicas que prolongam o prazo de validade dos produtos, sem qualquer efeito adverso nas suas qualidades sensoriais ou nutricionais (ESTÉVEZ; LORENZO, 2019; SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

Os antioxidantes podem ser de origem natural ou sintética, sendo que os sintéticos mais comumente utilizados são hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), terc-butilhidroquinona (TBHQ), eritorbato de sódio e o Propil Galato (PG) (SHAH; BOSCO; MIR, 2014; SHAHIDI, 2016; SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

No Brasil, o uso de aditivos com função antioxidante em produtos cárneos é regulamentado pela legislação, que limita o uso a no máximo 0,01g/ 100g de produto para o BHT, BHA e PG, os demais antioxidantes como o eritorbato de sódio, por exemplo, não apresentam limite máximo (BRASIL, 2019a).

Embora os antioxidantes sintéticos já tenham sido amplamente utilizados, a demanda por antioxidantes naturais é crescente, devido principalmente ao crescente desejo dos consumidores por alimentos mais naturais, livres de conservantes químicos e, portanto, considerados mais saudáveis (PATEIRO et al., 2018; SHAH; BOSCO; MIR, 2014). Com o objetivo de suprir essa demanda, diversas pesquisas buscando diferentes fontes de antioxidantes naturais, mais eficientes e viáveis economicamente, vêm sendo realizadas. Entre os diversos extratos vegetais que estão tendo sua atividade antioxidante avaliada em produtos cárneos estão,

por exemplo, sementes de uva, chá verde, casca de pinheiro, alecrim, romã, urtiga, canela (SHAH; BOSCO; MIR, 2014), folhas de cerejeira, groselha preta (NOWAK et al., 2016), sementes de guaraná (PATEIRO et al., 2018), castanhas, algas marinhas (LORENZO et al., 2014) e o café, que apesar de possuir a atividade antioxidante reconhecida, ainda têm poucos estudos que abordam sua aplicação como antioxidante em produtos cárneos (DILNAWAZ; KUMAR; BHAT, 2017a; JULLY; TOTO; WERE, 2016; LIN; TOTO; WERE, 2015; NISSEN et al., 2004; VALENCIA et al., 2008). Tomović et al., (2017) citam 52 estudos publicados entre 2002 e 2017 sobre a aplicação prática de materiais vegetais, especificamente, em produtos cárneos, mas dentre estes apenas um com extrato de café (NISSEN et al., 2004).

O café é uma das bebidas mais consumidas no mundo e uma rica fonte de antioxidantes devido à presença de compostos ativos, como cafeína, ácidos clorogênicos (ACGs), ácido nicotínico, trigonelina, cafestol e caveol, sendo a capacidade antioxidante afetada pelas condições de processamento pós-colheita, secagem, armazenamento, processo de torra (o qual pode ou não ser realizado) e moagem, pelo método de extração (KOMES; BUŠIĆ, 2014) e pela espécie de café, sendo as espécies arábica e canéfora as mais cultivadas. Apesar de extratos de café apresentarem diferentes composições de compostos bioativos, no geral sempre apresentam-se como potenciais agentes antioxidantes (DUANGJAI et al., 2016; LIN; TOTO; WERE, 2015; VIGNOLI et al., 2014).

A metodologia de extração para obter os antioxidantes é de grande importância, pois afeta a concentração e natureza dos compostos bioativos presentes no extrato antioxidante (LORENZO et al., 2019; YAHYA; ATTAN; WAHAB, 2018). Há uma variedade de métodos de extração que podem ser utilizados, entre os mais comuns estão extração de Soxhlet, extração sólido-líquido e líquido-líquido, porém esses métodos estão associados a um maior risco de degradação térmica, maior consumo de solvente e maior tempo de extração dos componentes termolábeis (KUMAR et al., 2015; SHAH; BOSCO; MIR, 2014). Para obter uma extração com maior rendimento, menor degradação dos compostos bioativos e menor custo, outros métodos de extração estão sendo estudados, dos quais pode-se destacar a extração assistida por ultrassom. Esta técnica apresenta bons resultados com tempo reduzido de extração e menor volume de solvente em relação a outros métodos (IRAKLI; CHATZOPOULOU; EKATERINIADOU, 2018; VINATORU; MASON; CALINESCU, 2017; WEN et al., 2019).

Entre os solventes utilizados estão os solventes orgânicos como etanol, acetona, acetato de etila, hexano, isopropanol, éter de petróleo e metanol (BRAVO et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2019; PAGE; ARRUDA; FREITAS, 2017; YAHYA; ATTAN; WAHAB, 2018), com destaque para o etanol, de menor custo, baixo impacto ambiental e que já foi utilizado com

sucesso (KIM et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2019). O uso de solventes orgânicos em geral mostra-se mais eficaz, entretanto apresenta desvantagens, como dificuldade de remoção dos resíduos de solventes dos materiais extraídos, além de problemas relacionados à saúde, se não forem removidos completamente, o que torna o uso de água como solvente uma alternativa mais atraente (KUMAR et al., 2015).

Deste modo, compreendendo que o método de extração e o solvente utilizado influenciam diretamente na composição do extrato bioativo obtido e tendo em vista que a aplicação industrial de extratos vegetais com efeito antioxidante ainda é distante devido aos dados limitados sobre os seus efeitos em diferentes produtos cárneos, novos estudos são necessários (KUMAR et al., 2015). Além disso, carnes processadas com temperos e ervas ricos em fenóis podem ter sua textura alterada, como foi demonstrado por Cao e Xiong (2015), que constataram que a adição de $150 \mu\text{mol g}^{-1}$ de ácidos clorogênicos influenciou as mudanças induzidas pela oxidação nas propriedades de gelificação da proteína miofibrilar, o que justifica a importância de estudos correlacionando a verificação do potencial antioxidante dos materiais às propriedades sensoriais do produto elaborado (TOMOVIĆ et al., 2017).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Obter um extrato de café com alto teor de compostos bioativos e atividade antioxidante, otimizando as condições de extração e aplicar o extrato obtido em linguiça Toscana, avaliando sua eficiência como antioxidante natural e aceitação sensorial do produto cárneo comparado a ação de um antioxidante sintético.

2.2 Objetivos Específicos

- Comparar a obtenção de extratos antioxidantes de café arábica via extração assistida por ultrassom e extração sólido-líquido convencional, avaliando os teores de cafeína, 5-ACQ, clorogênicos totais e compostos escuros (melanoidinas), determinação da capacidade redutora (método de Folin-Ciocalteu) e atividade antioxidante pela atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS⁺• e atividade antioxidante pela Captura do Radical Livre DPPH•;
- Avaliar, entre água e uma mistura 70% água e 30% etanol, qual a melhor opção como solvente para a obtenção dos maiores teores dos compostos bioativos mencionados e maior atividade antioxidante.
- Otimizar o processo de extração (tempo de extração, solvente e razão amostra/solvente), via Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR);
- Caracterizar extratos de café arábica e canéfora, verde e de torra média obtidos nas condições otimizadas quanto à presença dos principais bioativos antioxidantes;
- Caracterizar diferentes extratos de café arábica e canéfora, verde e de torra média, obtidos nas condições otimizadas quanto à atividade antioxidante, por meio da análise do teor de atividade redutora, atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS⁺• e atividade antioxidante pela Captura do Radical Livre DPPH•;
- Avaliar a composição centesimal dos produtos elaborados;

- Avaliar a estabilidade oxidativa dos produtos adicionados de extrato de café durante a vida útil do produto por meio das análises das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) e formação de metamioglobina;
- Avaliar nos produtos elaborados o efeito dos extratos de café empregados sobre as características de cor e perfil de textura por métodos instrumentais;
- Avaliar a influência dos extratos de café na aceitação sensorial dos atributos cor, aroma, textura, sabor, aceitação global dos produtos elaborados empregando o teste de escala hedônica e intenção de compra, comparado com uma amostra controle (elaborada com antioxidante sintético).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Carne Suína

Segundo a *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO) a carne suína é a segunda carne de animal mais consumida do mundo. Em 2019 a carne suína respondeu por 32,49% de toda a proteína animal consumida no mundo, contra 39,31% de aves e 21,41% da carne bovina (FAO, 2020).

A demanda por carne suína tem aumentado nas últimas décadas devido a mudanças nos padrões de consumo, relacionadas principalmente com o crescimento do poder aquisitivo da população dos países em desenvolvimento. Juntamente com as aves, o setor de suínos é o subsetor pecuário que mais cresce. A produção de suínos é global, com exceção de regiões com reservas culturais e religiosas (FAO, 2019).

A produção mundial é dominada pela China, que em 2020 produziu 38.000 milhões de toneladas, seguida pela União Europeia (24.000 milhões de toneladas) e pelo Estados Unidos (12.841 milhões de toneladas), o Brasil ocupa o 4º lugar na lista de produção (ABPA, 2021).

No Brasil a produção anual vem aumentando continuamente, chegando a 4,436 milhões de toneladas em 2020, quando 77% da produção foi destinada para o mercado interno e 23% para o externo, tendo o consumo aumentado de 14,1 kg/ habitante em 2007 para 16,0 kg/ habitante em 2020. O abate de suínos no Brasil é predominante na região sul, sendo os três maiores produtores, Santa Catarina (30,73%), Paraná (21,10%) e Rio Grande do Sul (19,08%) (ABPA, 2021).

A qualidade da carne suína determina o seu sucesso no mercado, a qualidade tecnológica pode ser determinada por raça, genótipo, manejo de pré-abate, atordoamento e método de abate, enquanto os atributos de qualidade (teor de gordura, estabilidade oxidativa e uniformidade) são afetados pelo genótipo e estratégia de alimentação. Outras características-chave, como capacidade de retenção de água e cor, podem ser definidas por todos esses fatores (KEENAN, 2015). O controle desses fatores durante produção e industrialização garante a qualidade e atrai os consumidores, que de acordo com a EMBRAPA (2002) atrelam a percepção de qualidade à coloração viva, maciez, frescor e odor.

3.1.1 Composição da Carne Suína

Não é possível definir uma composição química exata para as carnes, já que fatores como espécie, raça, sexo, tipo de alimentação e até o corte ou músculo analisado influenciam intensamente nessa característica (PEREDA, 2005). A composição de carnes, em geral, é de 60 a 80% de água e 15 a 25% de proteína, sendo o restante constituído principalmente por lipídios, sais minerais, pigmentos e vitaminas (EMBRAPA, 2002).

A carne suína, importante em muitas dietas tradicionais, traz diversos benefícios a nutrição humana, pois possui em sua constituição alto teor de proteína e de aminoácidos essenciais. A gordura da carne suína, seja intramuscular ou da camada de gordura, é também uma alta fonte de energia (FAO, 2019). Segundo dados da ABPA (2021) a maioria da população brasileira já reconhece a carne suína como proteína saudável, devido ao rigoroso controle sanitário existente atualmente.

Em termos de micronutrientes, a carne suína é uma fonte de minerais, como fósforo, selênio, sódio, zinco, potássio, cobre, ferro e magnésio, também fornece vitaminas B6, B12, tiamina, niacina, riboflavina e ácido pantotênico, que são benéficos para o crescimento saudável e desenvolvimento em crianças e para as constituições de adultos (FAO, 2019).

Além do seu valor nutritivo, a carne tem outros atributos valiosos, como características sensoriais de aparência, textura, sabor e odor que são atraentes a maioria dos consumidores (EMBRAPA, 2002). Apesar de seus atributos interessantes, diferentemente de outros países, no Brasil a carne suína é consumida principalmente na forma industrializada, dados de 2015 mostraram que 89% da carne suína consumida no Brasil foi na forma industrializada, contra apenas 11% *in natura* (ABPA, 2015), dentre os industrializados de carne suína consumidos pelos brasileiros está a linguiça toscana.

3.1.2 Linguiça Toscana

Linguiças frescas estão entre os produtos de carne processada mais comuns em todo o mundo (SILVEIRA et al., 2014). O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) brasileiro define que, “Entende-se por Linguiça o produto cárneo industrializado, obtido de carnes de animais de açougue, adicionados ou não de tecidos adiposos, ingredientes, embutido

em envoltório natural ou artificial, e submetido ao processo tecnológico adequado” (BRASIL, 2000).

As linguiças são classificadas de acordo com a tecnologia de fabricação e composição da matéria-prima, sendo a linguiça toscana caracterizada como, “produto cru e curado obtido exclusivamente de carnes suína, adicionada de gordura suína e ingredientes” (BRASIL, 2000). O RTIQ define ainda os padrões físico-químicos aceitos para as linguiças frescas. Os limites definidos para os parâmetros físico-químico são, máximo de 70% de umidade, máximo de 30% de gordura, mínimo de 12% de proteína e máximo de 0,1% de cálcio em base seca (b. s.) (BRASIL, 2000).

No Brasil os padrões microbiológicos para alimentos são estabelecidos pela Instrução Normativa nº 60 e RDC nº 331 (BRASIL, 2019b; BRASIL, 2019c). Os padrões para a linguiça toscana são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1- Padrões Microbiológicos para linguiça toscana.

Micro-organismo	n	c	m	M
<i>Salmonella</i> /25g,	5	1	Ausência	-
<i>Escherichia coli</i> /g,	5	3	10 ²	10 ³
Aeróbios mesófilos/g	5	3	10 ⁵	10 ⁶

m: limite microbiológico que, em um plano de três classes, separa unidades amostrais de "Qualidade Aceitável" daquelas de "Qualidade Intermediária" e que, em um plano de duas classes, separa unidades amostrais de "Qualidade Aceitável" daquelas de "Qualidade Inaceitável"; M: limite microbiológico que, em um plano de três classes, separa unidades amostrais de "Qualidade Intermediária" daquelas de "Qualidade Inaceitável"; n: o número de unidades amostrais a serem coletadas aleatoriamente de um mesmo lote e analisadas individualmente (n); c: número de unidades amostrais toleradas com qualidade intermediária.

Fonte: BRASIL (2019b).

Linguiças frescas, como a linguiça toscana, com alta umidade e grande quantidade de gordura, possuem uma vida útil reduzida, devido ao fácil aumento da carga microbiana e substrato propenso a reações de oxidação (SHAHIDI, 2016; SILVEIRA et al., 2014). No comércio observa-se produtos com vida útil de até 30 dias conservados em embalagem fechada entre 4 e 7 °C e 7 dias em embalagem aberta. A gordura constituinte dos embutidos processados é importante porque afeta diretamente a suculência do produto. Contudo, esse teor de gordura está associado a um maior grau de oxidação lipídica durante o armazenamento e a diminuição da aceitabilidade dos consumidores devido ao desenvolvimento de ranço (HUGO; HUGO, 2015; WENJIAO et al., 2014). Além da oxidação lipídica, durante o armazenamento das linguiças frescas, também ocorre a oxidação de proteínas devido à alta concentração das mesmas (HUGO; HUGO, 2015; THU et al., 2020).

3.2 Oxidação Em Carnes

A oxidação em alimentos afeta a maioria dos seus componentes, desde os micronutrientes, como, vitaminas e minerais, até os macronutrientes, carboidratos, lipídios e proteínas. Como resultado dessas alterações, os mais conhecidos são, perda de cor, destruição de vitaminas, formação de sabor e aroma desagradáveis e alterações de textura (ARAÚJO, 2008; SHAH; BOSCO; MIR, 2014).

A oxidação lipídica, ou o ranço oxidativo, é considerada um dos principais fatores de deterioração da carne e de produtos à base de carne fresca. Provavelmente começa nos músculos do animal vivo e aumenta após o abate devido às mudanças no ambiente e à perda da capacidade antioxidante intrínseca (SHAH; BOSCO; MIR, 2014), quando a ação antioxidante do tecido cárneo se encontra limitada pelo encerramento do fluxo sanguíneo. Assim, os lipídios e as proteínas tornam-se susceptíveis à ação dos radicais livres e espécies reativas do oxigênio (AMARAL; SOLVA; LANNES, 2018).

O processo de oxidação é dependente do acesso à luz e ao oxigênio, à composição química da carne, à temperatura de armazenamento e aos processos tecnológicos, como a moagem, que prejudica a integridade das membranas musculares e expõe as membranas lipídicas a íons metálicos, o que facilita as interações entre os pró-oxidantes e os ácidos graxos insaturados (KIM; CHO; HAN, 2013).

A oxidação das proteínas está relacionada principalmente a perda da cor característica da carne, produtos à base de carne devem sua cor vermelha à presença de oximioglobina, que durante o armazenamento refrigerado, em contato com oxigênio é transformada na metamioglobina de cor marrom (KIM; CHO; HAN, 2013).

3.2.1 Oxidação Lipídica

A oxidação em lipídios está entre as mais frequentes reações de deterioração em alimentos, é causada principalmente pelo oxigênio atmosférico, mas também pode ser causada pelo ozônio, metais, peróxido e outros agentes oxidantes (ARAÚJO, 2008).

Reações de oxidação se dão pela transferência de elétrons de um átomo de uma substância a outra (ARAÚJO, 2008) e podem ocorrer por diferentes vias de reação: autooxidação

mediada por radicais livres, foto-oxidação, oxidação enzimática e oxidação térmica (SHAHIDI, 2016). As reações de oxidação podem ser influenciadas por diversos fatores, sendo os principais, composição de ácidos graxos, concentração de oxigênio, quantidade de ácidos graxos livres, umidade e tratamento térmico (ARAÚJO, 2008).

A oxidação térmica é o processo oxidativo resultante da presença de oxigênio a altas temperaturas, como por exemplo, processos de fritura. Devido as altas temperaturas, esse tipo de oxidação pode ocorrer tanto em gorduras insaturadas quanto nas saturadas, como consequência há a formação de peróxidos, epóxidos, hidróxidos e cetonas (ARAÚJO, 2008).

A oxidação enzimática ocorre pela ação das lipoxigenases, enzimas que atuam sobre os ácidos graxos poli-insaturados, catalisando a adição de oxigênio à cadeia de carbono insaturada. Essa reação resulta na formação de peróxidos e hidroperóxidos com duplas ligações conjugadas o que pode resultar em diferentes reações degradativas (AMARAL; SOLVA; LANNES, 2018; ARAÚJO, 2008).

A reação de foto-oxidação é um processo oxidativo dos ácidos graxos insaturados causada pela exposição à luz, oxigênio e fotossensibilizadores (mioglobina, riboflavina, clorofila e outros) que absorvem a energia luminosa de comprimento de onda na faixa do visível e a transferem para o oxigênio tripleto (3O_2), gerando o estado singlete (1O_2). O oxigênio singlete reage com as ligações duplas dos ácidos graxos insaturados formando hidroperóxidos diferentes dos que se observam na ausência de luz e de sensibilizadores, e que por degradação posterior originam aldeídos, álcoois e hidrocarbonetos, caracterizando um mecanismo alternativo independente da formação de radicais livres (ARAÚJO, 2008; SHAHIDI, 2016).

A autooxidação, também designada rancidez oxidativa, é a reação mais importante, pois representa o principal mecanismo da oxidação lipídica em alimentos, e provoca alterações indesejáveis e irreversíveis. A autooxidação (Figura 1) está associada à reação do oxigênio com os ácidos graxos insaturados e ocorre em três etapas gerais: iniciação, propagação e terminação (PERUMALLA; HETTIARACHCHY, 2011).

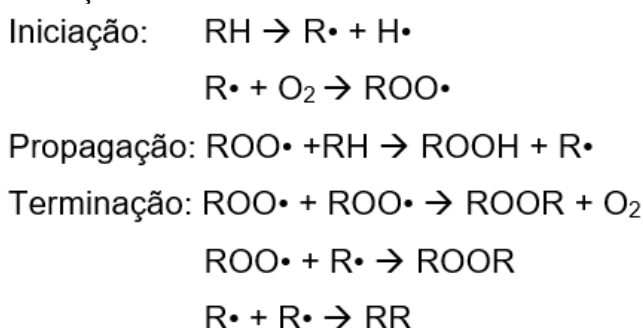
Na etapa de iniciação o ácido graxo insaturado (RH), em condições favorecidas por luz, calor ou metais, forma o radical livre ($R\bullet$) devido a retirada do hidrogênio do carbono alílico na molécula, o radical livre reage com o oxigênio (O_2) formando radicais peroxil ($ROO\bullet$) (PERUMALLA; HETTIARACHCHY, 2011; SHAHIDI, 2016).

No processo de propagação, os radicais peroxil reagem com mais ácidos graxos insaturados para formar hidroperóxidos lipídicos ($ROOH$) e mais radicais livres que continuarão a reagir com o oxigênio, formando mais hidroperóxidos. Os peróxidos e hidroperóxidos formados nessa etapa, são os chamados produtos primários da oxidação, cuja

estrutura dependerá da natureza dos ácidos graxo presentes (PERUMALLA; HETTIARACHCHY, 2011; SHAHIDI, 2016). Os peróxidos não são importantes do ponto de vista das alterações do alimento, mas sim os seus produtos secundários, acetonas, aldeídos, álcoois, ácidos e hidrocarbonetos (ARAÚJO, 2008).

A etapa de terminação ocorre quando os radicais livres começam a reagir entre si para produzir espécies não radicais (ROOR ou RR) (PERUMALLA; HETTIARACHCHY, 2011; SHAHIDI, 2016).

Figura 1 - Mecanismo de autoxidação.



Fonte: Adaptado de Perumalla e Hettiarachchy (2011).

Alguns produtos da oxidação lipídica, como os malonaldeídos (MDA) e óxidos de colesterol, são apontados como maléficos a saúde do consumidor, sendo relacionados ao desenvolvimento de doenças como aterosclerose, doenças neurodegenerativas e câncer. Esses compostos secundários reagem com a proteína e o DNA, de forma tóxica e mutagênica, sendo o MDA o produto mais mutagênico da peroxidação de lipídios (VILLALOBOS-DELGADO et al., 2019).

Pelo fato do malonaldeído ser um dos produtos mais abundantes do estágio final da oxidação é considerado como um indicador do grau de oxidação lipídica e é utilizado para avaliar o nível do estresse oxidativo. O principal método utilizado é a reação do MDA com o ácido tiobarbitúrico (TBA), que forma um complexo colorido que pode ser quantificado por espectrofotometria (CUNHA et al., 2018; WENJIAO et al., 2014).

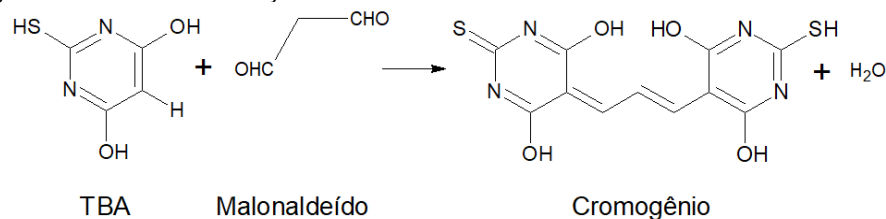
3.2.2 Análise de Oxidação Lipídica Através da Avaliação das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico – TBARS

A avaliação do estado de oxidação lipídica, ou seja, a medida do ranço, é uma determinação importante para controlar e garantir a qualidade dos alimentos na indústria, bem como um método de controle de qualidade dos produtos comercializados. Há diversos métodos para avaliar a estabilidade oxidativa, porém, nenhum se correlaciona de forma completa com as modificações sensoriais produzidas durante as reações de oxidação, desta forma, cada método fornece informações sobre um estado particular do processo oxidativo (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

O ensaio de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) é amplamente empregado para avaliar a oxidação lipídica em alimentos e sistemas fisiológicos, e também amplamente utilizado para monitorar a eficácia de um antioxidante. Sendo comumente utilizado para avaliar se a presença de um antioxidante tem um efeito na oxidação do substrato e também para comparar a potência de diferentes antioxidantes (GHANI et al., 2017).

A análise de TBARS trata-se de um teste baseado na reação do ácido tiobarbitúrico (TBA) com os produtos de decomposição dos hidroperóxidos, sendo o malonaldeído um dos principais produtos. Neste ensaio uma molécula de MDA reage com duas moléculas de TBA formando um complexo de cor vermelha, o qual pode ser absorvido a 532-535 nanômetros (nm), esta reação ocorre em meio ácido (pH 1-2) aliada a alta temperatura (100 °C) para melhor eficiência e sensibilidade na reação (Figura 2). Como padrão para a análise quantitativa é usado normalmente o 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP), o qual liberta malonaldeído, desta forma, os resultados são frequentemente expressos em unidades de absorbância por unidade de peso da amostra ou em “valor TBARS”, definido como o peso em mg de MDA por kg de amostra (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

Figura 2 - Reação do teste de avaliação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.



Fonte: Adaptado de Silva, Borges e Ferreira (1999).

Porém, embora o ensaio de TBA seja sensível e amplamente utilizado, ele não é específico para o malonaldeído e em condições de alta oxidação, o TBA reage com vários componentes, como compostos voláteis, produtos de decomposição de aldeídos (WENJIAO et al., 2014).

3.2.3 Oxidação Proteica

A oxidação de proteínas e lipídios se inicia de forma análoga, onde os radicais livres ou substâncias reativas ao oxigênio (ROS) atacam a molécula alvo, iniciando a reação em cadeia de oxidação, o que sugere uma interação entre esses processos (ESTÉVEZ, 2011; FALOWO; FAYEMI; MUCHENJE, 2014; FAUSTMAN et al., 2010).

O mecanismo de oxidação de proteínas é análogo ao lipídico, mas com maior complexidade de via e maior variedade de produtos. Em uma matriz complexa como a carne, os vínculos entre a peroxidação lipídica e proteica ainda não são claros (SOLADOYE et al., 2015). A reação em cadeia da oxidação proteica pode ser iniciada quando uma ROS abstrai um átomo de hidrogênio da molécula de proteína produzindo um radical centrado no carbono (C•) que é convertido na presença de oxigênio em um radical peróxido de alquil (COO•). Sua reação subsequente com a forma reduzida de ferro (Fe²⁺) ou abstração do átomo de hidrogênio de outra molécula ou reação com a forma produzida do radical superóxido pode facilmente produzir peróxido de alquila (COOH). Outras reações com o radical peroxil livre (HO₂•) ou Fe²⁺ podem levar à formação do radical alcoxi (CO•) e seu derivado hidroxila (COH). Na ausência de oxigênio, no entanto, dois C• podem reagir entre si para produzir derivados reticulados carbono-carbono. Além dessas rotas, o peróxido de alquil e os derivados de radicais alquila podem sofrer reação de clivagem por via de diamida ou de amidação. Dependendo do alvo e do agente oxidante, a oxidação proteica se propaga e termina de acordo com múltiplos mecanismos (CUNHA et al., 2018; SOLADOYE et al., 2015).

As principais modificações causadas pela oxidação de proteínas na carne são a formação de carbonilas de proteínas, perda de grupos sulfidril e formação de redes de proteínas que resultam em alterações de cor e textura, perda de qualidade nutricional, incluindo digestibilidade de aminoácidos e proteínas e perda de funcionalidade das proteínas (CUNHA et al., 2018).

A oxidação de proteínas tem como uma das consequências a conversão da mioglobina em metamioglobina. A mioglobina é a proteína heme responsável pela cor da carne. Esse pigmento pode existir em três estados químicos, mioglobina reduzida, de cor vermelho púrpura, mioglobina oxigenada ou oximioglobina (OxyMb), de coloração vermelho brilhante e mioglobina oxidada ou metamioglobina (MetMb), de coloração marrom. A oxidação do átomo central de ferro no grupo heme é responsável pela descoloração, uma mudança do vermelho OxyMb para o marrom MetMb, quando o ferro heme ferroso oxida para sua forma férrica, o oxigênio é liberado e substituído por uma molécula de água (FAUSTMAN et al., 2010). O ferro liberado atua como catalisador da oxidação lipídica e, portanto, maiores concentrações de ferro e mioglobina costumam estar ligadas a maiores taxas de oxidação lipídica, além disso, a formação de metamioglobina gera produtos intermediários, como ânion superóxido e peróxido de hidrogênio, o que aumenta a taxa de oxidação de ácidos graxos insaturados (CUNHA et al., 2018; FAUSTMAN et al., 2010).

Faustman et al. (2010) avaliaram as interações entre mioglobina e oxidação lipídica e confirmaram a oxidação simultânea desses compostos durante o mesmo período, verificando uma degradação oxidativa acelerada e a perda acentuada da qualidade sensorial, como descoloração e desenvolvimento de sabor estranho. No entanto, esses autores evidenciaram que a inibição da oxidação lipídica pelo uso de antioxidantes também apresenta efeitos contra a oxidação da mioglobina.

A interrelação entre formas de mioglobina, oxidação lipídica e proteica também foram avaliadas em carne de coelho (WANG et al., 2018) e em carne suína (ZAREIAN et al., 2019), onde os autores constataram uma oxidação simultânea de mioglobina e lipídios com uma formação progressiva de MetMb, aumento no TBARS e uma diminuição no índice de vermelhidão o que comprova a interrelação entre oxidações de proteínas e lipídios.

3.3 Antioxidantes

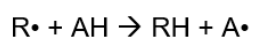
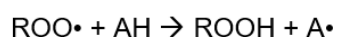
Com o objetivo de melhorar a estabilidade e aumentar a vida útil dos alimentos foram desenvolvidas diversas tecnologias que visam reduzir a oxidação lipídica e aumentar o prazo de validade desses produtos, como embalagem a vácuo, atmosfera modificada e uso de antioxidantes (AMARAL; SOLVA; LANNES, 2018). Antioxidantes são aditivos alimentares utilizados em produtos cárneos com o objetivo de evitar a oxidação lipídica, retardar o

desenvolvimento de aromas e sabores desagradáveis e melhorar a estabilidade da cor (KUMAR et al., 2015), por meio da eliminação de substâncias reativas ao oxigênio, melhora das defesas biológicas antioxidantes ou inibição da produção de ROS (KUMAR et al., 2015; VILLALOBOS-DELGADO et al., 2019). Além da ação antioxidante, deseja-se que esses aditivos sejam baratos, não tóxicos, eficazes em baixas concentrações e estáveis durante o processamento e armazenamento (VILLALOBOS-DELGADO et al., 2019).

A eficácia dos antioxidantes em um determinado produto corresponde à concentração necessária para inibir todas as reações em cadeia conduzidas pelo processo de iniciação. Enquanto a concentração de antioxidantes estiver acima desse limite, o número total de radicais livres é mantido em um nível baixo constante. O antioxidante é gradualmente esgotado e quando seu nível fica abaixo do limiar, os radicais escapam da reação com o antioxidante e a concentração de hidroperóxidos aumenta, o que resulta no aumento da concentração de radicais, e as demais moléculas antioxidantes são completamente consumidas. Quando todos os antioxidantes são consumidos, os processos oxidativos aceleram e o aumento nos produtos de oxidação secundária leva à deterioração crescente do produto (KUMAR et al., 2015).

Baseado no modo de ação, os antioxidantes podem ser classificados em 2 grupos. O primeiro grupo é o de antioxidantes primários, que são os que reagem diretamente com os radicais lipídicos e os convertem em produtos relativamente estáveis (Figura 3). O segundo grupo, chamados antioxidantes secundários, agem reduzindo a taxa de oxidação por diferentes mecanismos de ação (FALOWO; FAYEMI; MUCHENJE, 2014; KUMAR et al., 2015; VILLALOBOS-DELGADO et al., 2019). Em geral, os antioxidantes primários atuam doando um átomo de hidrogênio, já os secundários podem atuar ligando íons metálicos capazes de catalisar processos oxidativos, eliminando oxigênio, absorvendo a radiação UV, inibindo enzimas ou decompondo hidroperóxidos (FALOWO; FAYEMI; MUCHENJE, 2014; KUMAR et al., 2015).

Figura 3 - Mecanismo de ação dos antioxidantes primários.



Onde, ROO• e R•: radicais livres; AH: antioxidante com um átomo de hidrogênio ativo e A•: radical inerte

Fonte: Adaptado de Perumalla e Hettiarachchy (2011).

O controle da oxidação lipídica em carnes pode ser realizado com a adição de antioxidantes sintéticos ou naturais. São chamados sintéticos os antioxidantes que não ocorrem naturalmente, ou seja, são produzidos apenas por síntese industrial ou biossíntese, por exemplo, propilgalatos, eritorbato, BHA, BHT e TBHQ (KUMAR et al., 2015; PATEIRO et al., 2018; SHAH; BOSCO; MIR, 2014; SHAHIDI, 2016; VILLALOBOS-DELGADO et al., 2019).

No Brasil, o uso de aditivos com função antioxidante em produtos cárneos é regulamentado pela legislação, que limita o uso a no máximo 0,01 g/ 100 g de produto para o BHT, BHA e PG, os demais antioxidantes como o eritorbato de sódio, por exemplo, não apresentam limite máximo (BRASIL, 2019a).

Antioxidantes sintéticos são a solução atual mais utilizada para estabilizar o processo oxidativo e prolongar a vida útil de produtos cárneos, no entanto, o impacto negativo na saúde pode impor um risco aos consumidores, esse potencial toxicológico dos antioxidantes sintéticos vem levando ao aumento de pesquisas que visam o desenvolvimento de antioxidantes naturais derivados de fontes vegetais (CUNHA et al., 2018; FALOWO; FAYEMI; MUCHENJE, 2014; PATEIRO et al., 2018; SHAH; BOSCO; MIR, 2014).

A utilização de extratos de plantas ou seus derivados em várias aplicações de alimentos e bebidas é uma tendência crescente na indústria de alimentos, a seleção desses extratos e sua aplicação dependem de suas propriedades funcionais, disponibilidade, custo-benefício e seu efeito nos atributos sensoriais do produto final (PERUMALLA; HETTIARACHCHY, 2011).

A crescente popularidade de aditivos alimentares naturais pode levar mais fabricantes de alimentos a substituir antioxidantes sintéticos por ingredientes que contêm compostos antioxidantes naturais, o que leva ao aumento das pesquisas sobre aditivos naturais. Os principais compostos antioxidantes de ocorrência natural são flavonoides, ácidos fenólicos, lignanas, terpenos, tocoferóis, fosfolipídios e ácidos orgânicos polifuncionais, entre outros (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

Compostos polifenólicos (principalmente flavonoides) demonstram potenciais propriedades antioxidantes devido ao seu potencial redox, estes compostos agem como doadores de hidrogênio, agentes redutores, inibidores de oxigênio nascentes e íons metálicos quelantes em inúmeras aplicações alimentares. Os flavonoides presentes nos extratos vegetais encerram as reações em cadeia que ocorrem durante a oxidação dos triglicerídeos nos sistemas alimentares e, portanto, podem atuar como sequestradores de radicais livres (PAPUC et al., 2017; PERUMALLA; HETTIARACHCHY, 2011).

Diversos extratos vegetais estão tendo sua atividade antioxidante (AA) avaliada em produtos cárneos, por exemplo, sementes de uva, chá verde, casca de pinheiro, alecrim, romã,

urtiga, canela (SHAH; BOSCO; MIR, 2014), folhas de cerejeira, groselha preta (NOWAK et al., 2016), sementes de guaraná (PATEIRO et al., 2018), castanhas, algas marinhas (LORENZO et al., 2014) e também o café (DILNAWAZ; KUMAR; BHAT, 2017a; JULLY; TOTO; WERE, 2016; LIN; TOTO; WERE, 2015; NISSEN et al., 2004; VALENCIA et al., 2008). Sendo, atualmente, o extrato de alecrim o mais comumente utilizado na indústria de carne para controlar a oxidação, isso porque foram os primeiros antioxidantes naturais comercializados (LIN; TOTO; WERE, 2015).

Pateiro et al. (2018) mostraram que o extrato de semente de guaraná é muito eficaz contra a deterioração da cor, oxidação de lipídios e proteínas em hambúrgueres suínos e possui potencial para ser usado como antioxidante natural.

Nowak et al. (2016) em seus estudos para avaliar a possibilidade de utilização de extratos polifenólicos de folhas de cerejeira e groselha como agentes antimicrobianos naturais em produtos à base de carne, encontram uma quantidade significativa de ácidos fenólicos e flavonoides nesses extratos, verificando que além de apresentarem atividade antimicrobiana também reduziram a produção de malonaldeído, indicando uma atividade antioxidante.

Lorenzo et al. (2014) avaliaram o potencial antioxidante de quatro extratos naturais de chá, uva, castanha e alga marinha em hambúrgueres de carne suína, verificando atividade antioxidante em todos os extratos, em especial nos extratos de uva e de chá devido ao seu alto teor de polifenóis, estes foram mais eficazes contra a oxidação lipídica, limitando também a deterioração da cor.

Dilnawaz, Kumar e Bhat (2017b) exploraram a possibilidade de utilização do extrato de café verde como ingrediente natural para melhorar a estabilidade oxidativa lipídica de carne reestruturada de carneiro e verificaram a possibilidade do extrato de café verde como um novo ingrediente natural para melhorar a estabilidade e reduzir a oxidação lipídica durante armazenamento.

3.4 Café

O café é uma das bebidas mais consumidas no mundo, ficando atrás apenas da água (ICO, 2017), desempenhando um papel importante na vida das pessoas, sendo seu consumo motivado principalmente por seu sabor e aroma agradáveis, pelas sensações positivas que produz e por seus efeitos fisiológicos, sendo especialmente reconhecido por causa da presença

de cafeína e suas propriedades estimulantes, além de outros compostos bioativos, como ácidos clorogênicos, trigonelina e melanoidinas que são geralmente menos conhecidos pelos consumidores, mas estão se tornando mais populares à medida que o conhecimento científico os alcança (FOLMER, et al.,2017).

No Brasil, o café chegou em 1727, trazido pelo Sargento-Mor Francisco e Mello Palheta da Guiana Francesa, e devido as favoráveis condições de solo e clima o cultivo se espalhou para vários Estados (MAPA, 2017). Atualmente, o Brasil é o maior produtor e exportador (ICO, 2019) e o segundo maior consumidor de café no mundo, ocupando, em 2019, a 11ª posição entre os produtos mais exportados pelo agronegócio brasileiro (MAPA, 2017). Atingindo um consumo *per capita* de 6,02 kg/ ano de café cru e 4,82 kg/ ano de café torrado e moído (ABIC, 2018).

A produção é distribuída principalmente nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Espírito Santo, Bahia, Rondônia, Paraná, Rio de Janeiro, Goiás e Mato Grosso (CONAB, 2020). Essa diversidade de climas, relevos, altitudes e latitudes, permite a produção de variados tipos de grãos, o que possibilita atender às diferentes demandas de paladar e preços dos consumidores (MAPA, 2017).

As principais espécies cultivadas são o arábica (76,8%), com a produção concentrada nos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Espírito Santo e Bahia, e o canéfora (76,2%), cultivado principalmente no Espírito Santo, Bahia e Rondônia (CONAB, 2020).

O café arábica (*Coffea arabica L.*) é cultivado em altitudes acima de 800 metros e resulta em um produto mais fino, com sabor mais intenso e característico e de melhor qualidade, apresentando assim um maior valor comercial. O café canéfora (*Coffea Canephora*) é utilizado principalmente no preparo de cafés solúveis e em alguns mixes com o arábica, esta espécie apresenta um sabor único, é menos ácida e possui um maior teor de cafeína e por possuir maior teor de sólidos solúveis é amplamente utilizada na indústria de café solúvel, reduzindo o custo do produto (MARCUCCI et al., 2013; MAPA, 2017).

As etapas de colheita, secagem e composição da mistura são decisivas para a qualidade final do produto, a fabricação do produto torrado e moído engloba as etapas de composição do *mix*, processo de torra, moagem, embalagem e armazenamento. Devido as diferenças na composição dos cafés arábica e canéfora, variações nas misturas empregada também impactam na composição e qualidade da bebida (MARCUCCI et al., 2013).

3.4.1 Café Verde

Os cafés verdes arábica e canéfora se diferem em sua composição, que é dominada por carboidratos (60% de matéria seca), mais abundantes no café arábica, já as proteínas, peptídeos e aminoácidos livres respondem por 10 a 15% da matéria seca do café verde e os lipídios por 8 a 18%, sendo o teor total de ácidos graxos em grãos do canéfora metade do que no arábica. Em relação aos minerais, o potássio é predominante (40% do teor mineral do café moído) mas este grupo ainda é constituído por outros diversos elementos, entre eles, fósforo, sódio, magnésio, cálcio e enxofre (CID; DE PEÑA, 2015).

O café verde também possui uma grande variedade e quantidade de polifenóis, tendo como seus principais componentes os ácidos clorogênicos. Estes ácidos fenólicos são formados pela esterificação de uma molécula de ácido quínico e uma a três moléculas de ácidos trans-hidroxicinâmicos em diferentes posições. Os principais grupos de ácidos clorogênicos são os ácidos cafeoilquínicos, dicafoilquínicos, feruloilquínicos, p-coumaroilquínicos e misturas de ácidos cafeoilferuloilquínicos (CID; DE PEÑA, 2015; SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

Grãos de café verde da espécie arábica tem sido associado a atividades antimicrobiana, antioxidante, antinfeciosa e antitumoral devido à presença de várias classes de compostos bioativos, dentre eles, fenólicos, melanoidinas, diterpenos, xantinas e carotenoides (SEGHEO et al., 2018). A grande quantidade de ácidos clorogênicos e outros poderosos antioxidantes, torna o café verde o candidato ideal para uso como conservante natural em produtos alimentícios (DILNAWAZ; KUMAR; BHAT, 2017a).

3.4.2 Café Torrado

A torrefação do café é a etapa responsável por dar as propriedades características da bebida, tais como cor, sabor e aroma. Os grãos são aquecidos a 180 - 250 °C, entre 2 a 25 minutos, dependendo da técnica e do grau de torra desejado (clara, média ou escura). A torra do café é composta por três etapas principais, uma fase inicial de secagem, a pirólise e por fim, uma fase rápida de refrigeração usando ar ou água como agente de resfriamento (CID; DE PEÑA, 2015).

Durante a fase de secagem, a maior parte da água livre evapora mantendo a temperatura do grão a 100 °C, o aumento de temperatura indica a segunda fase. A cerca de 150 °C, há uma libertação de produtos voláteis (água, CO e CO₂), o que resulta em um aumento no volume do grão. Em 170 - 200 °C, as reações de pirólise modificam drasticamente a composição química do grão de café pela formação de centenas de substâncias que dão ao café seu aroma e sabor característico. No final da torrefação, os grãos então arrebentam devido ao aumento da pressão interna, e o processo é parado por arrefecimento (CID; DE PEÑA, 2015).

O processo de torra altera consideravelmente a composição química do café, com diminuição simultânea das substâncias que ocorrem naturalmente no café verde e a geração de diversos outros compostos, enquanto os compostos fenólicos naturais podem ser perdidos, outros compostos antioxidantes são formados, como os produtos da reação de Maillard (PRMs), melanoidinas, furfural, hidroximetilfurfural, além da alteração aparente da cor (CID; DE PEÑA, 2015; VIGNOLI et al., 2014).

Entre as diversas mudanças, está a grande alteração na composição de compostos fenólicos devido à sua instabilidade térmica. O conteúdo de ácidos clorogênicos cai durante a torrefação, e durante a fase de secagem, quando ainda há conteúdo de água adequado, ocorre a isomerização destes, levando a um aumento de ácidos 3- e 4-cafeoilquínico. Mais tarde, na torrefação, parte dos ACGs dão origem a vários isômeros de lactonas cafeoilquínicas, ferulilquínicas e ácidos cafeoilquínicos (CIARAMELLI; PALMIOLI; AIROLDI, 2019; CID; DE PEÑA, 2015). A decomposição de ACGs tem um grande impacto sobre os atributos de qualidade do café torrado e está diretamente relacionada ao desenvolvimento do sabor (CID; DE PEÑA, 2015).

A bioatividade do café torra clara é atribuída a uma combinação entre os ACGs, cafeína e PRMs, que eliminam os radicais livres (JULLY; TOTO; WERE, 2016; VIGNOLI et al., 2014).

Vignoli, Bassoli e Benassi (2011) verificaram que o grau de torrefação influencia diretamente na composição do café solúvel. Os autores avaliaram a influência da extração simples e dupla em diferentes torras de café, para obtenção de café solúvel, e seus resultados mostraram que os produtos derivados de café arábica e de café robusta apresentaram maiores teores de ácido 5-cafeoilquínico (5-ACQ) para café torrado leve e médio em um sistema de extração dupla, o mesmo processo também favoreceu a extração de cafeína das duas espécies de café torrado leve, mas somente o arábica foi favorecido pela torrefação média. Porém, no caso da torra escura, o processo de extração não influenciou na liberação desses compostos, tendo o resultado variado apenas em função da espécie.

3.4.3 Propriedades Antioxidantes do Café

O café é considerado uma rica fonte de compostos bioativos, tendo seus componentes, como 5-CQA, guaiacol, maltol, melanoidinas e cafeína identificados como potenciais antioxidantes (Vignoli et al., 2020).

Vignoli et al. (2014) avaliaram a influência de diferentes graus de torra no conteúdo de compostos bioativos e na AA dos cafés arábica e robusta e verificaram que a bebida de café de diferentes graus de torra mostrou potencial antioxidante estável, influenciado pelas condições de torrefação e pelas espécies de café. Isso porque, além dos compostos fenólicos presentes no café, que são parcialmente destruídos pelo processo de torra, outros compostos antioxidantes, como as melanoidinas, podem ser formados e, portanto, é possível manter ou aumentar a AA. No entanto, à medida que a intensidade da torra aumenta, ocorre maior destruição dos compostos fenólicos o que pode não ser compensado pela formação de outros compostos, desta forma, cafés originários da torra clara apresentam maior capacidade antioxidante devido ao equilíbrio entre compostos fenólicos originais e produtos formados no processo de torra do café. Também foi apurado a maior capacidade antioxidante do café robusta, devido a maior quantidade de cafeína.

Autores comprovaram a eficiência do café como antioxidante em carne moída bovina (LIN; TOTO; WERE, 2015), hambúrgueres de carne suína (JULLY; TOTO; WERE, 2016), hambúrgueres de frango (KIM et al., 2016), blocos de carne de carneiro reestruturados (DILNAWAZ; KUMAR; BHAT, 2017b) e carne de frango desidratada (NISSEN et al., 2000).

Jully, Toto e Were (2016) avaliaram a ação antioxidante de diferentes torras de café, nas formas de borra, liofilizadas e moídas e verificaram que a adição de café não inibiu nem promoveu a oxidação de proteínas em hambúrgueres cozidos, mas inibiu a oxidação lipídica, resultando em valores comparáveis aos da carne suína com adição de oleoresina de alecrim.

Lin, Toto e Were (2015) encontraram resultados que mostram que o café moído torrado pode prolongar a vida útil de carnes cruas sem sal e salgadas, funcionando tão eficazmente quanto melhor que a oleoresina de alecrim.

Além de fatores como espécie e grau de torra, o método de preparação da bebida de café ou extração podem resultar em diferentes composição de bioativos. Ciaramelli, Palmioli e Airoidi (2019) realizaram extração hidroalcoólica, moka e espessa e verificaram que a extração hidroalcoólica foi o método mais eficiente em termos de rendimento de compostos de baixo peso molecular (massa molecular <10 KDa), enquanto a extração de moka forneceu as maiores

quantidades de compostos de alto peso molecular como melanoidinas. De forma adicional, Ludwig et al. (2012), concluíram que parâmetros tecnológicos alteram a eficiência da extração, verificando que turbulências e maior tempo de contato entre a água e o café moído na cafeteira com filtro, aumentam a eficiência da extração, principalmente para compostos antioxidantes menos polares como os ACGs.

Devido a alta composição de compostos antioxidantes e sua alta disponibilidade no mercado, o café pode tornar-se uma fonte economicamente mais viável de antioxidantes naturais em comparação com o alecrim ou outros extratos vegetais (LIN; TOTO; WERE, 2015).

3.5 Metodologias Para Avaliar A Capacidade Antioxidante

Diferentes metodologias devem se utilizadas para caracterizar a atividade antioxidante do café, pois devido a variedade de compostos antioxidantes não existe um método universal único para medi-la de maneira precisa e quantitativa (VIGNOLI; BASSOLI; BENASSI, 2011). Entre as metodologias mais utilizadas para avaliar a atividade antioxidante do café, estão a determinação da atividade doadora de íons hidrogênio ao radical $ABTS^{\bullet+}$ (ABTS), determinação de atividade redutora pelo método de Folin-Ciocalteu e determinação da atividade antioxidante pela captura do radical livre DPPH• (DPPH) (LUDWIG et al., 2012; VIGNOLI et al., 2014). Além disso, são avaliados a presença de compostos com potencial antioxidante como a presença de ácidos clorogênicos, como ácido 5-cafeoilquinóico, cafeína, trigonelina e produtos da reação de Maillard (melanoidinas, furfural, hidroximetilfurfural) (VIGNOLI et al., 2014).

3.5.1 Método DPPH

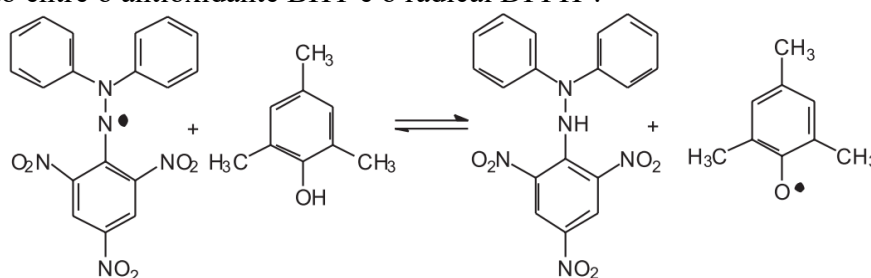
O 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH•) é um radical livre, estável à temperatura ambiente, que produz uma solução de cor violeta em etanol. É reduzido na presença de uma molécula antioxidante, dando origem a soluções de etanol não coloridas. O uso do DPPH fornece uma maneira fácil e rápida de avaliar antioxidantes (BOYLAN; MENEZES; LEITA,

2001). É um dos poucos radicais orgânicos nitrogenados estáveis, está disponível comercialmente e não precisa ser gerado antes do teste (PRIOR; WU; SCHAICH, 2005).

A metodologia do DPPH foi desenvolvida por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), e é baseado na redução do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, o qual apresenta um máximo de absorção a 517- 520 nm. Quando o radical DPPH• recebe um átomo de hidrogênio dos compostos antioxidantes (Figura 4), a redução faz com que a cor mude de violeta para amarela o que resulta na diminuição da absorbância, o que permite calcular, após o estabelecimento do equilíbrio da reação, a quantidade de antioxidante gasta para reduzir 50% do DPPH•.

É um teste considerado simples e rápido pois precisa apenas de um espectrofotômetro UV-visível para ser executado, o que provavelmente explica seu amplo uso na avaliação de antioxidantes, entretanto, a interpretação torna-se impraticável quando os compostos testados têm espectros que se sobrepõem ao DPPH em 515 nm (PRIOR; WU; SCHAICH, 2005).

Figura 4 - Reação entre o antioxidante BHT e o radical DPPH•.



Fonte: Oliveira et al. (2009).

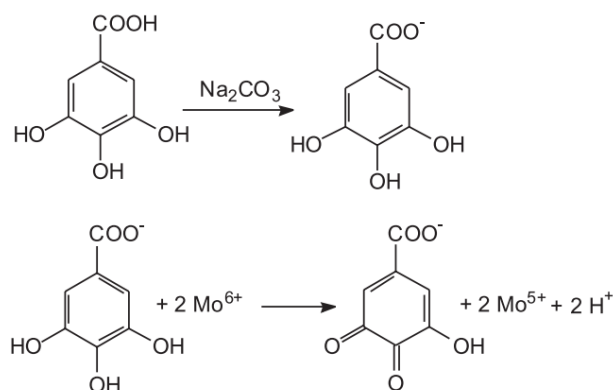
3.5.2 Método Folin-Ciocalteu

O método Folin-Ciocalteu é um ensaio baseado na transferência de elétrons e fornece capacidade redutora, que normalmente é expressa como conteúdo fenólico (PRIOR; WU; SCHAICH, 2005).

A metodologia desse método é baseada na originalmente desenvolvida por Folin e Ciocalteu (1927) e teve origem em reagentes químicos usados para análise de tirosina, onde a oxidação de fenóis por um reagente de molibdotungstato produz um produto colorido com comprimento de onda máximo a 745 - 750 nm.

A determinação da capacidade redutora pela metodologia de Folin-Ciocalteu consiste na mistura dos ácidos fosfomolibídico e fosfotúngstico, onde o molibdênio encontra-se no estado de oxidação, coloração amarela no complexo $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, que na presença de agentes redutores, como os compostos fenólicos, reagem formando o complexo molibdênio-tungstênio $[(\text{PMoW}_{11}\text{O}_4)^{4-}]$ de cor azul (Figura 5), o que permite a determinação da concentração por espectrofotometria, com a leitura realizada na região visível em torno de 760 nm (OLIVEIRA et al., 2009).

Figura 5 - Reação do antioxidante ácido gálico com molibdênio, componente do reagente de Folin-Ciocalteu.



Fonte: Oliveira et al. (2009).

3.5.3 Atividade Doadora De Íons Hidrogênio Ao Radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$

O radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ é produzido a partir do precursor ácido 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) -6-sulfônico. Esta metodologia é baseada na habilidade dos antioxidantes em capturar o cátion $\text{ABTS}^{\bullet+}$. O radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$, apresenta cor azul esverdeada, por meio da reação do ABTS com persulfato de potássio que possui absorção máxima em 645, 734 e 815 nm. Com a adição de um antioxidante, ocorre a redução do $\text{ABTS}^{\bullet+}$ a ABTS o que promove a perda da coloração do meio reacional. Com a perda de cor, a porcentagem de inibição do $\text{ABTS}^{\bullet+}$ pode ser determinada, por espectrofotometria, em função do Trolox, um padrão submetido às mesmas condições de análise do antioxidante (PRIOR; WU; SCHAICH, 2005; SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

O $\text{ABTS}^{\bullet+}$ reage rapidamente com antioxidantes, normalmente dentro de 30 minutos. Pode ser usado em uma ampla faixa de pH e é solúvel em solventes aquosos e orgânicos, não

sendo afetado pela força iônica, portanto, pode ser usado para avaliar antioxidantes hidrossolúveis e lipossolúveis, compostos puros e extratos vegetais (PRIOR; WU; SCHAICH, 2005).

3.6 Extração de Antioxidantes Naturais

Um extrato natural pode ser definido como os compostos e/ ou mistura de compostos obtidos por qualquer procedimento de extração de plantas, frescas ou secas, ou partes delas, folhas, flores, sementes, raízes e casca (VINATORU; MASON; CALINESCU, 2017).

Para realizar a extração de compostos bioativos de fontes naturais algumas etapas preliminares fazem-se necessárias para facilitar o processo e conservar os compostos. Essas etapas podem consistir em desidratação, liofilização ou congelamento, moagem e peneiramento, por exemplo, essa preparação da amostra permite que os substratos atinjam maior superfície de contato com o solvente (ANDREO; JORGE, 2006).

Parâmetros tecnológicos, como temperatura, pressão, tempo de contato do solvente com a amostra, razão amostra/substrato e tipo de solvente utilizado interferem diretamente na quantidade e no tipo de compostos bioativos extraídos. Desta forma, esses fatores tecnológicos devem ser considerados para otimizar a extração de antioxidantes (ANDREO; JORGE, 2006).

O conhecimento do comportamento de extração dos principais antioxidantes presentes na amostra analisada pode induzir a conhecer os fatores tecnológicos com maior impacto na extração de antioxidantes. Desta forma, no caso do café por exemplo, pode ser possível obter não apenas bebidas com maior capacidade antioxidante, mas também extratos de café com propriedades de saúde que possam ser usadas como ingredientes em alimentos funcionais (LUDWIG et al., 2012).

Os métodos clássicos de extração usados em tais processos podem ser divididos em 3 classes principais: destilação, extração com solvente e compressão a frio. A escolha do solvente empregado para a extração dos componentes desejados é altamente dependente do uso final dos extratos. Se o objetivo é o uso para consumo humano ou animal, apenas solventes de qualidade alimentar podem ser utilizados. Em outros casos, solventes que não são compatíveis com o consumo humano ou animal, como solventes clorados, podem ser empregados (VINATORU; MASON; CALINESCU, 2017).

Não existe um solvente que seja satisfatório para o isolamento de todos ou de uma classe específica de antioxidantes, pois diversos fatores influenciam na eficiência do solvente. Os principais fatores são, a natureza química dos compostos (polaridade), grande variedade de compostos bioativos nos vegetais e diferentes quantidades presentes, além da possibilidade de interação dos compostos antioxidantes com carboidratos, proteínas e outros componentes dos alimentos (ANDREO; JORGE, 2006).

Entre os solventes que podem ser utilizados estão os solventes orgânicos como etanol, acetona, acetato de etila, hexano, isopropanol, éter de petróleo e metanol (BRAVO et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2019; PAGE; ARRUDA; FREITAS, 2017; YAHYA; ATTAN; WAHAB, 2018). O etanol se destaca como solvente devido ao seu baixo custo, baixo impacto ambiental, além de ser um solvente biorrenovável (OLIVEIRA et al., 2019) e já utilizado com sucesso em outras extrações (KIM et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2019). Dependendo do solvente escolhido, etapas adicionais podem ser necessárias para purificar o isolado e remover completamente o solvente, o que pode aumentar os custos da extração, fatos que tornam o uso de água como solvente uma alternativa atraente (KUMAR et al., 2015).

Oliveira et al., (2019) recomendam o etanol como um solvente ideal para a extração de sólidos solúveis, compostos fenólicos e antioxidantes de grãos de café verde. Outros autores também encontraram melhores resultados em extrações de antioxidantes de café verde e torrado utilizando etanol puro (BRAVO et al., 2013; KIM et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2019) ou misturas de etanol e água (BRAVO et al., 2013).

3.6.1 Métodos de Extração

O objetivo do processo de extração é fornecer o rendimento máximo de substâncias com a mais alta qualidade em termos de concentração dos compostos desejados (SHAH; BOSCO; MIR, 2014). Métodos convencionais de extração têm sido utilizados para a extração de compostos bioativos (WEN et al., 2019), entre eles o que mais se destaca é a extração por solvente, processo no qual o material analisado, após seco, é embebido no solvente de extração, isso causa inchaço do material vegetal e a liberação dos compostos compatíveis com o solvente de extração. A força motriz desse processo é o gradiente de concentração dos compostos-alvo, que é mais alto no interior do material vegetal inchado do que no solvente. À medida que o

gradiente de concentração diminui, o mesmo ocorre com a força motriz até que um equilíbrio de concentração seja alcançado (VINATORU; MASON; CALINESCU, 2017).

As técnicas utilizadas no método de extração por solvente para recuperar antioxidantes das plantas podem variar, e dentre as mais utilizadas para a extração dos antioxidantes presentes no café, estão as mesmas já utilizadas para o preparo da bebida, como, a extração expresso (CIARAMELLI; PALMIOLI; AIROLDI, 2019; LUDWIG et al., 2012), moka (CIARAMELLI; PALMIOLI; AIROLDI, 2019), extração simples com água quente e filtro (OLIVEIRA et al., 2019; VIGNOLI; BASSOLI; BENASSI, 2011; WONGSA et al., 2019) ou em cafeteira com filtro (BRAVO et al., 2013; LUDWIG et al., 2012), esta considerada uma das mais eficientes para extrair a atividade antioxidante do café torrado moído, além desses o sistema de extração Soxhlet também é comumente utilizado (BRAVO et al., 2013).

As técnicas convencionais, no entanto, podem apresentar algumas deficiências, como tempo de extração prolongado, que leva ao alto consumo de tempo, energia e solvente. Desta forma, nos últimos anos, surgiram novos métodos de extração que tentam contornar as desvantagens apresentadas pelos métodos convencionais e visam encontrar melhores resultados, entre essas novas técnicas a extração assistida por ultrassom vem se destacando por apresentar bons resultados com tempo reduzido de extração e menor volume de solvente em relação a outros métodos (IRAKLI; CHATZOPOULOU; EKATERINIADOU, 2018; VINATORU; MASON; CALINESCU, 2017; WEN et al., 2019).

A extração assistida por ultrassom é uma tecnologia inovadora, verde, adequada para melhorar a eficiência e obter altos rendimentos e taxas de extração de compostos bioativos, possuindo assim um grande potencial de desenvolvimento e aplicação. O princípio da técnica de ultrassom é baseado no efeito de cavitação, fenômeno onde ondas formadas pelo ultrassom, transmitidas em frequência superior à capacidade auditiva humana, passam através do meio, criando compressão e expansão, o que gera um processo no qual bolhas são produzidas, crescem e sofrem colapso, o que resulta na ruptura das paredes celulares e redução do tamanho das partículas da matriz vegetal, facilitando a transferência de massa (WEN et al., 2019).

Diversos estudos mostram a eficiência na obtenção de compostos bioativos de matéria orgânica via extração assistida por ultrassom. Das e Eun (2018) compararam os métodos de extração por ultrassom, extração por agitação e método convencional (infusão) para a extração dos compostos antioxidantes do chá verde e concluíram que tanto a extração por ultrassom quanto a com agitação são eficientes e podem ser usadas para preparar extrato de chá verde rico em antioxidantes. Em contrapartida Saifullah et al., (2020) compararam a técnica de extração convencional com agitação com a extração assistida por ultrassom na recuperação de compostos

fenólicos de folhas *Leptospermum petersonii*, e concluíram que a técnica de extração assistida por ultrassom mostrou-se mais eficiente na extração de atividade redutora e capacidade antioxidante em comparação com a extração por banho de água com agitação convencional.

De forma adicional, Rezende, Nogueira e Narain (2017) compararam o uso da extração convencional e da extração assistida por ultrassom para obter compostos bioativos com atividade antioxidante do resíduo de acerola e obtiveram extratos com maiores concentrações de bioativos e atividade antioxidante utilizando a extração assistida por ultrassom.

Apesar dos diversos estudos mostrando a eficiência do uso do ultrassom para extrair compostos antioxidantes de matrizes vegetais, há poucos estudos que investigam a influência do uso do ultrassom na extração desses compostos do café.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi dividido em quatro em quatro etapas: I) Na primeira etapa, por meio de testes preliminares buscou-se determinar o melhor processo de extração de compostos bioativos do café (convencional sólido-líquido em incubadora *shaker versus* extração assistida por ultrassom (banho ultrassônico ou sonda ultrassônica)), e o melhor solvente para extração (água ou solução de água e etanol); II) Na segunda etapa otimizou-se as condições de extração utilizando o processo definido como melhor na etapa I.; III) Na terceira etapa caracterizou-se extratos obtidos nas melhores condições de processo em diferentes espécies de café verde e de torra média; IV) Os extratos definidos como melhores antioxidantes foram aplicados em uma formulação de produto cárneo curado cru, linguiça tipo Toscana, para avaliação da efetividade do uso de extratos de café como antioxidante natural. Segue a descrição detalhada de todos os procedimentos efetuados.

4.1 Reagentes

A água ultrapura utilizada foi obtida com sistema ultra-purificador (resistividade de 18,2 M Ω cm, Master System®, Gehaka, São Paulo, Brasil). Para as extrações com solução etanólica utilizou-se álcool etílico absoluto (Exôdo Científica, Sumaré, Brasil). Na determinação de atividade redutora foram utilizados reagente de Folin Ciocalteu 2N (Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, USA), carbonato de sódio (99,5%, Reatec, São Paulo, Brasil) e ácido gálico anidro (99%, Exôdo Científica, Sumaré, Brasil). Para determinar a atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS⁺• utilizou-se ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS) (98%, Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, USA), persulfato de potássio P.A. (99%, Dinâmica, Indaiatuba, Brasil), fosfato de potássio monobásico P.A. (98%, Anidrol, Diadema, Brasil), hidróxido de potássio P.A. (85%, Synth, Diadema, Brasil) e 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico (TROLOX) (98%, Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, USA). Na determinação da atividade antioxidante pela captura do radical livre DPPH os reagentes foram utilizados ácido acético P.A. (99,7%, Vetec, Duque de Caxias, Brasil), acetato de sódio P.A. (99%, Dinâmica, Indaiatuba, Brasil), 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, USA) e álcool etílico absoluto (Exôdo Científica, Sumaré,

Brasil). Na determinação dos compostos ácido 5-cafeilquínico e cafeína foram utilizados ácido acético P.A. (99,7%, Vetec, Duque de Caxias, Brasil), Acetonitrila grau HPLC (J. T. Baker, Goiânia, Brasil) e padrões 5-ACQ e Cafeína (Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, USA). Na análise de TBARS foram utilizados ácido clorídrico (37%, Exôdo Científica, Sumaré, Brasil), Span 80, Tween 20 e 1,1,3,3-tetraetoxipropano (Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, USA) e Sulfanilamida P.A (Vetec, Duque de Caxias, Brasil). Na determinação da formação de metamioglobina foram utilizados fosfato de potássio dibásico P.A. e fosfato de potássio monobásico P.A. (Anidrol, Diadema, Brasil). O antioxidante eritorbato de sódio foi fornecido pela Conditec Aditivos e Condimentos (Medianeira, Brasil).

4.2 Caracterização da Amostra

Para a realização dos testes preliminares de extração foi utilizado café 100% arábica moído, torra média, adquirido em mercado local. Foi realizada a caracterização desse café por meio de análise granulométrica, utilizando peneiras de 16, 20, 30, 35 e 60 Mesh em agitador de peneiras eletromagnético (Bertel, Caieiras, Brasil) com vibração ajustada no nível 6 por 15 minutos, a análise foi realizada em triplicata. Também foi realizada a medida instrumental de cor em triplicata, utilizando o colorímetro (Konica Minolta, CR 400, Osaka, Japão) com iluminante D65 e ângulo de visão de 10°. Os valores de L* (L* = 100 significa branco, L* = 0 significa preto), a* [vermelho (+) e verde (-)] e b* [amarelo (+) e azul (-)] foram registrados.

Para etapa de avaliação de diferentes cafés, na faixa ótima de extração, foram utilizadas amostras de cafés verde e de torra média das espécies *C. canephora* e *C. arabica* (Figura 6), fornecidas pela Companhia Iguaçu de Café Solúvel (Cornélio Procópio-PR, Brasil). Essas amostras foram moídas em moinho (IKA, A11, Stauffen, Germany) e também foram caracterizadas quanto a medida instrumental de cor e quanto a granulometria, visando obter uma amostra com mesmo padrão granulométrico que a utilizada nas etapas anteriores.

Figura 6 - Amostras de cafês *C. arabica* verde (a) e torra média (b) e *C. canephora* verde (c) e torra média (d).



Fonte: Autoria própria, 2020.

O teor de umidade das amostras foi determinado conforme metodologia da AOAC (2005). Foram pesados em balança analítica (Marte, AW220, São Paulo, Brasil) 5 g da amostra homogeneizada em cápsula de alumínio tarada. Em seguida, as cápsulas foram colocadas em estufa (Cienlab, Campinas, Brasil), a 105 °C, inicialmente por 4 horas e em seguida até atingirem peso constante. A determinação de umidade foi realizada em todas as amostras utilizadas neste estudo.

4.3 Testes Preliminares de Extração de Compostos Bioativos de Café por Diferentes Processos e Solventes

Inicialmente realizou-se a extração dos compostos bioativos do café comercial, utilizando-se água como solvente, por três métodos diferentes (Figura 7), baseando-se nas metodologias de Kim et al. (2018) e Wen et al. (2019):

- (1) Extração sólido-líquido em Incubadora *Shaker* (Láctea Científica, modelo INR, São Paulo, Brasil);
- (2) Extração sólido-líquido em Banho Ultrassônico (Elma, Elmasonic P, Singen, Alemanha);
- (3) Extração sólido-líquido utilizando Processador Ultrassônico (Sonics, Vibra-Cell VC505, Newtown, Estados Unidos) e sonda ultrassônica com *probe* substituível (Sonics, 630-0210 25 mm, Newtown, Estados Unidos).

Todas as extrações foram realizadas em triplicata, utilizando uma concentração de 10% de amostra em água ultrapura, durante 10 minutos, nas temperaturas de 30, 50 e 80 °C. A rotação utilizada no *Shaker* foi de 470 RPM. No banho ultrassônico a amostra foi posicionada no centro do equipamento e foram utilizados os parâmetros 37 kHz, potência de 70% de 580 W na função *sweep*. No processador ultrassônico com sonda ultrassônica foram utilizados os parâmetros 20 kHz e 80% de 500W. Devido ao objetivo de testar etanol como solvente, a extração realizada com sonda ultrassônica foi realizada indiretamente, a sonda ultrassônica foi imersa 2,5 cm em um banho d'água, no qual a amostra estava disposta dentro de um Erlenmeyer, isto porque, a única *probe* disponível não era compatível com solventes orgânicos. Tanto a água do banho quanto a solução de extração foram previamente aquecidas até a temperatura desejada, durante o tempo de extração a temperatura foi avaliada inicialmente, no meio e ao final com termômetro de mercúrio, em todas as extrações a variação máxima foi de 1 °C, devido ao aquecimento causado pelo ultrassom.

Após o tempo de extração, as amostras foram filtradas em papel filtro qualitativo 80 g m⁻² (Unifil) com auxílio de uma bomba de vácuo (Tecnal, TE-0581, Piracicaba, Brasil).

Figura 7 - a) Extração sólido-líquido em Banho Ultrassônico; b) Extração sólido-líquido em Incubadora Shaker; c) Extração em Processador Ultrassônico.



Fonte: Autoria própria, 2020.

Os extratos foram avaliados quanto aos teores de cafeína, 5-ACQ, clorogênicos totais e compostos escuros (melanoidinas), e quanto a sua atividade antioxidante pela determinação de atividade redutora (método de Folin-Ciocalteu), atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS⁺• e atividade antioxidante pela Captura do Radical Livre DPPH•, cujas metodologias estão descritas no item 4.8.

Posteriormente, as extrações foram realizadas utilizando solução 30% de etanol em *shaker* e em banho de ultrassom por 10 min, nas mesmas condições de proporção amostra/solução, potência e de rotação da primeira extração, porém as temperaturas utilizadas foram 50 °C e 70 °C, a temperatura de 70 °C foi escolhida devido a maior facilidade de controle nos equipamentos, pois havia maior oscilação quando trabalhado a 80 °C, outra mudança foi a posição do Erlenmeyer no ultrassom que passou do centro para o canto direito (pois as ondas se propagam a partir das duas extremidades do banho) e deixou-se de usar a função *sweep* (que servia pra homogeneizar as ondas) isso porque alguns banhos não possuem essa função, o que tornaria mais difícil sua reprodução, e como foi extraído apenas uma amostra por vez, verificou-se que não era necessário o uso dessa função. Para que fosse possível comparar a eficiência do uso do etanol, repetiu-se a extração com água como solvente nesses novos parâmetros. Estes extratos também foram avaliados quanto aos teores de cafeína, ácido 5 – cafeoilquínico, clorogênicos totais e compostos escuros e quanto a sua atividade antioxidante (Folin-Ciocalteu, ABTS e DPPH).

4.3.1 Análise dos Dados

Os resultados dos testes preliminares descritos foram avaliados por Análise de variância (*one-way*, ANOVA), seguido pelo teste de comparação de médias de Tukey ($p \leq 0,05$). As análises estatísticas foram efetuadas utilizando o programa Statistica 8.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA), com os resultados expressos como média \pm desvio padrão da média (DP) e considerado significativamente diferente quando $p \leq 0,05$.

4.4 Otimização dos Parâmetros de Extração

Para otimizar a obtenção do extrato de café, aplicou-se um delineamento composto central rotacional, considerando-se um planejamento fatorial completo 2^3 , incluindo 6 pontos axiais e 3 repetições no ponto central, totalizando 17 ensaios, para avaliar os parâmetros tempo de extração (x_1 ; 1,6, 5, 10, 15 e 18,4 min), proporção etanol/água (x_2 ; 21,6, 25, 30, 35 e 38,4% de etanol) e razão amostra/solvente (x_3 ; 1,6/100, 5/100, 10/100, 15/100 e 18,4/100), a 70 °C, utilizando como variáveis respostas os teores de compostos escuros (Y_1), cafeína (Y_2), ácido 5 – cafeoilquínico (Y_3) clorogênicos totais (Y_4), atividade redutora (Y_5), atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS+• (Y_6) e atividade antioxidante pela captura do radical livre DPPH (Y_7).

As variáveis independentes do processo foram avaliadas em três níveis codificados (-1, 0 e +1). O DCCR também contou com dois níveis axiais codificados em $+\alpha$ e $-\alpha$.

Os níveis dos fatores e os valores codificados são apresentados, na Tabela 6.

4.4.1 Análise de Dados do DCCR

Inicialmente foi avaliada a significância dos coeficientes dos modelos experimentais para as respostas: Y_1 , Y_2 , Y_3 , Y_4 , Y_5 , Y_6 e Y_7 . A adequação dos modelos foi expressa pelo coeficiente de determinação (R^2) e R^2 ajustado (R^2 -adj), e a significância estatística foi determinada por análise de variância (ANOVA). Foi considerado o nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$). Os termos não significativos de cada modelo foram incorporados ao resíduo do modelo. Para o ajuste dos dados foi testado o modelo quadrático genérico expresso pela Equação 1, onde β_i representa os coeficientes lineares estimados, β_{ii} os coeficientes quadráticos estimados e β_{ij} os coeficientes de interação entre as variáveis. Os dados foram analisados utilizando o programa Statistica 8.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA).

$$Y = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \beta_3x_3 + \beta_{11}x_1^2 + \beta_{22}x_2^2 + \beta_{33}x_3^2 + \beta_{12}x_1x_2 + \beta_{13}x_1x_3 + \beta_{23}x_2x_3 \quad (1)$$

A fim de definir as condições de extração para obter melhores rendimentos de extratos ricos em compostos antioxidantes, as respostas do DCCR foram otimizadas usando o procedimento Perfil de Desejabilidade da Resposta. A função de desejabilidade global foi determinada, tendo como meta maximizar o conteúdo de antioxidantes. O procedimento foi baseado no cálculo de um valor de desejabilidade (d_i) de cada resposta, que representa o quão próximo o valor de resposta ajustado, está das configurações ideais dos fatores. A desejabilidade global (d) foi obtida a partir da desejabilidade individual para todas as variáveis resposta pela Equação 2, onde k é o número de respostas consideradas no processo de otimização (DERRINGER; SUICH, 1980).

$$d = \sqrt[k]{d_1 d_2 \dots d_k} \quad (2)$$

O valor de desejabilidade global varia de zero a um, onde um valor de um representa o caso ideal e zero significa que pelo menos uma resposta está fora dos limites desejáveis.

4.4.3 Validação Experimental

A partir da análise da função desejabilidade e das superfícies de respostas foi possível determinar as condições de processo em que obtêm simultaneamente as melhores respostas de teores de compostos escuros (Y_1), cafeína (Y_2), ácido 5 – cafeoilquínico (Y_3) clorogênicos totais (Y_4), atividade redutora (Y_4) e atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS+• (Y_6). Desta forma, para validar experimentalmente os modelos obtidos, foram realizadas novas extrações, utilizando café comercial, nas condições ótimas definidas.

4.5 Avaliação de Extratos de Café Obtidos a Partir de Diferentes Amostras de Café na Condição Otimizada

Definida uma região interessante de extração próxima ao ponto central e também as condições ótimas do processo, extratos de cafés das amostras de cafés verdes e de torra média

das espécies *C. canephora* e *C. arabica*, foram extraídos nestas condições e avaliados quanto ao teor de compostos escuros (amostras torradas), cafeína, 5-ACQ, clorogênicos totais, atividade redutora, atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS+• e atividade antioxidante pela captura do radical livre DPPH (metodologias descritas no item 4.8).

4.5.1 Análise dos Dados

Os dados foram avaliados por Análise de variância (*one-way*, ANOVA), seguido pelo teste de comparação de médias de Tukey ($p \leq 0,05$). As análises estatísticas foram efetuadas utilizando o programa Statistica 8.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA), com os resultados expressos como média \pm desvio padrão da média e considerado significativamente diferente quando $p \leq 0,05$.

4.6. Secagem dos extratos de café selecionados a partir dos melhores resultados de atividade antioxidante

Definidos quais extratos apresentavam maior atividade antioxidante, novas extrações a partir desses cafés foram realizadas nas condições otimizadas para que pudesse ser obtida uma quantidade suficiente de extrato para aplicação, foram extraídos cerca de 6 L de cada extrato. Os extratos líquidos obtidos foram então secos em *spray dryer* (LabMaq do Brasil, modelo MSD 1.0, Ribeirão Preto, Brasil). Os parâmetros de secagem foram baseados em testes prévios. A alimentação para a câmara de secagem foi realizada por meio de bomba peristáltica sob condições constantes de pressão do compressor do ar de secagem de 2 kgf cm^{-2} , fluxo de ar comprimido de 25 L min^{-1} e diâmetro de saída do ar no sistema de 1 mm. O fluxo de ar de secagem foi de $55 \text{ Nm}^3 \text{ h}^{-1}$, com vazão de alimentação de $0,3 \text{ L h}^{-1}$ e temperatura do ar de secagem de $90 \text{ }^\circ\text{C}$. O extrato seco produzido foi coletado na base do ciclone e armazenado em embalagens plásticas fechadas a vácuo, e mantidas no escuro e sob refrigeração a $4 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.

4.7 Definição da concentração de antioxidante natural

Para avaliação da concentração de extrato de café a ser aplicada em produto cárneo, avaliou-se também a atividade antioxidante do eritorbato de sódio em comparação com os extratos secos. Foram comparados os teores de atividade redutora, atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS+• e atividade antioxidante pela captura do radical livre DPPH (metodologias descritas no item 4.8), utilizando-se uma concentração de 0,01 g mL⁻¹.

4.8 Determinações Analíticas de Compostos Bioativos e Atividade Antioxidantes dos Extratos.

As determinações analíticas de compostos bioativos e atividade antioxidante dos extratos obtidos nos experimentos descritos foram estimadas para 100 g de amostras de grãos de café em base seca. Para efeito de comparação dos resultados com outros estudos reportados na literatura, nos extratos obtidos no experimento DCCR (item 4.4), as determinações foram expressadas também em função do teor de sólidos solúveis, determinados nos extratos em °Brix, utilizando-se um refratômetro portátil (Instrutherm, RT-30ATC, São Paulo, Brasil) com compensação automática de temperatura a 25 °C, conforme metodologia da AOAC (2005).

4.8.1 Determinação de Compostos Escuros

A estimativa dos teores de compostos escuros foi efetuada conforme metodologia descrita por Ludwig et al. (2012) e Marcucci et al. (2013). Para os testes iniciais 0,1 mL da amostra 10% (g mL⁻¹) foi diluído em 17,5 mL de água ultrapura, já para a etapa do DCCR e da avaliação dos diferentes cafés, as diluições foram realizadas visando a mesma concentração de 0,57 mg mL⁻¹. Posteriormente as absorvâncias das soluções foram medidas a 420 nm em espectrofotômetro (PerkinElmer, Lambda XLS, Beaconsfield, Reino Unido). As análises foram realizadas em triplicata.

4.8.2 Determinação de Ácido 5-Cafeilquínico, Cafeína e Estimativa do Conteúdo de Ácidos Clorogênicos

A metodologia empregada foi baseada na utilizada por Dias e Benassi (2015) e Kalschne et al. (2019). As amostras foram diluídas em ácido acético: água (5:95 v v⁻¹), até uma concentração de aproximadamente 0,003 g mL⁻¹ e filtradas (0,45 µm) (Millipore, EUA).

As análises de cromatografia, até a etapa do DCCR, foram realizadas na Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Toledo utilizando o cromatógrafo (Thermo Fischer Scientific, 3000 LC System, Whaltam, Estados Unidos).

O extrato filtrado foi injetado (20 µL) no cromatógrafo. Como condição cromatográfica, foi empregada uma coluna Hypersil GOLD (150 x 4,6 mm, 3 µm) (Thermo Fischer Scientific, Whaltam, Estados Unidos). A fase móvel foi composta por ácido acético/ água ultrapura (5: 95 v v⁻¹) (A) e acetonitrila (B), sendo utilizado o seguinte gradiente de eluição: 1 min, 5% B; 5 min, 13% B; taxa de fluxo de 0,6 mL min⁻¹. A detecção foi fixada em 272 nm para cafeína e 320 nm para os ácidos clorogênicos. As análises foram realizadas em duplicata a 25 °C.

A estimativa do conteúdo de ácidos clorogênicos total foi estimada pela soma dos compostos detectados a 320 nm com base em Budryn et al. (2009), utilizando o 5-ACQ como quantificador padrão.

Soluções com nove concentrações conhecidas de cafeína na faixa de 5 µg mL⁻¹ a 65 µg mL⁻¹ (em duplicata) e soluções com seis concentrações conhecidas de 5-ACQ na faixa de 0,5 µg mL⁻¹ a 30 µg mL⁻¹ (em duplicata) foram usadas para a calibração (R² = 0,99). Todos os resultados foram expressos em base seca como mg de um composto 100 g⁻¹ de café.

As etapas de validação dos modelos e de caracterização de diferentes amostras de café foram realizadas na Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Medianeira. A metodologia empregada foi adaptada da utilizada por Kalschne et al. (2020). As amostras para validação experimental do DCCR e de café torrado para a etapa de comparação entre os cafés foram diluídas em ácido acético: água (5:95 v v⁻¹), até uma concentração de aproximadamente 0,003 g mL⁻¹, enquanto as de cafés verdes foram diluídas a uma concentração de 0,0005 g mL⁻¹ e filtradas (0,45 µm). O extrato filtrado foi injetado (20 µL) no cromatógrafo (Ultimate 3000, Thermo Scientific, Germering, Alemanha). A fase móvel era composta por acetonitrila (A), e ácido acético / água ultrapura (5:95 v v⁻¹) (B) com eluição de 10 min de 13% de A, taxa de

fluxo de $1,7 \text{ mL min}^{-1}$. A detecção de cafeína e 5-ACQ foi fixada em 272 e 320 nm, respectivamente, e a identificação foi baseada nos tempos de retenção e espectros de UV.

Soluções com dez concentrações conhecidas de cafeína na faixa de $5 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ a $65 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ (em duplicata) e soluções com sete concentrações conhecidas de 5-ACQ na faixa de $0,5 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ a $60 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ (em duplicata) foram usadas para a calibração ($R^2 = 0,99$). Todos os resultados foram expressos em base seca como mg de um composto 100 g^{-1} de café.

4.8.3 Determinação de Atividade redutora

Foi empregado o método de Folin-Ciocalteu, efetuado conforme Vignoli, Bassoli e Benassi (2011). As amostras de extrato líquido de café 10% (g mL^{-1}), as amostras da etapa do DCCR e da avaliação dos diferentes cafés, foram diluídas 16 vezes, 1 mL de amostra em 15 mL de água ultrapura. Para a avaliação dos extratos secos, 0,0583 g do extrato seco de café canéfora torrado foram diluídas em 10 mL de água ultrapura e na sequência 1 mL dessa solução foi novamente diluído em 10 mL de água ultrapura, a mesma diluição foi realizada para 0,0547 g de café canéfora verde. A diluição do eritorbato de sódio foi de 0,1 g em 500 mL de água ultrapura.

Uma alíquota de 0,1 mL da amostra diluída foi adicionada de 7,5 mL de água ultrapura e na sequência, de 0,3 mL do reagente de Folin Ciocalteu $0,9 \text{ mol L}^{-1}$. Após agitação, foram acrescentados 1 mL de solução de Na_2CO_3 20% e 1,2 mL de água ultrapura. A solução foi mantida no escuro a temperatura ambiente por 60 min e após foi realizada a leitura em espectrofotômetro UV-Vis (PerkinElmer, Lambda XLS, Beaconsfield, Reino Unido) a 765 nm. As análises foram realizadas em triplicata. Soluções com cinco concentrações conhecidas de ácido gálico na faixa de $0,42 \text{ mMol L}^{-1}$ a $2,8 \text{ mMol L}^{-1}$ (em duplicata) foram usadas para a calibração ($R^2 = 0,99$). Os resultados foram expressos como g de ácido gálico (EAG) 100 g^{-1} de amostra em base seca.

4.8.4 Determinação da Atividade Doadora de Íons Hidrogênio ao Radical ABTS•⁺

As amostras de extrato líquido de café 10% (g mL⁻¹), as amostras da etapa do DCCR e da avaliação dos diferentes cafés, foram diluídas 20 vezes, 0,4 mL de amostra em 7,6 mL de água ultrapura. Para a avaliação dos extratos secos, 0,0583 g do extrato seco de café canéfora torrado foram diluídas em 10 mL de água ultrapura e na sequência 1 mL dessa solução foi novamente diluído em 5 mL de água ultrapura, a mesma diluição foi realizada para 0,0547 g de café canéfora verde. A diluição do eritorbato de sódio foi de 0,1 g em 500 mL de água ultrapura.

A atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS•⁺ foi avaliada conforme descrito por Vignoli, Bassoli e Benassi (2012). A solução de radicais ABTS foi produzida em meio aquoso reagindo 7 mM de solução estoque ABTS em 2,45 mM de persulfato de potássio. A mistura foi disposta em frasco escuro em temperatura ambiente por 16 horas. A solução de ABTS•⁺ foi diluída em tampão fosfato (pH 7,4) até atingir absorvância de $0,700 \pm 0,020$ a 730 nm. Foi adicionado 10 µL da amostra diluída a 4 mL da solução de ABTS⁺ diluída e após 6 minutos de reação foi realizada leitura em espectrofotômetro UV-Vis (PerkinElmer, Lambda XLS, Beaconsfield, Reino Unido) a 730 nm. As análises foram realizadas em triplicata. Soluções de etanol com concentrações conhecidas de Trolox na faixa de 0,1 a 0,8 mMol (em duplicata) foram usadas para a calibração ($R^2 = 0,99$). Os resultados foram expressos como capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) em g Trolox por 100 g de amostra em base seca.

4.8.5 Determinação da Atividade Antioxidante Pela Captura Do Radical Livre DPPH•

A medida da atividade antioxidante pelo método DPPH foi baseada nas metodologias de Guergoletto et al. (2020) e Vignoli, Bassoli e Benassi (2011). As amostras de extrato líquido de café 10% (g mL⁻¹) e as amostras da etapa do DCCR com concentrações definidas conforme Tabela 6, foram diluídas em 10 mL de etanol. Para a avaliação dos extratos secos, 0,0583 g do extrato seco de café canéfora torrado foram diluídas em 10 mL de água ultrapura e na sequência 1 mL dessa solução foi novamente diluído em 5 mL de etanol, a mesma diluição foi realizada para 0,0547 g de café canéfora verde. A diluição do eritorbato de sódio foi de 0,1 g em 500 mL de água ultrapura.

Alíquotas da amostra diluída (0,01 mL) foram adicionadas a uma mistura de 1 mL de tampão acetato 100 mM (pH = 5,5), 1 mL de etanol absoluto e 0,5 mL de solução DPPH• (250 µM). Após 30 minutos de reação no escuro a 25 °C, a absorbância foi medida a 517 nm em espectrofotômetro (PerkinElmer, Lambda XLS, Beaconsfield, Reino Unido). Juntamente foram preparados o branco (sem amostra e sem DPPH) e controle positivo (sem amostra). As análises foram realizadas em triplicata genuína das amostras com medições em duplicata.

O poder antioxidante das amostras 10% (g mL⁻¹) extraídas na primeira etapa, foi calculado pela porcentagem de inibição da atividade do radical livre (IA%), de acordo com a Equação 3:

$$IA \% = 100 - \frac{Absorbância_{amostra}}{Absorbância_{amostra\ controle}} \times 100 \quad (3)$$

As amostras estudadas no DCCR e posteriores, por apresentarem diferentes concentrações, tiveram sua capacidade antioxidante medida por meio do uso da curva padrão de Trolox (R² = 0,99), no intervalo de 0,5 a 5,5 mMol L⁻¹, os resultados foram expressos como equivalentes g de Trolox em 100 g de amostra, com base na massa seca.

4.9 Aplicação Dos Extratos De Café Como Antioxidantes Naturais Em Linguíça Toscana

Os extratos de café canéfora verde e torrado foram aplicados em uma formulação convencional de linguíça toscana (Tabela 2). Foram estabelecidas duas concentrações de extratos a serem utilizadas, sendo uma baseadas na literatura (DILNAWAZ; KUMAR; BHAT, 2017a) e a outra a partir da comparação entre a atividade antioxidante do eritorbato de sódio e dos extratos de café. As formulações desenvolvidas foram comparadas com formulação padrão com uso de antioxidante sintético.

Considerando os 2 extratos de café e duas concentrações para cada extrato, foram elaboradas 4 formulações com o uso de antioxidantes naturais e uma formulação controle com antioxidante sintético. Os produtos foram elaborados de acordo com a RDC nº 272 (BRASIL, 2019a) e Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (BRASIL, 2000).

A formulação utilizada, estava de acordo com uma formulação padronizada e de uso recorrente em aulas práticas ministradas nos Cursos Superiores de Tecnologia em Alimentos e Engenharia de Alimentos da UTFPR, Campus Medianeira. O fluxograma do processo de preparo das amostras pode ser visualizado na Figura 8.

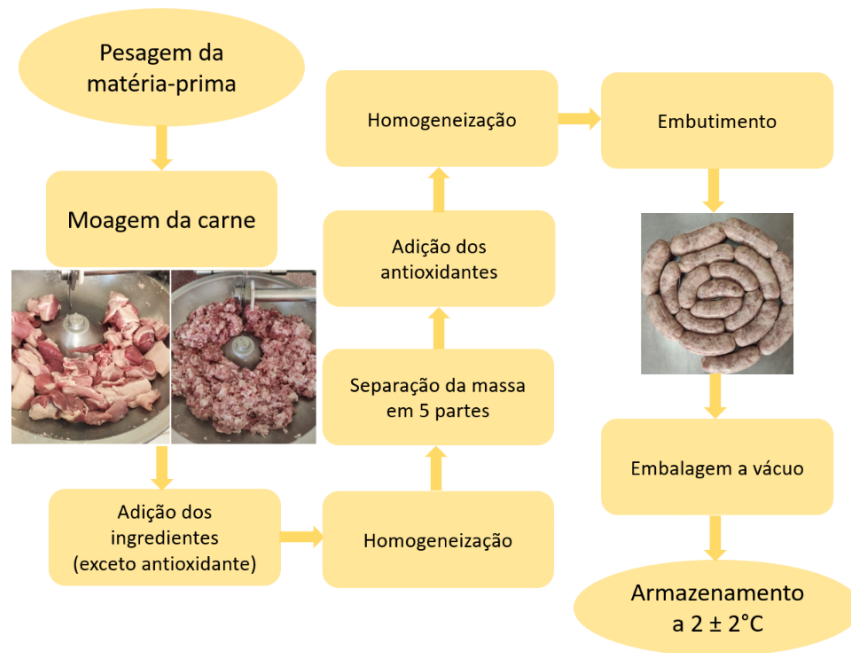
A matéria-prima utilizada no preparo foi cedida pela Frimesa Cooperativa Central. O preparo das amostras consistiu nas seguintes etapas, inicialmente pesou-se a matéria-prima e os insumos a serem utilizados, na sequência foi realizada a moagem da carne em um *cutter* (MADO, Garant MTK 661, Alemanha), após a moagem, a carne já moída foi adicionada dos demais ingredientes, exceto do antioxidante, e homogeneizada. Em seguida, a massa de carne foi dividida em 5 parte e em cada uma delas foi adicionada a quantidade necessária de antioxidante, de acordo com a Tabela 2, a massa foi novamente homogeneizada e em seguida embutida em tripa natural (em embutideira (IV20, série V195001, RB engineering, Italy). Após embutidas as amostras foram divididas, de acordo com as análises a serem realizadas, e então, embaladas a vácuo (Microvac CV8, Selovac, São Paulo, Brasil). As amostras direcionadas para análises microbiológicas e composição centesimal foram, na sequência, levadas para análise em laboratório externo, as amostras para sensorial foram congeladas e as demais, para avaliação da estabilidade oxidativa ao longo de 30 dias, foram armazenadas sob resfriamento a $(2 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C})$. Foram produzidos um total de 15 kg de amostra, divididos em 3 kg para cada formulação avaliada.

Tabela 2 - Formulações base para 10 kg de linguiça toscana crua.

Ingredientes	Formulação base (%)
Carne suína	91,04
Água gelada	3,00
Gelo	3,00
Sal	2,00
Cura rápida	0,20
Antioxidante	*
Condimento para linguiça Toscana	0,50
Alho em pó	0,10
Pimenta branca	0,02
Glutamato monossódico	0,10
Orégano	0,02
Tempero verde	0,02

*0,08% para formulação com eritorbato de sódio, 0,32 % de extrato de café verde, 0,32 % de extrato de café torrado, 1 % de extrato de café verde e 1% extrato de café torrado;
Fonte: Autoria própria (2020).

Figura 8 - Fluxograma do processo de preparo das amostras de linguiça toscana.



Fonte: Autoria própria (2020).

4.10 Avaliação instrumental e físico-química dos produtos elaborados

As amostras foram armazenadas sob resfriamento ($2 \pm 2^\circ\text{C}$) pelo período de vida útil de 30 dias, sendo que nos períodos de 0, 15, 20 e 30 dias, os produtos foram avaliados quanto a cor (amostras cruas e assadas), Análise de Perfil de Textura (TPA), oxidação de gorduras e formação de metamioglobina. Também foi avaliada a composição centesimal inicial das amostras. As metodologias estão descritas na sequência.

4.10.1 Composição centesimal

O teor de umidade, cinzas, proteína, carboidratos e extrato etéreo da formulação base foram realizados em duplicata conforme os procedimentos e normas da AOAC (2005) em laboratório terceirizado.

4.10.2 Medida instrumental de cor

A avaliação instrumental da cor foi realizada em quintuplicata tanto nas amostras cruas quanto nas amostras assadas, preparadas em churrasqueira de fogão em fogo médio por 40 minutos, utilizando-se o colorímetro Minolta CR 400 com iluminante D65 e ângulo de visão de 10°. Os valores de L^* (luminosidade), a^* (componente vermelho-verde) e b^* (componente amarelo-azul), os resultados foram expressos no sistema de cor CIELAB. Foi analisada a diferença entre as amostras apenas no tempo 0, tanto para as amostras cruas quanto para as amostras assadas.

4.10.3 Análise do Perfil de Textura

Foi realizada uma análise do perfil de textura (TPA) avaliando-se os parâmetros, dureza, elasticidade, mastigabilidade e coesividade. A metodologia empregada foi baseada na utilizada por Araujo et al., (2021). A análise do perfil de textura foi realizada, em triplicata, com um analisador de textura (Stable Micro Systems, TA.HD Plus, Vienna Court,, Reino Unido) acoplado a um computador. As amostras foram previamente assadas em uma churrasqueira de fogão, em fogo médio por 40 minutos até a temperatura interna de 74 °C, resfriadas à temperatura ambiente e posteriormente cortadas em cilindros de 2 cm de espessura e de diâmetro, retirando-se as tripas. Eles foram então comprimidos em dois ciclos de compressão consecutivos com uma sonda de 45 mm de diâmetro a uma velocidade de pré-teste de 1 mm s⁻¹, teste de velocidade e pós-teste de 5 mm s⁻¹, distância de 10 mm, tempo de 5 s e força de gatilho de 5 g, realizando uma compressão de 50% da altura da amostra.

4.10.4 Porcentagem de formação de metamioglobina

Foram solubilizados 5 g de amostra em 25 mL de tampão fosfato (40 mMol L⁻¹) a pH 6,8, segundo Krzywicki (1982). A mistura foi homogeneizada com o auxílio de um Ultra Turrax (IKA, T 18, Staufen, Germany) a 6500 RPM por 30 min em banho ultratermostático (7lab,

SSD-10L, Rio de Janeiro, Brasil) a 4 °C. Posteriormente, o homogenato foi centrifugado em centrífuga refrigerada (Cientec, CT 5000R, Belo Horizonte, Brasil) a 5000 g por 30 min a 4 °C. O sobrenadante foi filtrado com papel filtro Whatman n. 1 e a absorvância lida em espectrofotômetro a 525, 572 e 700 nm. Os valores de metamioglobina foram obtidos conforme a Equação 4, onde A é a absorvância encontrada no comprimento de onda correspondente ao número ao seu lado. A avaliação foi realizada em triplicata.

$$\% \text{ Metamioglobina} = \left(1,395 - \frac{A_{572} - A_{700}}{A_{525} - A_{700}} \right) 100 \quad (4)$$

4.10.5 Medida de oxidação lipídica

A oxidação lipídica foi determinada pelo índice de TBARS segundo a metodologia descrita por Tarladgis et al. (1964) e modificado por Crackel et al. (1988) em duplicata. Para a quantificação foram utilizados 10 g de amostra submetidos a hidrólise com 98 mL de água deionizada, 2,5 mL de ácido clorídrico 4 Mol L⁻¹, 2 mL de solução 0,5% de sulfanilamida em 20% de HCl e 2 gotas de antiespumante (8 partes de Span 80 + 1,3 partes de Tween 20), em erlenmeyer de 500 mL. Em seguida, esta solução foi destilada por 10 min e coletados 50 mL do destilado, o qual foi homogeneizado e em triplicata, alíquotas de 5 mL foram transferidas para um tubo de ensaio com tampa rosqueável. Posteriormente, foi adicionado 5 mL de solução de TBA 0,02 Mol L⁻¹ e estes colocados em banho-maria a 85 °C por 35 min, resfriados a temperatura ambiente e em seguida realizada a leitura em espectrofotômetro UV - Visível a 530 nm. Uma curva padrão (R² = 0,99) foi preparada utilizando solução de 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) em água deionizada nas concentrações de 1x10⁻⁷ a 6x10⁻⁶ Mol L⁻¹ de TEP. Para verificar a exatidão do método foi realizada a recuperação do mesmo a partir da comparação de absorvâncias da solução padrão, da solução padrão adicionada de amostra, e da amostra. A porcentagem de recuperação foi de 92%. Os resultados foram expressos em mg de TBARS kg⁻¹ de amostra.

4.11 Avaliação sensorial dos produtos elaborados

As formulações foram processadas seguindo-se as normas de Boas Práticas de Fabricação, após o processo foram armazenadas sob congelamento até o momento da análise.

A avaliação sensorial foi realizada após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UTFPR (parecer consubstanciado nº 3.913.717) (ANEXO A) e realização de análises microbiológicas que comprovassem que os produtos estão aptos ao consumo conforme exigido pela legislação brasileira por meio da Instrução Normativa nº 60 e RDC nº 331 (BRASIL, 2019b; BRASIL, 2019c), sendo:

Salmonella/25g (NF EN ISO 6579-1 2017 AMD 1:2020 E 6579-3 (2014));

Escherichia coli/g (PETRIFILM 3M CONTAGEM DE E. COLI, AOAC 998.08);

Aeróbios mesófilos/g (PETRIFILM 3M CONT. MESOFILOS AFNOR VALIDATION 3M 01/01-09/89). As análises microbiológicas foram realizadas em laboratório terceirizado.

As formulações foram avaliadas, quanto a aceitação sensorial dos atributos cor, sabor, odor, textura e aceitação global, por meio do teste sensorial afetivo de escala hedônica e intenção de compra.

Para a avaliação sensorial, foram utilizadas amostras que haviam sido congeladas, com 4 dias da data de fabricação. As amostras foram assadas em churrasqueira de fogão até atingirem temperatura interna de 74 °C.

Os participantes receberam prévia orientação de como proceder durante as avaliações, receberam também um questionário de avaliação para conhecimento do perfil do participante (APÊNDICE A), além de assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Cada participante avaliou as 5 amostras, sendo estas servidas separadamente de forma aleatória.

Para intenção de compra foi utilizada uma escala estruturada de cinco pontos, onde 1 = certamente não compraria e 5 = certamente compraria. Para o Teste de aceitação por escala hedônica foi utilizada escala de nove pontos onde 9 = gostei extremamente e 1 = desgostei extremamente.

Para o cálculo do Índice de Aceitabilidade de cada preparação, foi utilizada a Equação 5 (TEIXEIRA et al., 1987):

$$\text{Índice de Aceitabilidade} = A \frac{100}{B} \quad (5)$$

Em que, A é a nota média obtida para o produto e B a nota máxima dada ao produto.

Os testes foram realizados por uma equipe piloto composta por 62 avaliadores não treinados, da comunidade acadêmica, bem como, da comunidade externa. A ficha entregue aos participantes é mostrada na Figura 9.

Figura 9 - Ficha de avaliação do teste de escala Hedônica.

TESTE DE ESCALA HEDÔNICA – LINGUIÇA TOSCANA

Nome: _____ Data: ____ / ____ / ____

Você está recebendo uma amostra de linguiça toscana. Por favor, deguste-a e use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou não do produto.

Amostra: _____

9 - Gostei extremamente	Aceitação global	_____
8 - Gostei muito	Odor	_____
7 - Gostei moderadamente	Cor	_____
6 - Gostei ligeiramente	Sabor	_____
5 - Nem gostei, nem desgostei	Textura	_____
4 - Desgostei ligeiramente		
3 - Desgostei moderadamente		
2 - Desgostei muito		
1 - Desgostei extremamente		

Assinale com um “x” qual a sua intenção de compra em relação a este produto:

() Eu certamente compraria
 () Eu provavelmente compraria
 () Tenho dúvidas se compraria
 () Eu provavelmente não compraria
 () Eu certamente não compraria

Comentários: _____

Fonte: Autoria própria (2020).

4.11.1 Análise dos dados

Os dados obtidos foram avaliados por Análise de variância (*One Way* para análises físico-químicas e *main effects* para análise sensorial, ANOVA), seguido pelo teste de comparação de médias de Tukey ($p \leq 0,05$). As análises estatísticas foram efetuadas utilizando o programa Statistica 8.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA). Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão da média e considerado significativamente diferente quando $p \leq 0,05$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação do Processo e do Tipo de Solvente para Obtenção de Extratos de Café

A amostra de café arábica comercial utilizada nas etapas preliminares para determinação de tipo de processo, solvente e otimização das condições de processo ficou principalmente retida na peneira de 20 Mesh (Tabela 3), desta forma a granulometria utilizada para as extrações foi a de 0,85 a 1,00 mm.

Tabela 3 - Resultado da análise granulométrica da amostra de café comercial.

Mesh	mm	Amostra retida (%) \pm DP
16	1,00	0
20	0,85	60,28 \pm 2,43
30	0,595	16,74 \pm 1,57
35	0,425	15,53 \pm 1,24
60	0,250	4,79 \pm 0,69
Fundo	-	2,66 \pm 1,59

Fonte: Autoria própria (2020).

Os valores para a leitura instrumental de cor do café arábica comercial foram $L^* = 20,65 \pm 0,08$, $a^* = 8,05 \pm 0,11$ e $b^* = 16,31 \pm 0,22$, indicando ser um café de torra média (VIGNOLI et al., 2014), com umidade de $4,68 \pm 0,14\%$, a qual se apresenta dentro do valor requerido pela RDC nº 277 (menor do que 5%) (BRASIL, 2005) que determina o regulamento técnico para café, cevada, chá, erva-mate e produtos solúveis.

Os resultados obtidos para atividade antioxidante e determinação de compostos escuros, cafeína, 5-ACQ e estimativa de clorogênicos totais, para os extratos obtidos via incubadora *shaker*, banho ultrassônico e processador ultrassônico, utilizando água como solvente em diferentes temperaturas, podem ser verificados na Tabela 4.

Tabela 4 – Influência da temperatura e do método de extração no teor de compostos bioativos e atividade antioxidante utilizando água como solvente.

Temperatura de Extração (°C)	Shaker	Banho Ultrassônico	Processador Ultrassônico
	Compostos Escuros (UA)		
30	0,087 ± 0,005 ^{bb}	0,112 ± 0,005 ^{ca}	0,072 ± 0,004 ^{cc}
50	0,091 ± 0,004 ^{bc}	0,129 ± 0,005 ^{ba}	0,099 ± 0,004 ^{bb}
80	0,104 ± 0,005 ^{ab}	0,245 ± 0,008 ^{aa}	0,109 ± 0,005 ^{ab}
Cafeína (mg 100 g amostra⁻¹ b. s.)			
30	1163,70 ± 83,44 ^{aa}	962,94 ± 66,92 ^{bb}	1119,35 ± 54,03 ^{bab}
50	1022,28 ± 13,26 ^{ab}	1069,32 ± 5,40 ^{abb}	1138,88 ± 37,72 ^{ba}
80	1073,55 ± 43,43 ^{ab}	1204,64 ± 85,56 ^{aa}	1249,56 ± 34,58 ^{aa}
5-ACQ (mg 100 g amostra⁻¹ b. s.)			
30	199,47 ± 16,15 ^{aa}	160,12 ± 5,51 ^{ba}	119,80 ± 2,55 ^{bb}
50	217,72 ± 13,41 ^{aa}	221,80 ± 6,04 ^{aa}	120,8 ± 6,62 ^{ab}
80	244,01 ± 11,11 ^{aa}	237,26 ± 1,30 ^{aa}	133,73 ± 4,34 ^{ab}
Conteúdo de Ácidos Clorogênicos Totais (mg 100 g amostra⁻¹ b. s.)			
30	643,99 ± 57,54 ^{ba}	551,14 ± 26,70 ^{ca}	595,47 ± 17,84 ^{ba}
50	718,20 ± 48,94 ^{aba}	763,40 ± 41,90 ^{ba}	749,32 ± 5,77 ^{aa}
80	834,67 ± 42,90 ^{aab}	990,77 ± 91,60 ^{aa}	779,19 ± 19,16 ^{ab}
Atividade redutora (g EAG 100 g amostra⁻¹ b. s.)			
30	2,94 ± 0,09 ^{ca}	2,68 ± 0,12 ^{cb}	2,26 ± 0,13 ^{cc}
50	3,26 ± 0,07 ^{ba}	2,96 ± 0,08 ^{bb}	2,70 ± 0,17 ^{bc}
80	3,85 ± 0,08 ^{aa}	3,62 ± 0,12 ^{ab}	2,94 ± 0,06 ^{ac}
Atividade Antioxidante pela Captura do Radical Livre DPPH IA (%)			
30	33,57 ± 0,82 ^{ca}	18,13 ± 0,79 ^{cc}	26,21 ± 0,82 ^{cb}
50	37,98 ± 0,86 ^{ba}	26,13 ± 0,71 ^{bc}	28,79 ± 0,86 ^{bb}
80	43,65 ± 0,88 ^{aa}	29,05 ± 0,88 ^{ac}	35,86 ± 0,88 ^{ab}
Atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS+• (g Eq Trolox 100g de amostra⁻¹ b.s.)			
30	5,89 ± 0,18 ^{cb}	7,41 ± 0,18 ^{ca}	5,51 ± 0,28 ^{cc}
50	7,45 ± 0,27 ^{bb}	10,08 ± 0,31 ^{ba}	6,20 ± 0,19 ^{bc}
80	9,32 ± 0,33 ^{ab}	10,71 ± 0,38 ^{aa}	8,68 ± 0,29 ^{ac}

EAG: Equivalente de Ácido Gálico; IA: inibição da atividade do radical livre; b.s.: base seca; UA: unidade arbitrária; Resultados expressos pela média ± desvio padrão (n=4 para cafeína, 5-ACQ e clorogênicos totais e n=9 para compostos escuros, atividade redutora, DPPH e ABTS); Médias com diferentes letras minúsculas sobrescritas entre as linhas e letras maiúsculas entre as colunas indicam diferença significativa entre as extrações pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Fonte: A autoria própria (2020).

Por meio dos resultados mostrados na Tabela 4, foi possível verificar que a temperatura teve influência significativa nos resultados, sendo que os teores de compostos bioativos e atividade antioxidante aumentaram significativamente ($p < 0,05$) com o aumento da temperatura. Quanto ao método de extração a incubadora *shaker* foi significativamente ($p < 0,05$) mais eficiente na extração de atividade redutora e atividade antioxidante pela captura do radical livre DPPH, já o banho de ultrassom apresentou teor de compostos escuros e ABTS significativamente superior aos demais métodos, enquanto os maiores valores de 5-ACQ e teor

total de ácidos clorogênicos foram obtidos em *shaker* e banho ultrassônico, sendo estes estatisticamente similares ($p > 0,05$). Os maiores valores de cafeína foram obtidos via processador ultrassônico, porém estes foram estatisticamente similares aos obtidos por banho ultrassônico. Os baixos valores obtidos via ultrassom com sonda provavelmente são explicados devido a necessidade do uso indireto do equipamento, sonda ultrassônica imersa em banho d'água com a amostra disposta dentro de um Erlenmeyer colocado no banho, pois estudos como os de Meregalli et al. (2020) e Wen et al. (2019) mostram maior eficiência desse equipamento em relação a extração convencional, quando a *probe* é inserida diretamente na amostra. Não foram encontrados trabalhos onde a sonda fosse aplicada indiretamente.

Bravo et al. (2013) aplicaram a extração convencional sólido-líquido, em uma concentração de 0,06 g de café arábica por mL de solvente (água), por 10 min a 80 °C e observaram valores intermediários de compostos escuros aos das três extrações realizadas no presente estudo, 0,160 AU, e um valor menor para o teor de atividade redutora, $1,74 \pm 0,03$ g EAG 100 g^{-1} em base seca. O teor de compostos escuros é dependente do nível de torra do café, pois quanto mais torrado, maior a concentração de compostos escuros, resultantes da reação de Maillard, o que pode ter influenciado nessa semelhança. Já o maior teor de fenólicos observado no presente estudo pode ser resultante do uso do *shaker*, banho de ultrassom e processador ultrassônico, bem como pelo uso da menor razão amostra/ solvente.

Considerando os resultados das extrações sólido-líquido realizadas em *shaker* e banho ultrassônico (Tabela 4), observou-se que os desempenhos na extração dos compostos bioativos de interesse foram maiores que na extração utilizando o processador ultrassônico, nas condições estudadas. Desta forma, decidiu-se avaliar novamente as extrações via incubadora *shaker* e banho de ultrassom, porém desta vez comparando o uso de água e solução etanólica de 30% como solvente.

Os resultados obtidos para atividade antioxidante e determinação de compostos escuros, cafeína, 5-ACQ e estimativa de clorogênicos totais para os extratos obtidos via incubadora *shaker* e banho ultrassônico utilizando água e solução etanólica 30% são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - Influência da temperatura, do solvente e do método no teor de compostos bioativos e atividade antioxidante dos extratos obtidos a partir de diferentes condições de extração.

Temperatura de Extração (°C)	Solvente	Shaker	Banho de Ultrassom
		Compostos Escuros (UA)	
50	Água	0,077 ± 0,005 ^{dB}	0,102 ± 0,006 ^{dA}
70	Água	0,096 ± 0,004 ^{cB}	0,133 ± 0,007 ^{cA}
50	Solução etanólica 30%	0,267 ± 0,005 ^{bB}	0,313 ± 0,007 ^{bA}
70	Solução etanólica 30%	0,317 ± 0,008 ^{aB}	0,453 ± 0,005 ^{aA}
Cafeína (mg 100 g⁻¹ b.s.)			
50	Água	968,98 ± 61,75 ^{cB}	1137,20 ± 8,03 ^{bA}
70	Água	1114,70 ± 57,39 ^{bA}	1152,00 ± 43,31 ^{bA}
50	Solução etanólica 30%	1304,46 ± 12,38 ^{aA}	1201,54 ± 63,26 ^{abB}
70	Solução etanólica 30%	1346,01 ± 51,68 ^{aA}	1257,26 ± 23,76 ^{abB}
5-ACQ (mg 100 g⁻¹ b.s.)			
50	Água	211,83 ± 0,65 ^{bA}	221,78 ± 8,06 ^{aA}
70	Água	239,52 ± 4,03 ^{aA}	241,17 ± 7,77 ^{aA}
50	Solução etanólica 30%	239,03 ± 10,17 ^{aA}	243,19 ± 3,79 ^{aA}
70	Solução etanólica 30%	253,42 ± 2,97 ^{aA}	251,30 ± 8,61 ^{aA}
Conteúdo de Ácidos Clorogênicos Totais (mg 100 g⁻¹ b.s.)			
50	Água	733,39 ± 5,81 ^{aA}	746,52 ± 49,81 ^{aA}
70	Água	767,11 ± 86,60 ^{aA}	836,06 ± 69,69 ^{aA}
50	Solução etanólica 30%	826,87 ± 43,30 ^{aA}	765,67 ± 25,28 ^{aA}
70	Solução etanólica 30%	930,12 ± 56,23 ^{aA}	895,88 ± 33,53 ^{aA}
Atividade redutora (g EAG 100 g⁻¹ b.s.)			
50	Água	3,05 ± 0,10 ^{dB}	3,34 ± 0,10 ^{dA}
70	Água	3,42 ± 0,10 ^{cB}	3,58 ± 0,06 ^{cA}
50	Solução etanólica 30%	4,40 ± 0,09 ^{bA}	4,24 ± 0,06 ^{bB}
70	Solução etanólica 30%	4,80 ± 0,10 ^{aB}	5,18 ± 0,15 ^{aA}
Atividade Antioxidante pela Captura do Radical Livre DPPH IA (%)			
50	Água	34,83 ± 1,98 ^{dB}	40,07 ± 0,86 ^{dA}
70	Água	39,97 ± 1,75 ^{cB}	45,47 ± 0,63 ^{cA}
50	Solução etanólica 30%	51,83 ± 1,38 ^{bB}	53,95 ± 0,59 ^{bA}
70	Solução etanólica 30%	56,01 ± 0,58 ^{aB}	58,94 ± 1,59 ^{aA}
Atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS+• (g EqTrolox 100g⁻¹ bs.)			
50	Água	7,71 ± 0,41 ^{dB}	10,39 ± 0,20 ^{dA}
70	Água	8,97 ± 0,49 ^{cB}	11,25 ± 0,36 ^{cA}
50	Solução etanólica 30%	10,70 ± 0,45 ^{bB}	11,94 ± 0,31 ^{bA}
70	Solução etanólica 30%	12,38 ± 0,21 ^{aB}	13,37 ± 0,29 ^{aA}

EAG: Equivalente de Ácido Gálico; IA: inibição da atividade do radical livre; Eq: Equivalente; UA: unidade arbitrária; b.s.: base seca; Resultados expressos pela média ± desvio padrão (n=4 para cafeína, 5-ACQ e clorogênicos totais e n=9 para compostos escuros, atividade redutora, DPPH e ABTS); Médias com diferentes letras minúsculas sobrescritas entre as linhas e letras maiúsculas entre as colunas indicam diferença significativa entre as extrações pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Fonte: Autoria própria (2020).

Os resultados mostrados na Tabela 5 confirmaram que o aumento da temperatura aumenta significativamente ($p \leq 0,05$) a extração de compostos bioativos, ainda, esses

resultados indicam a importância da posição do Erlenmeyer no banho de ultrassom, pois nessa segunda etapa de avaliação dos métodos de extração o banho de ultrassom apresentou resultados superiores em comparação a incubadora *shaker* na maioria dos resultados (compostos escuros, atividade redutora, DPPH e ABTS), os resultados de 5-ACQ e clorogênicos totais foram estatisticamente similares ($p > 0,05$) em ambos os métodos. Apenas o maior valor de cafeína, com diferença significativa do obtido em ultrassom, foi alcançado na extração com *shaker*. Esses resultados vão de encontro a outros estudos que mostram maior eficiência da extração assistida por ultrassom em relação a extração convencional com agitação (REZENDE; NOGUEIRA; NARAIN, 2017; SAIFULLAH et al., 2020).

Os resultados também mostraram que a mistura de água e etanol extraiu significativamente maiores quantidades de compostos antioxidantes do que a água, confirmando a eficiência do uso de solução etanólica na extração de compostos antioxidantes, assim como nos resultados encontrados por Bravo et al. (2013), Kim et al. (2016) e Oliveira et al. (2019). A influência do aumento da temperatura na extração de compostos bioativos, se deve ao fato do calor tornar as paredes celulares permeáveis, aumentando a solubilidade e a difusão dos compostos a serem extraídos e diminuindo a viscosidade dos solventes, facilitando dessa forma, a extração (OLIVEIRA, 2014).

A maior eficiência do banho ultrassônico possivelmente decorre do fenômeno de cavitação, onde bolhas formadas pelas ondas ultrassônicas crescem e colapsam, criando pontos quentes e condições locais extremas que aceleram as reações bioquímicas em sua vizinhança. O colapso dessas bolhas gera ondas de choque e colisão que causam a fragmentação na estrutura celular, facilitando o acesso do solvente aos compostos bioativos e aumentando assim as taxas de transferência de massa na camada limite da matriz sólida (KUMAR; SRIVASTAV; SHARANAGAT, 2021). Enquanto a maior eficiência da mistura etanólica provavelmente ocorre devido as características químicas dos compostos fenólicos, que contêm grupos hidroxila (polar), benzoico (apolar) e cetona (polar) em sua estrutura (KIM et al., 2016), sendo assim, a mistura de etanol em água, que exibe significativa polaridade e também é suficientemente anfífilico para interagir com moléculas apolares, extraí, com mais eficiência, os compostos bioativos

Desta forma, definiu-se como melhor método de extração o banho de ultrassom, como melhor solvente a solução etanólica (30%, v v⁻¹) em uma temperatura de 70 °C. Definidos os parâmetros preliminares de extração, com o objetivo de otimizar a obtenção do extrato de café, aplicou-se um delineamento composto central rotacional.

5.2 Otimização da Extração de Compostos Antioxidantes

Os resultados experimentais obtidos para as seis respostas avaliadas na extração de compostos antioxidantes do café são mostrados na Tabela 6.

A média do teor de compostos escuros variou de 0,236 a 0,778 UA, a de cafeína de 1241,14 a 1502,14 mg 100 g⁻¹ b. s., o de 5-ACQ de 123,14 a 269,66 mg 100 g⁻¹ b. s., e a de ácidos clorogênicos de 503,90 a 1309,40 mg 100 g⁻¹ b. s., já a de teor de atividade redutora nos extratos variou de 4,14 a 7,22 g EAG 100 g⁻¹ b. s, a atividade antioxidante pela captura do radical livre DPPH de 4,32 a 11,12 g Eq de Trolox 100 g⁻¹ b. s e a atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS⁺• de 6,61 a 21,37 g Eq de Trolox 100 g⁻¹ b. s.

Os resultados obtidos para os extratos obtidos nas condições do DCCR apresentaram boas quantidades de teores de compostos bioativos e atividade antioxidante. Vignoli, Bassoli e Benassi (2011) avaliaram o teor de compostos bioativos e atividade antioxidante de extratos de café arábica solúveis de 12 tipos de torras (L*=12 a 31). Para a cafeína obteve valores médios de 4,7 g 100 g sólidos solúveis⁻¹, com teores de 5-ACQ decrescendo de 5,96 a 0,22 g 100 g sólidos solúveis⁻¹ com o aumento da torra. Para atividade antioxidante observaram-se valores próximos a 17 g ácido gálico 100 g sólido solúveis⁻¹ pelo método de Folin e valores médios na faixa de 20 a 40 g Trolox 100 g sólido solúveis⁻¹ pelo método ABTS.

Considerando o teor de sólidos dos extratos obtidos nas condições do DCCR (Tabela 7), podemos estimar teores aproximados em função dos sólidos solúveis de cafeína na faixa de 5,51 a 10,01 g 100 g de sólidos solúveis⁻¹, para 5-ACQ de 0,56 a 1,46 g 100 de sólidos solúveis⁻¹, de atividade antioxidante de 20,52 a 40,10 g ácido gálico g 100 de sólidos solúveis⁻¹ pelo método de Folin e 36,04 a 118,70 g Trolox g 100 de sólidos solúveis⁻¹ pelo método ABTS (APÊNDICE B – Tabela 22). Ou seja, em função das condições experimentais estudadas, foi possível obter extratos de café com o dobro de cafeína e 2 a 3 vezes mais atividade antioxidante.

Tabela 6 - Compostos bioativos e atividade antioxidantes em extratos de café arábica obtidos por extração hidroalcoólica assistida por ultrassom utilizando um delineamento central composto rotacional 2³ com triplicata no ponto central.

Ensaio	Condições de extração			Compostos bioativos						
	X ₁ (min)	X ₂ (%)	X ₃ g/ mL	Y ₁ (UA)	Y ₂ (mg 100 g ⁻¹ b.s.)	Y ₃ (mg 100 g ⁻¹ b.s.)	Y ₄ (mg 100 g ⁻¹ b.s.)	Y ₅ (g EAG 100 g ⁻¹ b.s.)	Y ₆ (g EqTrolox 100 g ⁻¹ b. s.)	Y ₇ (g EqTrolox 100 g ⁻¹ b. s.)
1	5 (-1)	25 (-1)	5/100 (-1)	0,331 ± 0,004	1401,5 ± 71,4	175,1 ± 13,0	679,2 ± 42,7	5,24 ± 0,09	9,76 ± 0,79	11,82 ± 0,89
2	15 (1)	25 (-1)	5/100 (-1)	0,352 ± 0,005	1379,9 ± 108,2	163,4 ± 13,6	681,1 ± 22,2	5,02 ± 0,15	9,50 ± 0,26	11,14 ± 0,74
3	5 (-1)	35 (1)	5/100 (-1)	0,748 ± 0,003	1368,9 ± 35,7	162,9 ± 8,2	607,2 ± 49,7	5,61 ± 0,12	11,12 ± 0,27	11,06 ± 0,69
4	15 (1)	35 (1)	5/100 (-1)	0,778 ± 0,005	1490,0 ± 157,1	190,2 ± 2,7	971,1 ± 45,6	6,28 ± 0,12	10,05 ± 0,29	14,56 ± 0,62
5	5 (-1)	25 (-1)	15/ 100 (1)	0,332 ± 0,004	1302,0 ± 117,0	160,1 ± 5,7	626,3 ± 44,2	4,39 ± 0,06	7,77 ± 0,12	10,58 ± 0,17
6	15 (1)	25 (-1)	15/ 100 (1)	0,321 ± 0,004	1281,9 ± 33,9	165,2 ± 7,4	633,4 ± 61,8	4,74 ± 0,05	8,18 ± 0,13	13,78 ± 0,25
7	5 (-1)	35 (1)	15/ 100 (1)	0,330 ± 0,004	1267,3 ± 29,6	169,9 ± 8,9	740,8 ± 59,3	4,73 ± 0,09	7,90 ± 0,12	8,17 ± 0,25
8	15 (1)	35 (1)	15/ 100 (1)	0,312 ± 0,003	1303,7 ± 19,2	182,5 ± 16,4	628,3 ± 27,8	4,90 ± 0,03	8,11 ± 0,10	8,26 ± 0,22
9	1.6 (-1.68)	30 (0)	10/ 100 (0)	0,503 ± 0,004	1298,6 ± 24,6	139,4 ± 1,9	625,5 ± 40,9	4,81 ± 0,05	8,26 ± 0,08	8,81 ± 0,27
10	18.4 (1.68)	30 (0)	10/ 100 (0)	0,506 ± 0,004	1442,3 ± 164,0	167,1 ± 2,1	699,8 ± 12,2	5,14 ± 0,07	9,21 ± 0,28	9,70 ± 0,24
11	10 (0)	21,6 (-1.68)	10/ 100 (0)	0,236 ± 0,003	1241,1 ± 28,1	137,9 ± 5,4	503,9 ± 33,3	4,14 ± 0,07	7,84 ± 0,15	6,61 ± 0,39
12	10 (0)	38,4 (1.68)	10/ 100 (0)	0,531 ± 0,004	1427,4 ± 144,8	165,7 ± 16,1	717,6 ± 75,5	5,39 ± 0,07	9,84 ± 0,15	9,07 ± 0,27
13	10 (0)	30 (0)	1.6/ 100 (-1.68)	0,473 ± 0,005	1362,7 ± 24,9	137,1 ± 5,8	688,4 ± 45,4	7,22 ± 0,31	4,32 ± 0,23	21,37 ± 1,10
14	10 (0)	30 (0)	18.4/ 100 (1.68)	0,290 ± 0,003	1254,2 ± 48,0	123,1 ± 2,8	647,2 ± 9,6	4,51 ± 0,04	7,44 ± 0,15	7,96 ± 1,9
15	10 (0)	30 (0)	10/ 100 (0)	0,408 ± 0,003	1485,4 ± 168,9	263,8 ± 7,9	1309,4 ± 14,4	4,72 ± 0,08	8,64 ± 0,31	8,58 ± 0,13
16	10 (0)	30 (0)	10/ 100 (0)	0,408 ± 0,004	1502,1 ± 92,6	269,7 ± 3,8	1254,8 ± 93,0	4,77 ± 0,08	8,54 ± 0,23	8,16 ± 0,16
17	10 (0)	30 (0)	10/ 100 (0)	0,406 ± 0,003	1358,3 ± 130,7	266,7 ± 5,8	1282,1 ± 71,6	4,79 ± 0,00	8,47 ± 0,23	8,45 ± 0,23

X₁: Tempo; X₂: Proporção de etanol em água; X₃: Razão amostra/ solvente; Y₁: Compostos escuros; Y₂: Cafeína; Y₃: 5-ACQ5; Y₄: Conteúdo de ácidos clorogênicos; Y₅: Atividade redutora; Y₆: Atividade Antioxidante pela Captura do Radical Livre DPPH; Y₇: Atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS⁺•; EAG: Equivalente de Ácido Gálico; IA: inibição da atividade do radical livre; Eq: Equivalente; UA: unidade arbitrária; b.s.: base seca; Resultados expressos pela média ± desvio padrão (n=4 para cafeína, 5-ACQ e clorogênicos totais e n=9 para compostos escuros, atividade redutora, DPPH e ABTS).

Fonte: Autoria própria (2020).

Tabela 7 - Sólidos solúveis.

Ensaio	°Brix	Ensaio	°Brix	Ensaio	°Brix
1	14,0 ± 0	7	22,7 ± 0,47	13	18,0 ± 0
2	14,3 ± 0,47	8	22,3 ± 0,47	14	22,0 ± 0
3	20,7 ± 0,47	9	20,3 ± 0,47	15	18,7 ± 0,94
4	20,0 ± 0	10	20,0 ± 0	16	19,7 ± 0,47
5	20,0 ± 0	11	16,7 ± 0,47	17	20,0 ± 0
6	20,0 ± 0	12	22,7 ± 0,47	-	-

Resultados expressos pela média ± desvio padrão (n=3).

Fonte: Autoria própria (2020).

Os resultados obtidos no experimento foram superiores quando comparado aos obtidos por Marcucci et al. (2013) que avaliaram 33 cafés solúveis comerciais de 17 diferentes marcas (tradicionais e *gourmets*), com teores médios para cafeína na faixa de 2,32 a 4,08 g 100 g amostra⁻¹, para 5-ACQ de 0,38 a 2,66 g 100 g⁻¹ e na estimativa de compostos escuros absorvâncias de 0,26 a 0,48. Para a capacidade redutora, os autores observaram valores de 9,91 a 15,41 g ácido gálico 100 g⁻¹ pelo método de Folin e valores médios na faixa de 20,30 a 37,02 g Trolox 100 g⁻¹ para a atividade antioxidante pelo método ABTS.

Na Tabela 8 são exibidos os valores dos efeitos das variáveis independentes e suas interações para as respostas teores de compostos escuros, cafeína, ácido 5 – cafeoilquínico, ácidos clorogênicos, atividade redutora, atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS+• e atividade antioxidante pela captura do radical livre DPPH.

Tabela 8 - Efeitos estimados para as variáveis resposta do rendimento do processo.

(continua)

Variável Resposta	Parâmetro	Efeito	Erro Padrão	t (11)	p-value
Compostos Escuros Y ₁	Mean	0,395	0,012	32,883	0,000*
	x ₁	0,004	0,020	0,215	0,833
	x ₂	0,194	0,020	9,849	0,000*
	x ₃	-0,179	0,020	-9,073	0,000*
	x ₁ ²	0,080	0,020	9,849	0,000*
	x ₂ x ₃	-0,214	0,026	-8,283	0,000*
t (9)					
Cafeína Y ₂	Mean	1447,391	32,722	44,233	0,000*
	x ₁	52,396	30,751	1,704	0,123
	x ₂	55,350	55,350	1,800	0,105
	x ₃	-97,890	30,750	-3,183	0,011*
	x ₁ ²	-47,090	33,877	-1,390	0,198
	x ₂ ²	-72,704	33,877	-3,146	0,060
	x ₃ ²	-91,023	33,877	-2,687	0,023*
	x ₁ x ₂	49,801	40,160	1,240	0,246

Tabela 8 - Efeitos estimados para as variáveis resposta do rendimento do processo. (conclusão)

Variável Resposta	Parâmetro	Efeito	Erro Padrão	t (9)	p-value
5-ACQ Y₃	Mean	264,471	11,978	22,080	0,000*
	x ₁	11,674	11,256	1,037	0,327
	x ₂	12,965	11,256	1,152	0,279
	x ₃	-5,464	11,256	-0,485	0,639
	x ₁ ²	-65,357	12,400	-5,270	0,000*
	x ₂ ²	-66,357	12,401	-5,351	0,000*
	x ₃ ²	-81,717	12,401	-6,590	0,000*
	x ₁ x ₂	11,645	14,700	0,792	0,449
Ácidos Clorogênicos Totais Y₄	Mean	1276,202	50,360	25,342	0,000*
	x ₁	56,434	47,326	1,192	0,264
	x ₂	100,625	47,326	2,126	0,062
	x ₃	-55,538	47,326	-1,173	0,271
	x ₁ ²	-399,337	52,138	-7,659	0,000*
	x ₂ ²	-436,096	52,138	-8,364	0,000*
	x ₃ ²	-395,688	52,138	-7,589	0,000*
	x ₁ x ₃	-117,783	61,807	-1,906	0,089
t (11)					
Atividade redutora Y₅	Mean	4,791	0,090	53,340	0,000*
	x ₁	0,222	0,148	1,504	0,161
	x ₂	0,620	0,148	4,197	0,001*
	x ₃	-1,163	0,148	-7,875	0,000*
	x ₃ ²	0,722	0,151	4,767	0,000*
	x ₂ x ₃	-0,284	0,193	-1,470	0,169
Atividade Antioxidante pela Captura do Radical Livre DPPH Y₆	Mean	8,911	0,607	14,690	0,000*
	x ₁	0,128	0,759	0,169	0,869
	x ₂	0,782	0,759	1,031	0,325
	x ₃	-0,472	0,759	-0,621	0,547
	x ₂ ²	0,569	0,799	0,712	0,491
	x ₃ ²	-1,529	0,800	-1,914	0,082
Atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS+• Y₇	Mean	8,668	0,683	12,695	0,000*
	x ₁	1,118	1,122	0,996	0,341
	x ₂	-0,165	1,122	-0,147	0,886
	x ₃	-4,442	1,122	-3,957	0,002*
	x ₃ ²	4,502	1,151	3,911	0,002*
	x ₂ x ₃	-2,648	1,466	-1,806	0,098

*p ≤ 0,05

x₁: Tempo (min); x₂: Proporção Etanol em Água (%); x₃: Razão Amostra/ Solvente (m v⁻¹).

Fonte: Autoria própria (2020).

Para as variáveis compostos escuros, cafeína, 5-ACQ, ácidos clorogênicos totais, teor de atividade redutora e DPPH, os termos lineares do tempo e proporção etanol em água tiveram efeitos positivos, entretanto o tempo não foi significativo (p > 0,05), já a proporção etanol em água foi significativa para Y₁, Y₅, o que mostra que quanto maior a proporção etanol em água maior a quantidade extraída de compostos escuros e compostos fenólicos.

O termo razão amostra/ solvente teve efeito negativo para todas as variáveis, não sendo significativo apenas para 5-ACQ, ácidos clorogênicos totais e DPPH, mostrando que, na faixa

estudada, quanto maior a quantidade de solvente em relação a amostra, maior as extrações de compostos bioativos e atividade antioxidante.

O termo quadrático do tempo foi positivo e significativo ($p \leq 0,05$) para a variável compostos escuros e significativo, mas negativo para 5-ACQ e ácidos clorogênicos totais, do teor de etanol em água foi positivo e significativo para 5-ACQ e ácidos clorogênicos totais, enquanto o termo quadrático da amostra/ solvente foi positivo e significativo para teor de atividade redutora e ABTS e negativo e significativo para cafeína, 5-ACQ e ácidos clorogênicos totais. A existência de termos quadráticos significativos ($p \leq 0,05$) mostra que a superfície de resposta contém curvatura.

Os dados obtidos por meio da análise de variância (ANOVA) do modelo estão demonstrados na Tabela 9.

Tabela 9 - Análise de variância dos modelos.

	Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F _{calculado}	F _{tabelado}	p-valor
Compostos Escuros	Regressão	0,351	5	0,070	52,746	3,204	0,000*
	Resíduos	0,015	11	0,001			
	Total	0,366	16	0,023			
Cafeína	Regressão	87551,36	7	12507,34	3,877	3,293	0,031*
	Resíduos	29030,81	9	3225,65			
	Total	116582,	16	7286,39			
5-ACQ	Regressão	28944,07	7	4134,87	9,567	3,293	0,002*
	Resíduos	3889,89	9	432,21			
	Total	32833,96	16	2052,12			
Ácidos Clorogênicos Totais	Regressão	981445,44	7	140206,49	18,351	3,293	0,000*
	Resíduos	68763,91	9	7640,32			
	Total	1050208,35	16	65638,02			
Teor de Atividade redutora	Regressão	7,94516	5	1,589	21,357	3,204	0,000*
	Resíduos	0,818425	11	0,074			
	Total	8,763587	16	0,548			
Atividade Antioxidante pela Captura do Radical Livre DPPH	Regressão	12,76895	4	3,192	1,768	3,259	0,200
	Resíduos	21,66435	12	1,805			
	Total	34,43329	16	2,152			
Atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS+•	Regressão	151,45410	5	30,291	7,047	3,204	0,004*
	Resíduos	47,2831	11	4,298			
	Total	198,7372	16	12,421			

* $p \leq 0,05$

Fonte: Autoria própria (2020).

Verificou-se (Tabela 9) que os modelos encontrados para as respostas Y_1 , Y_2 , Y_3 , Y_4 , Y_5 e Y_7 , ou seja, exceto para Y_6 (DPPH), foram significativos dentro da faixa estudada e podem ser utilizados para representar os dados experimentais. Os modelos quadráticos, significativos ($p \leq 0,05$) com o coeficiente de regressão (R^2) e o $R^2_{ajustado}$, são mostrados na Tabela 10.

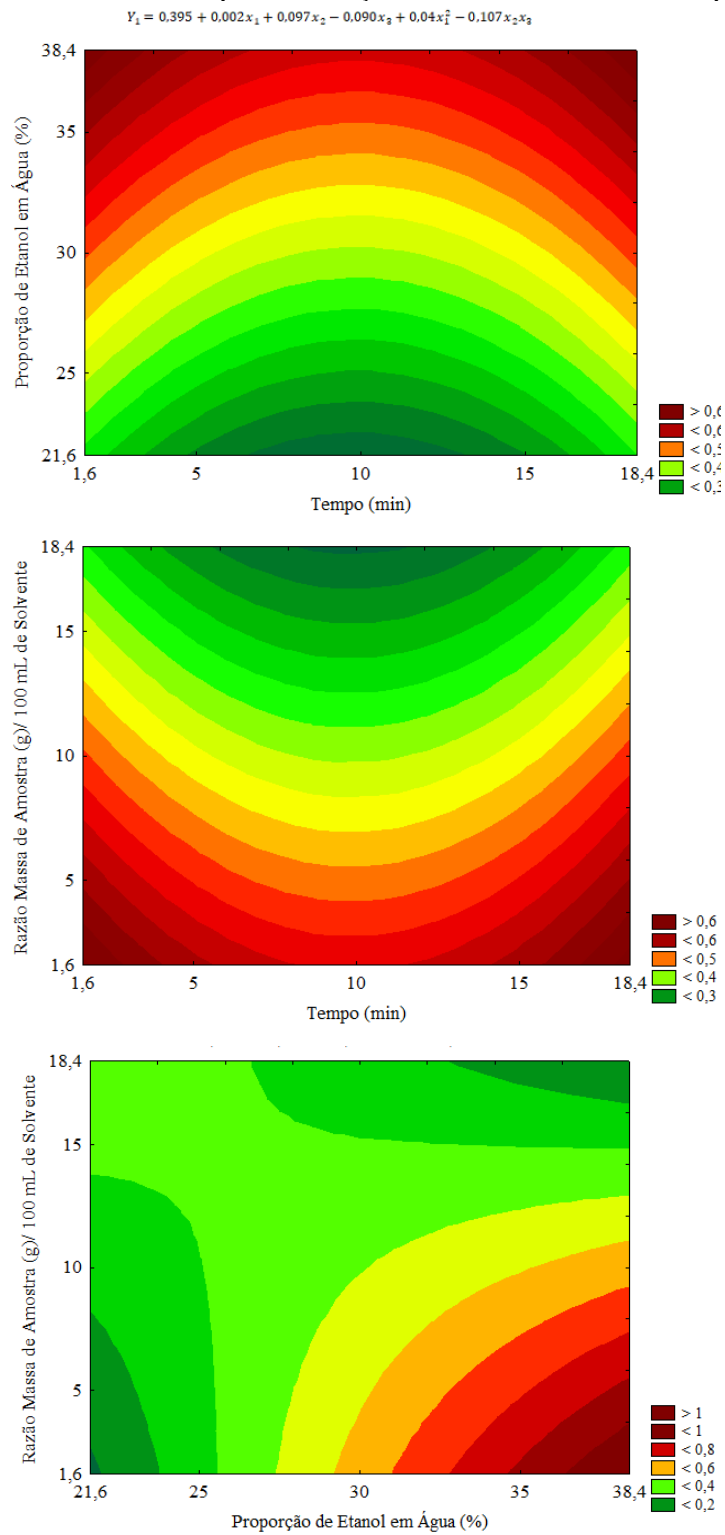
Tabela 10 - Modelos quadráticos do DCCR para a predição das variáveis respostas.

Variável Resposta	Modelo	R^2	$R^2_{ajustado}$
Compostos Escuros	$Y_1 = 0,395 + 0,002x_1 + 0,097x_2 - 0,090x_3 + 0,04x_1^2 - 0,107x_2x_3$	0,960	0,942
Cafeína	$Y_2 = 1447,391 + 26,198x_1 + 27,675x_2 - 48,945x_3 - 23,545x_1^2 - 36,352x_2^2 - 45,511x_3^2 + 24,901x_1x_2$	0,751	0,557
5-ACQ	$Y_3 = 264,471 + 5,837x_1 + 6,482x_2 - 2,732x_3 - 32,679x_1^2 - 33,178x_2^2 - 40,858x_3^2 + 5,823x_1x_2$	0,881	0,789
Ácidos Clorogênicos Totais	$Y_4 = 1276,202 + 28,217x_1 + 50,313x_2 - 27,769x_3 - 199,668x_1^2 - 218,048x_2^2 - 197,844x_3^2 - 58,892x_1x_3$	0,934	0,884
Teor de Atividade redutora	$Y_5 = 4,791 + 0,111x_1 + 0,310x_2 - 0,581x_3 + 0,360x_3^2 - 0,142x_2x_3$	0,907	0,864
Atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS+	$Y_7 = 8,668 + 0,559x_1 - 0,083x_2 - 0,221x_3 + 0,251x_2^2 - 1,324x_3^2$	0,762	0,654

x_1 : Tempo (min); x_2 : Proporção Etanol em Água (%); x_3 : Razão Amostra/ Solvente ($m v^{-1}$).
Fonte: Autoria própria (2020).

Constata-se que os coeficientes de determinação obtidos, indicam boas correlações entre as respostas obtidas experimentalmente e os modelos matemáticos. Desta forma, foi possível gerar as superfícies de contorno para estas variáveis (Figuras 10, 11, 12, 13, 14 e 15).

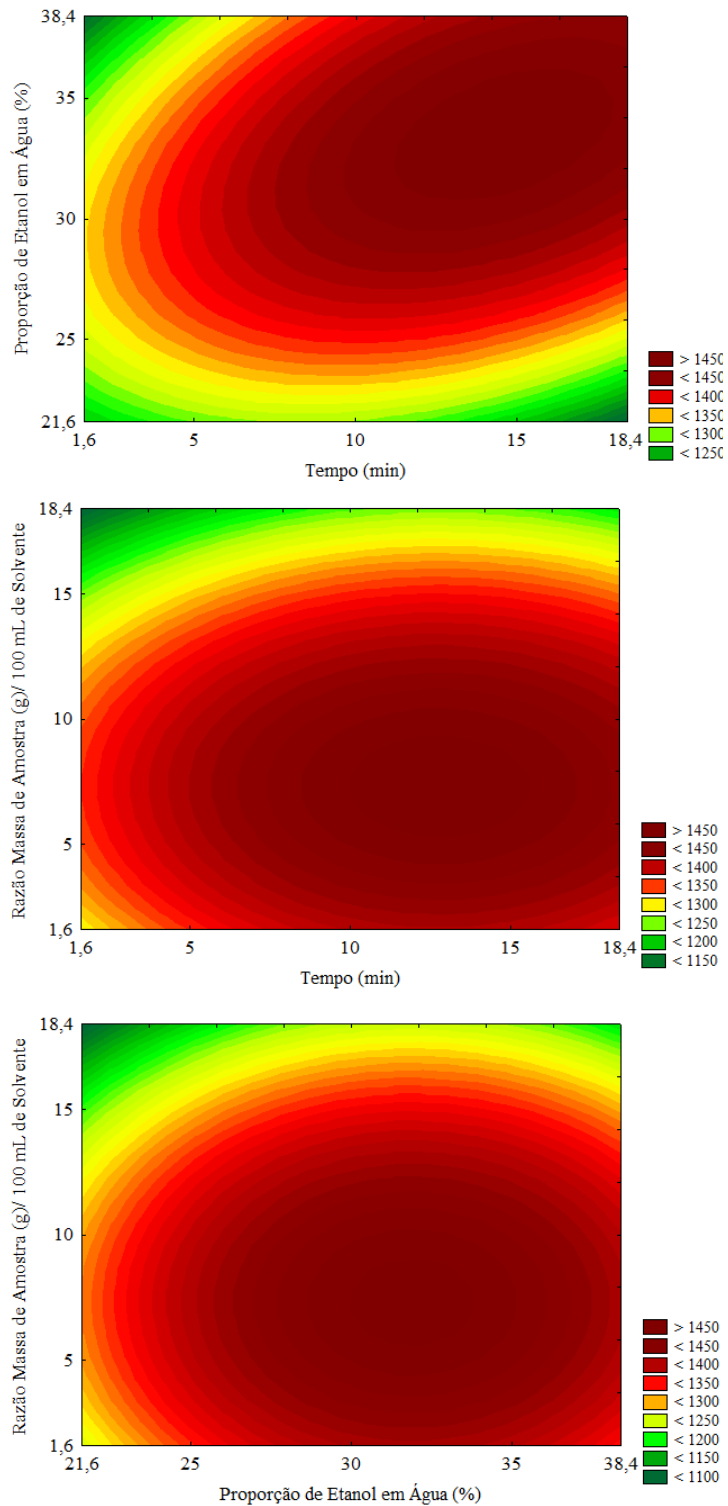
Figura 10 - Superfície de contorno para avaliação do rendimento dos compostos escuros



Fonte: Autoria própria (2020).

Figura 11 - Superfície de contorno para avaliação do rendimento do teor de cafeína.

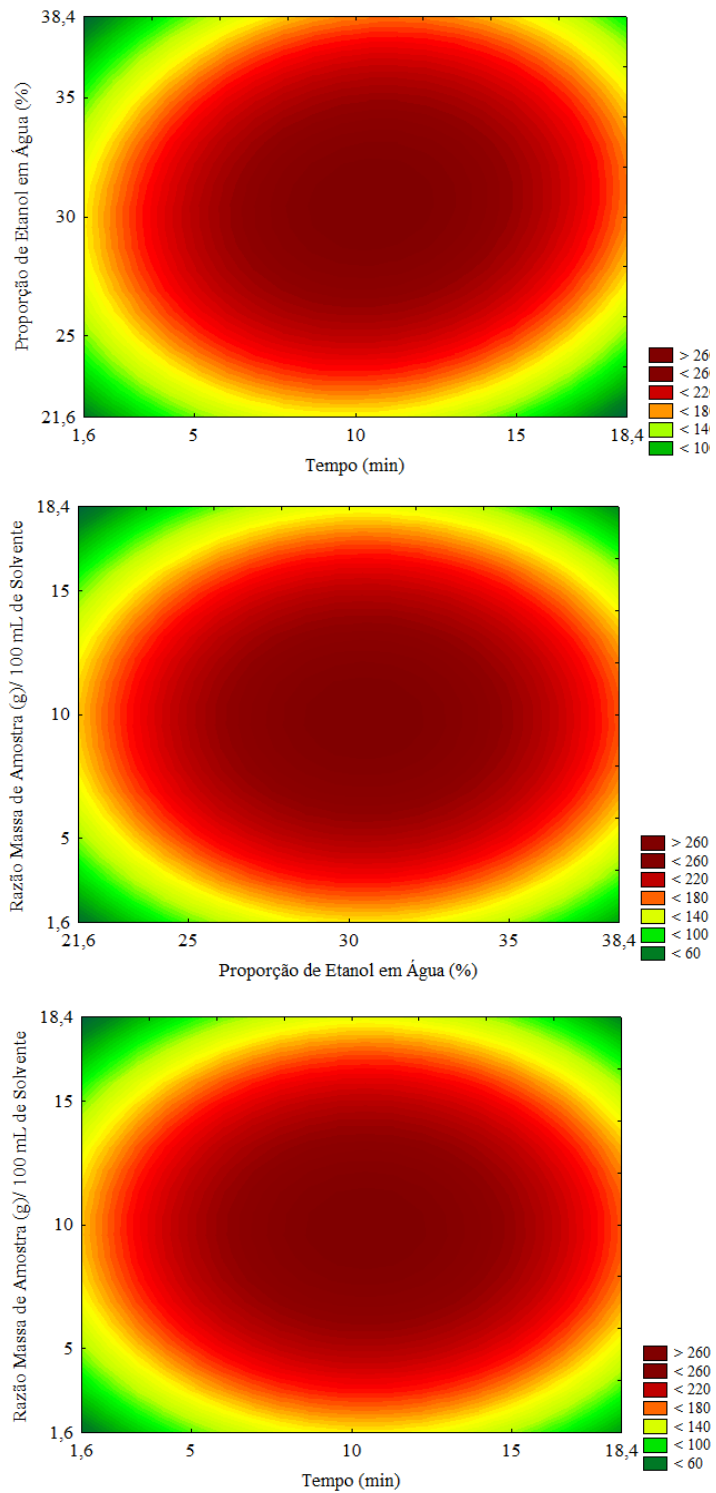
$$Y_2 = 1447,391 + 26,198x_1 + 27,675x_2 - 48,945x_2 - 23,545x_1^2 - 36,352x_2^2 - 45,511x_1^2 + 24,901x_1x_2$$



Fonte: Autoria própria (2020).

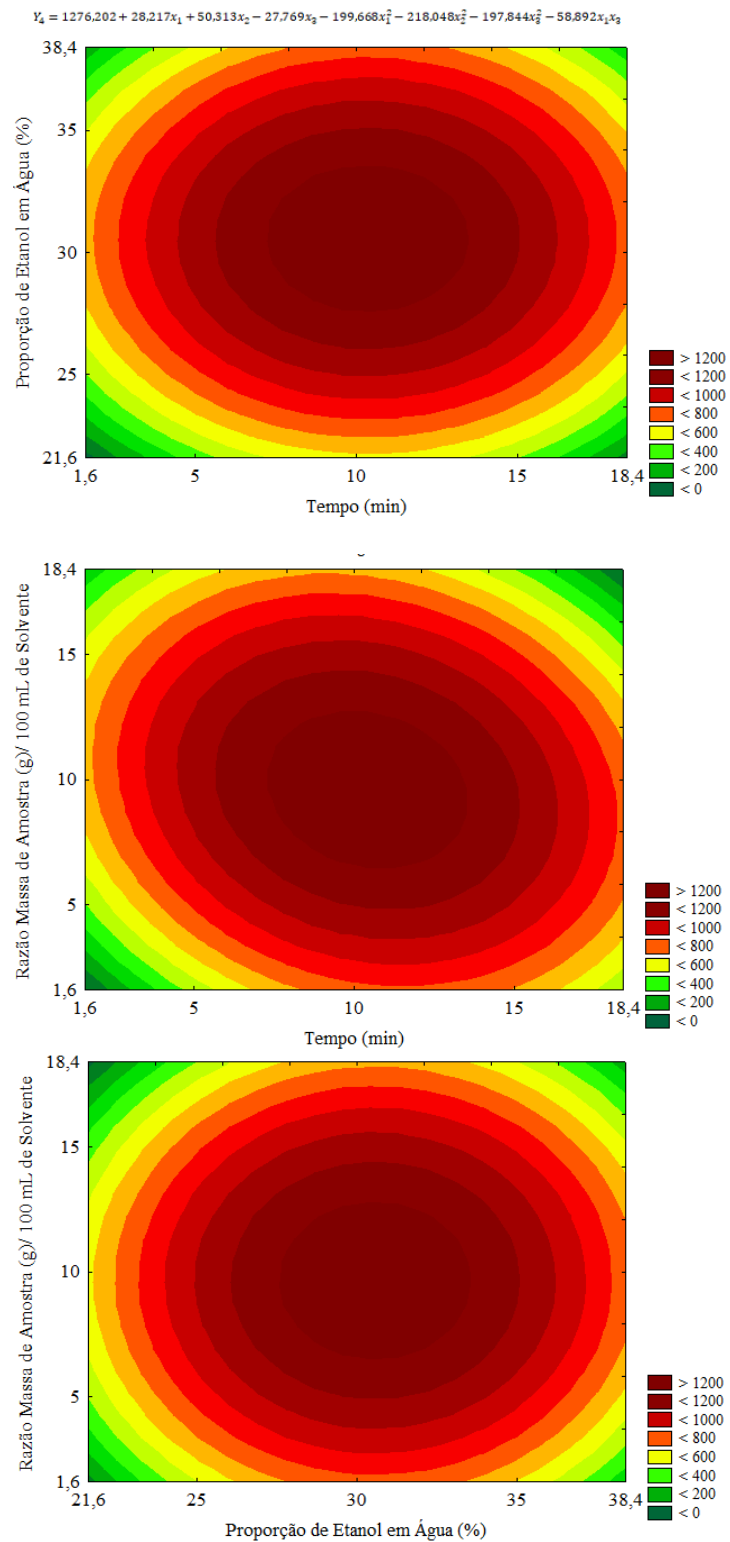
Figura 12 - Superfície de contorno para avaliação do rendimento do teor de 5-ACQ.

$$Y_2 = 264,471 + 5,837x_1 + 6,482x_2 - 2,732x_2 - 32,679x_1^2 - 33,178x_2^2 - 40,858x_1^2 - 5,823x_1x_2$$



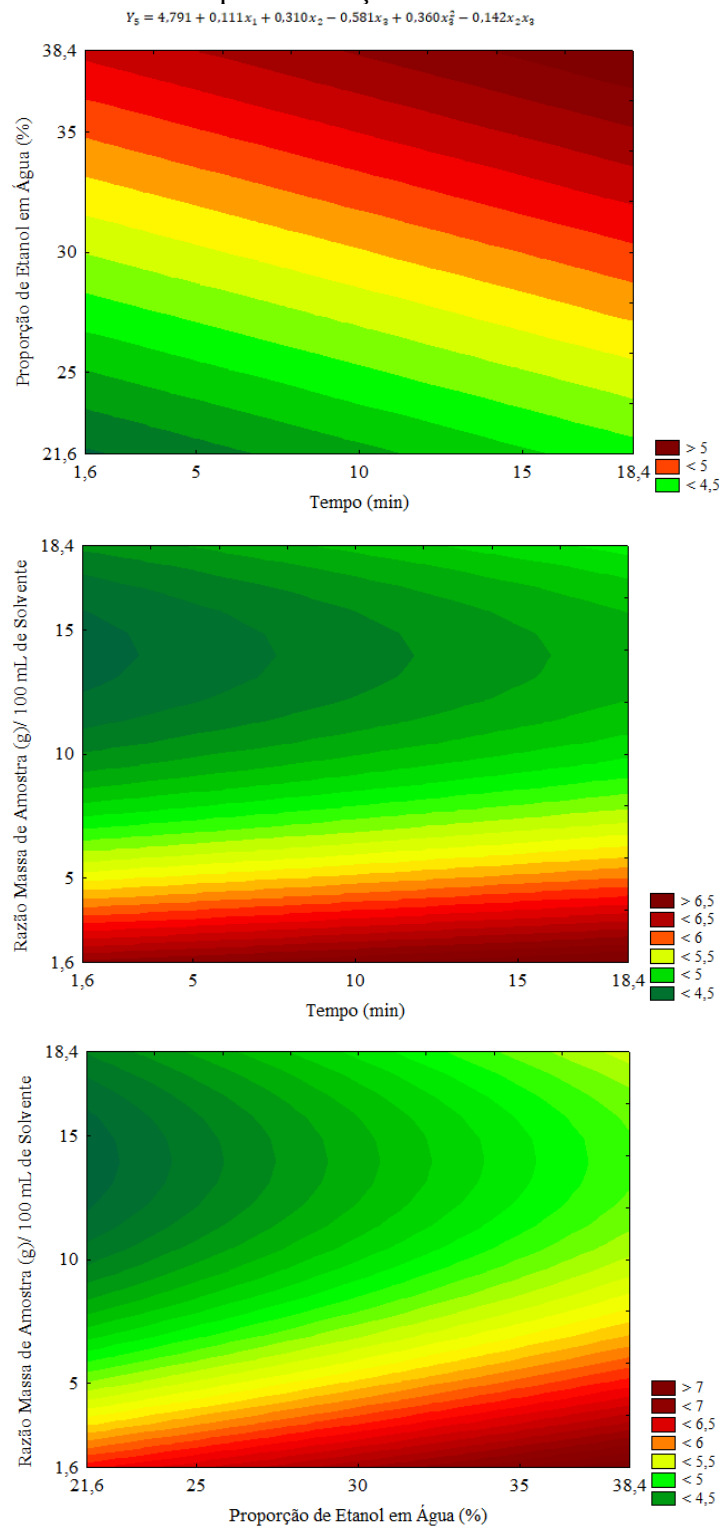
Fonte: Autoria própria (2020).

Figura 13 - Superfície de contorno para avaliação do rendimento do teor estimado de ácidos clorogênicos.



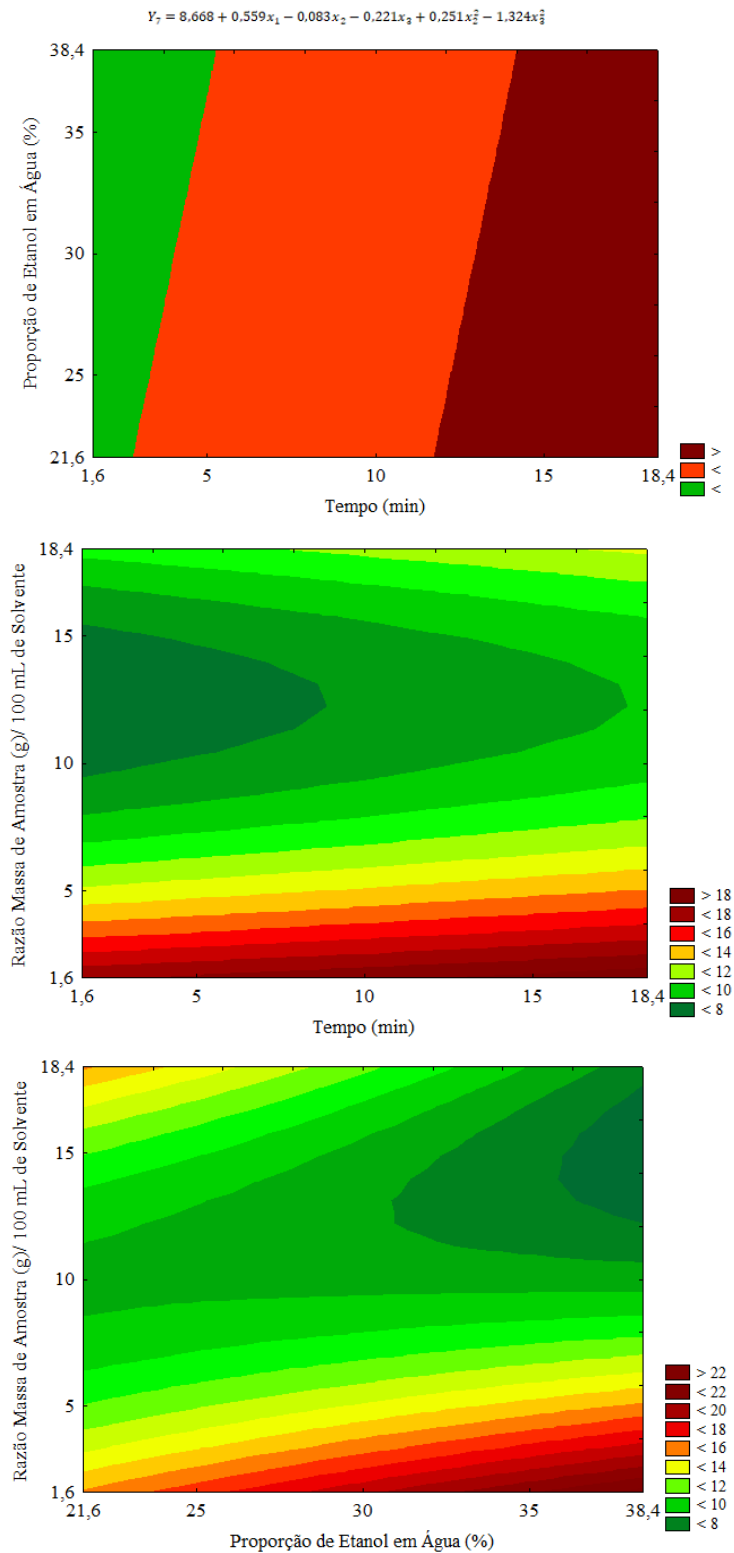
Fonte: Autoria própria (2020).

Figura 14 - Superfície de contorno para avaliação da atividade redutora.



Fonte: Autoria própria (2020).

Figura 15 - Superfície de contorno para avaliação do rendimento da atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS+•.



Fonte: Autoria própria (2020).

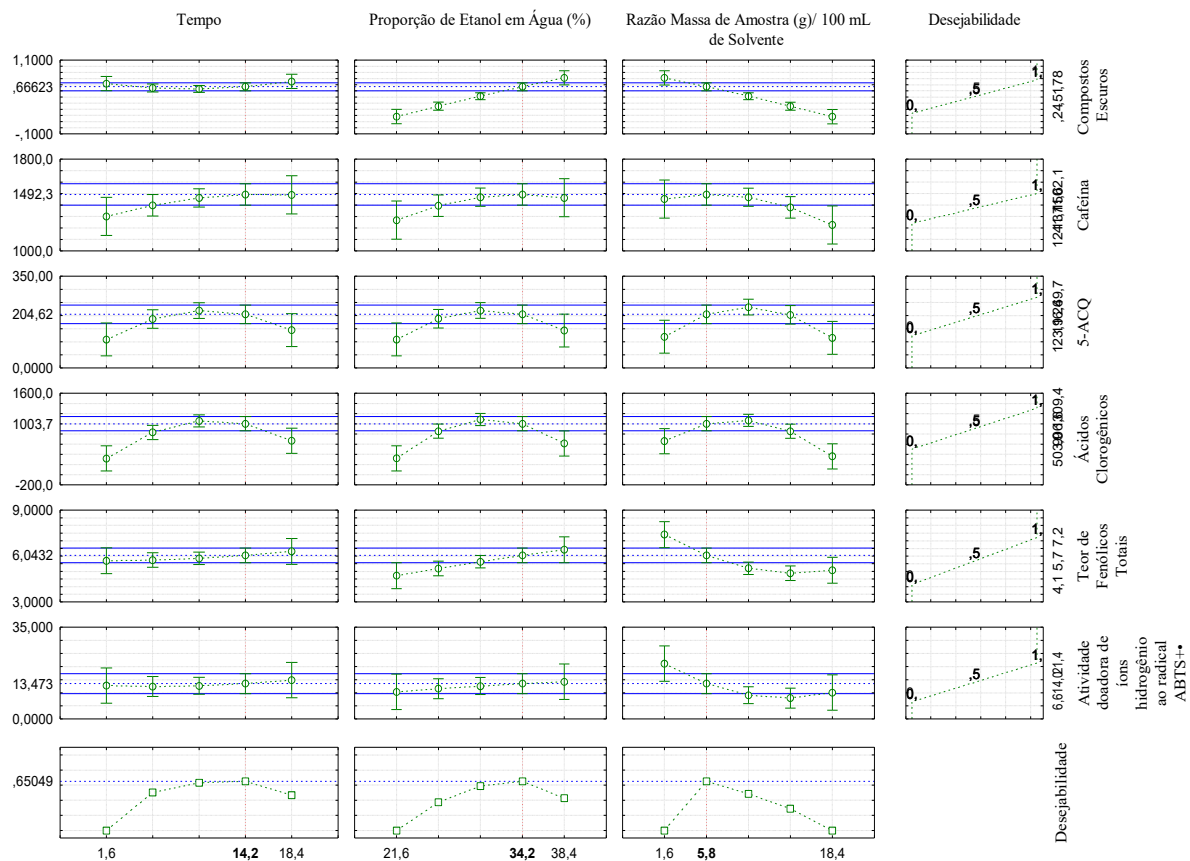
As Figura 10, 14 e 15 mostram que não foi obtido um ponto ótimo de extração na faixa estudada, mas é possível verificar que quanto maior a proporção etanol em água e quanto menor

a razão amostra/solvente maior foi a quantidade de compostos escuros, teor de atividade redutora e atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS+• obtida, o que mostra que na faixa estudada, não havia solvente suficiente para a extração máxima de compostos que poderiam ser extraídos. Já as Figuras 11, 12 e 13 mostram que a extração de cafeína, 5-ACQ e clorogênicos totais mostrou-se otimizada no ponto central.

Para definir os melhores parâmetros de extração, buscando obter a melhor atividade antioxidante e obtenção dos compostos antioxidantes avaliados foi realizada a análise de desejabilidade que permite obter os valores ótimos dos parâmetros investigados.

A Figura 16 mostra o gráfico dos perfis dos valores otimizados, a função de desejabilidade e os valores otimizados dos três parâmetros experimentais escolhidos.

Figura 16 - Perfil dos valores previstos/otimizados e da desejabilidade.

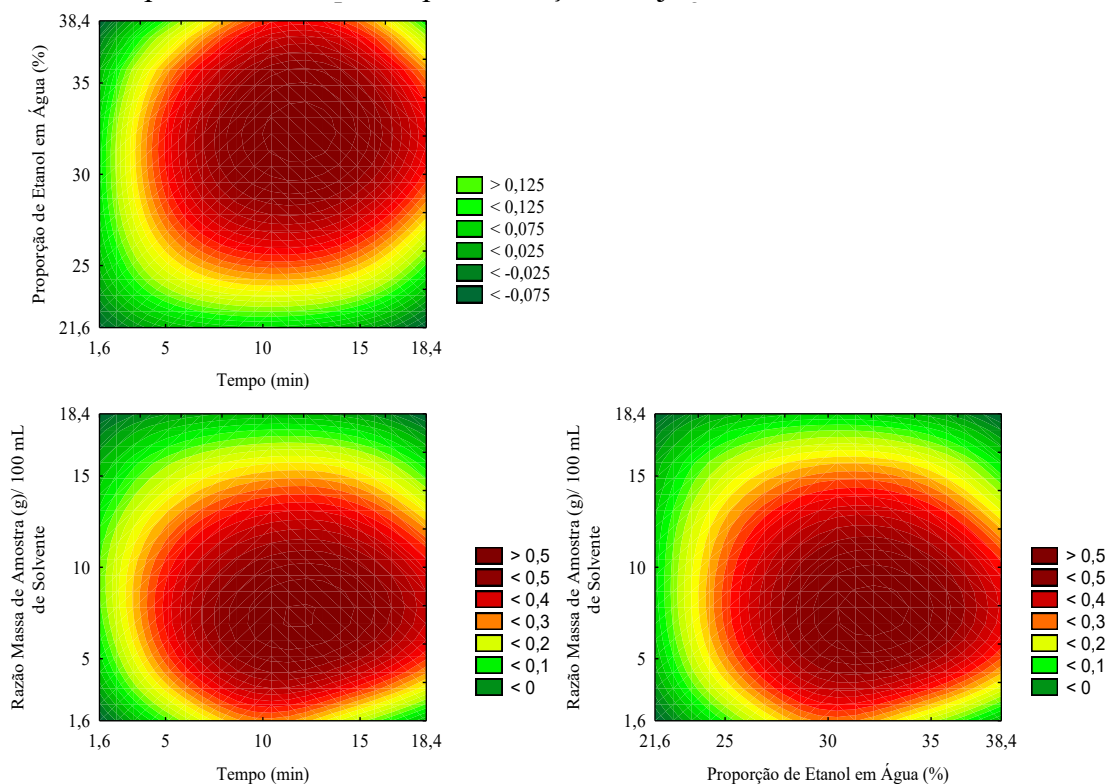


Fonte: Autoria própria (2020).

Os três primeiros gráficos da esquerda para a direita, mostram o comportamento do rendimento de cada resposta em função de cada um dos fatores independentes, enquanto o quarto mostra a desejabilidade para o rendimento dessa resposta, sendo 0 (desejabilidade mínima) e 1 (desejabilidade máxima), para o rendimento máximo. Os gráficos inferiores mostram a desejabilidade para cada fator separadamente e também a global, que foi de 0,65 (65%). As linhas vermelhas tracejadas na vertical mostram os valores ótimos para cada variável independente, que seriam 14,2 minutos, proporção de etanol em água de 34,2% e uma razão amostra/solvente ($m v^{-1}$) de 5,8/100. Nestas condições espera-se obter um teor de compostos escuros de 0,666 UA, de 1492,3 mg $100 g^{-1}$ (b. s.) de cafeína, de 204,62 mg $100 g^{-1}$ (b. s.) de 5-ACQ, de 1003,7 mg $100 g^{-1}$ (b. s.), de ácidos clorogênicos, de 6,04 g EAG $100 g^{-1}$ (b.s.) de teor de atividade redutora e de 13,47 g Eq de Trolox $100 g^{-1}$ (b.s.) de atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS+•.

Além disso, com a aplicação da função desejabilidade constatou-se que o estudo não só resultou em um ponto ótimo, mas sim, em uma região otimizada, mostrando que maiores teores de bioativos e conseqüente maior atividade antioxidante podem ser obtidos na região próxima ao ponto central do planejamento, ou seja, entre 10 e 15 minutos, 30 a 35% de etanol em água e 5 a 10 g de amostra em 10 mL de solvente, o que pode ser melhor observado nas superfícies de respostas apresentadas na Figura 17.

Figura 17 - Superfícies de contorno para a função desejabilidade.



Fonte: Autoria própria (2020).

Determinada as condições experimentais ótimas, foi realizada a validação dos modelos nos parâmetros 14,2 minutos, proporção de etanol em água de 34,2% e razão amostra/solvente ($m v^{-1}$) de 5,8/100. Por ter sido encontrada uma região ótima de extração na região do ponto central, novas extrações também foram realizadas nesses parâmetros para comparação com o ponto ótimo. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 11.

Apesar da existência de desvios entre os resultados experimentais e preditos, pode-se considerar que os resultados obtidos no ensaio de validação foram satisfatórios, obtendo-se desempenhos de 93% para atividade redutora, 160 % para 5-ACQ e 111% para Cafeína e ABTS+• para o ponto ótimo e de 154% para 5-ACQ, 91 % para cafeína, 78% para atividade redutora e 81% para ABTS+• para o ponto central. Também se verifica que a extração no ponto ótimo foi significativamente ($p \leq 0,05$) mais eficiente que no ponto central para todos os parâmetros avaliados, exceto para 5-ACQ onde as respostas foram estatisticamente similares.

Tabela 11 - Resultados preditos e experimentais obtidos nas condições de ponto ótimo de processo e repetição do ponto central.

Varáveis Resposta	Previsto pelo modelo*	Experimental no ponto ótimo	Repetição no ponto central
Cafeína (mg 100 g ⁻¹ b.s.)	1492,3	1653,85 ± 109,4 ^A	1364,2 ± 50,6 ^B
5-ACQ (mg 100 g ⁻¹ b.s.)	204,62	326,95 ± 15,8 ^A	315,4 ± 20,9 ^A
Atividade redutora (g EAG 100 g ⁻¹ b. s.)	6,04	5,64 ± 0,08 ^A	4,74 ± 0,07 ^B
ABTS+• (g Eq Trolox 100 g ⁻¹ b. s.)	13,47	14,90 ± 0,91 ^A	10,89 ± 0,54 ^B
DPPH• (g EqTrolox 100 g ⁻¹ b. s.)	-	7,27 ± 0,20 ^A	7,00 ± 0,27 ^B

*Modelos reparametrizado, constituídos apenas dos parâmetros estatisticamente significativos.

b.s.: base seca; Resultados expressos pela média ± desvio padrão (n=9). Médias com diferentes letras maiúsculas sobrescritas entre as colunas indicam diferença significativa entre as extrações pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Fonte: Aatoria própria (2020).

Fazendo-se uma comparação dos resultados experimentais obtidos no ponto ótimo utilizando o ultrassom, com os resultados obtidos utilizando o *shaker* (70 °C, solução etanólica 30%), Tabela 5, é possível constatar que houve um aumento de 23% para a cafeína, 29% para o 5-ACQ, 17% para atividade redutora e de 20% para o ABTS, confirmando a maior eficiência do uso do ultrassom em relação ao *shaker* e a influência do método e condições de extração utilizados.

5.3 Caracterização de Diferentes Amostras de Café

A granulometria das diferentes amostras de café utilizada para as extrações nas condições otimizadas do processo foi a de 0,85 a 1,00 mm, mantendo-se assim um padrão em relação as amostras de café utilizadas inicialmente. A avaliação da medida instrumental de cor e a umidade das amostras são apresentadas na Tabela 12.

Tabela 12 - Medida instrumental de cor e umidade das diferentes amostras de café.

Amostra	Medida Instrumental de Cor			Umidade (%)
	L*	a*	b*	
Café Arábica verde	55,65 ± 0,15 ^a	-0,71 ± 0,14 ^d	24,16 ± 0,27 ^a	9,30 ± 0,11
Café Arábica torra média	22,27 ± 0,30 ^c	8,86 ± 0,05 ^b	16,85 ± 0,12 ^c	5,40 ± 0,07
Café Conilon verde	56,12 ± 0,14 ^a	-0,25 ± 0,03 ^c	23,01 ± 0,04 ^b	11,11 ± 0,07
Café Conilon torra média	30,26 ± 0,43 ^b	9,38 ± 0,08 ^a	23,22 ± 0,22 ^b	4,36 ± 0,04

Resultados expressos pela média ± desvio padrão (n=3).

Médias com diferentes letras minúsculas sobrescritas entre as linhas indicam diferença significativa entre as extrações pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Fonte: Aatoria própria (2020).

Os valores da Tabela 12 mostram que os cafés verdes apresentam coloração significativamente ($p \leq 0,05$) semelhante, enquanto os torrados apresentam maiores diferenças estatísticas, principalmente na luminosidade (L^*) que é inferior no café arábica torrado e no parâmetro b^* [amarelo (+) e azul (-)]. O que sugere que a torra do café arábica era maior do que a do robusta. Comparando os resultados com a amostra comercial utilizada (Item 5.1) verifica-se que a luminosidade da amostra comercial e da amostra de café arábica torrada possuem um valor próximo, mas ainda assim, a amostra comercial era mais “escura”, ou seja, mais torrada.

A caracterização, quanto ao teor de compostos escuros, cafeína, 5-ACQ e conteúdo de ácidos clorogênicos e quanto a atividade antioxidante avaliada pelos métodos atividade redutora, DPPH e ABTS, dos extratos obtidos a partir das diferentes espécies de café *C. canephora* e *C. arabica*, verde e torra média, obtidos nos pontos ótimo e central, são apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 - Caracterização dos diferentes tipos de café, quanto ao teor de compostos bioativos e atividade redutora e quanto a atividade antioxidante avaliada pelos métodos DPPH e ABTS.

Amostra	Compostos Escuros (UA)	Cafeína (mg 100 g ⁻¹ b.s.)	5-ACQ (mg 100 g ⁻¹ b.s.)	Atividade redutora (g EAG 100 g ⁻¹ b. s.)	AA pela Captura do Radical Livre DPPH (g Eq Trolox 100 g ⁻¹ b. s.)	Atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS+• (g Eq Trolox 100 g ⁻¹ b. s.)
CTO	0,364 ± 0,013 ^b	1881,8 ± 18,8 ^c	482,9 ± 21,6 ^c	8,66 ± 0,14 ^b	9,49 ± 0,37 ^c	16,28 ± 1,00 ^b
ATO	0,505 ± 0,035 ^a	1652,6 ± 47,4 ^d	703,8 ± 38,3 ^c	4,29 ± 0,19 ^g	6,42 ± 0,51 ^e	12,09 ± 0,38 ^d
CTC	0,303 ± 0,016 ^c	1764,1 ± 34,8 ^d	427,3 ± 8,1 ^c	7,36 ± 0,32 ^d	10,28 ± 0,27 ^b	15,28 ± 1,47 ^{bc}
ATC	0,379 ± 0,018 ^b	1244,9 ± 52,0 ^e	464,5 ± 35,7 ^c	3,41 ± 0,14 ^h	7,83 ± 0,19 ^d	11,61 ± 1,22 ^d
CVO	-	3148,1 ± 13,5 ^a	6706,4 ± 23,5 ^a	9,54 ± 0,40 ^a	13,21 ± 0,68 ^a	14,52 ± 1,16 ^c
AVO	-	2145,01 ± 106,88 ^b	5439,6 ± 393,1 ^b	6,35 ± 0,20 ^e	10,08 ± 0,16 ^{bc}	20,54 ± 1,04 ^a
CVC	-	3114,83 ± 50,04 ^a	6417,1 ± 22,0 ^a	8,04 ± 0,14 ^c	13,74 ± 0,39 ^a	12,93 ± 0,78 ^d
AVC	-	2210,76 ± 43,87 ^b	5286,8 ± 259,5 ^b	5,72 ± 0,17 ^f	10,21 ± 0,40 ^b	15,31 ± 0,34 ^{bc}

CTO: Café conilon torrado com extração no ponto ótimo; ATO: Café arábica torrado com extração no ponto ótimo; CTC: Café conilon torrado com extração no ponto central; ATC: Café arábica torrado com extração no ponto central; CVO: Café conilon verde com extração no ponto ótimo; AVO: Café arábica verde com extração no ponto ótimo; CVC: Café conilon verde com extração no ponto central; AVC: Café arábica verde com extração no ponto central; b.s.: base seca; Resultados expressos pela média ± desvio padrão (n=9); Médias com diferentes letras minúsculas sobrescritas entre as linhas indicam diferença significativa entre as extrações pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Fonte: Autoria própria (2020).

Avaliando os resultados mostrados na Tabela 13, verifica-se que os extratos das amostras de café arábica torrado apresentaram maior teor de compostos escuros, o que vai de encontro aos resultados da análise colorimétrica, que mostraram que a amostra de café arábica utilizada estava mais torrada do que a de café canéfora.

Os cafés da espécie *Coffea canephora* verde apresentaram uma quantidade significativamente ($p \leq 0,05$) maior de cafeína e também de 5-ACQ, seguidos pelos cafés verdes da espécie *Coffea arabica*, o que é explicado pelo fato desses cafés não terem passado pelo processo térmico de torra, que altera sua composição e destrói uma parte de seus compostos bioativos, como explicado por Cid e de Peña, (2015) e Vignoli et al., (2014). Verifica-se também, que mesmo a cafeína sendo um composto termicamente mais estável que o 5-ACQ, grande parte dela também é perdida no processo de torra. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre a extração no ponto ótimo e no ponto central na obtenção de 5-ACQ e no caso da cafeína, houve diferença apenas para os cafés torrados, onde a extração foi mais eficiente no ponto ótimo, os casos onde não houve diferença vão de encontro ao que as superfícies de contorno mostraram, que existe uma região ótima de extração e não apenas um ponto.

É possível verificar que os extratos que apresentaram maior, atividade antioxidante, nos parâmetros utilizados no estudo, foram os da espécie *Coffea canephora* verde e torrado, tanto na extração no ponto ótimo como na extração no ponto central.

Dessa forma, comprovou-se que a espécie de café utilizada como matéria-prima para a extração juntamente com a otimização dos parâmetros da extração dentro de uma região ótima permite obter extratos com potencial para serem utilizados como substitutos dos antioxidantes sintéticos em produtos cárneos crus.

Por fim, a partir dos resultados mostrados na Tabela 13, os 2 extratos de café canéfora torrado e verde extraído no ponto ótimo, com resultados mais promissores na atividade antioxidante, foram escolhidos para serem aplicados em uma formulação convencional de linguiça toscana.

Na Figura 18 são apresentados os extratos de café canéfora, verde e torra média, obtidos após a secagem em *spray dryer*.

Figura 18 - Extratos de café canéfora, verde e torra média, secos em *spray dryer*.



Fonte: Autoria própria (2021).

Na Tabela 14 estão dispostos os resultados da comparação da atividade redutora e atividade antioxidante (ABTS e DPPH) entre os extratos secos de café (canéfora, verde e torrada) e o eritorbato de sódio.

Tabela 14 - comparação entre os extratos de café secos e eritorbato de sódio.

Antioxidante	Atividade redutora (g EAG 100 g⁻¹ b. s.)	AA pela Captura do Radical Livre DPPH (g Eq Trolox 100 g⁻¹ b. s.)	Atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS⁺• (g Eq Trolox 100 g⁻¹ b. s.)
Café torrado	27,25 ± 0,16	53,25 ± 2,89	41,35 ± 1,12
Café verde	24,79 ± 0,84	37,75 ± 0,35	42,93 ± 1,57
Eritorbato de sódio	80,01 ± 0,46	119,75 ± 10,09	124,70 ± 0,92

Fonte: Autoria própria (2021).

Como os resultados observados (Tabela 14) para o eritorbato de sódio foram entre 3 a 4 vezes maiores que para os extratos de café, decidiu-se utilizar uma concentração 4 vezes maior de extrato de café. Como a concentração de uso sugerida pelo fornecedor de eritorbato era de 0,08%, definiu-se 0,32% para os extratos de cafés.

5.4 Aplicação Dos Extratos De Café Como Antioxidantes Naturais Em Linguiça Toscana

5.4.1 Composição centesimal

A Tabela 15 mostra os resultados das análises de composição centesimal, cinzas, proteína, carboidratos, umidade e gordura, para as amostras da linguiça, onde é possível constatar que os padrões físico-químicos de máximo 70% de umidade e de 30% de gordura e mínimo de 12% de proteína, estabelecidos pelo RTIQ para linguiças (BRASIL, 2000) foram atendidos.

Tabela 15 - Composição centesimal das amostras.

Composição decimal (%)	
Cinzas	3,42 ± 0,17
Proteína bruta b.u.	13,02 ± 0,03
Carboidratos totais	1,68 ± 0,02
Umidade	56,12 ± 0,43
Gordura	26,54 ± 0,20

b.u.: base úmida; Resultados expressos pela média ± desvio padrão (n=2).

Fonte: Autoria própria (2021).

5.4.2 Medida instrumental de cor

Os resultados mensurados para cor, tanto para amostras cruas quanto para as assadas, são apresentados na Tabela 16. O aspecto visual das linguiças no dia do preparo e ao longo da vida útil, 0, 10, 20 e 30 dias, são mostrados nas Figuras 19 e 21.

Figura 19 - Aspecto da massa e das linguiças padrão e com extratos de cafés, tempo 0.

a) Massa e linguiça toscana com 1% de extrato de café canéfora verde; b) Massa e linguiça toscana com 0,32% de extrato de café canéfora verde; c) Massa e linguiça toscana padrão (com eritorbato de sódio); d) Massa e linguiça toscana com 0,32% de extrato de café canéfora torra média; e) Massa e linguiça toscana com 1% de extrato de café canéfora torra média;

Fonte: Autoria própria (2021).

Tabela 16 - Valores de cor para os parâmetros luminosidade L*, a* (vermelho/ verde) e b* (amarelo/ azul) para as formulações de linguiça toscana com extrato de café e com antioxidante sintético, para amostras cruas e assadas.

Cor	Dias	CV 1%	CV 0,32%	P	CT 0,32%	CT 1%
Linguiça Crua						
L*	0	55,07 ± 2,92 ^{abA}	59,54 ± 0,87 ^{aAB}	58,06 ± 1,83 ^{aAB}	51,91 ± 1,02 ^{bA}	40,58 ± 1,37 ^{cA}
	10	57,47 ± 2,59 ^A	64,84 ± 2,90 ^A	56,38 ± 1,48 ^{AB}	49,58 ± 1,68 ^A	39,69 ± 2,06 ^A
	20	55,88 ± 1,81 ^A	59,33 ± 2,10 ^{AB}	60,80 ± 1,05 ^A	51,52 ± 3,19 ^A	39,95 ± 1,77 ^A
	30	55,81 ± 0,95 ^A	55,89 ± 0,57 ^B	54,49 ± 1,03 ^B	47,37 ± 1,12 ^A	42,14 ± 0,04 ^A
a*	0	14,85 ± 0,90 ^{aA}	8,59 ± 1,64 ^{cC}	14,49 ± 0,90 ^{aA}	12,58 ± 0,46 ^{abA}	11,67 ± 0,50 ^{bA}
	10	13,55 ± 0,76 ^A	11,88 ± 1,16 ^B	12,38 ± 1,68 ^{AB}	12,84 ± 2,61 ^A	10,01 ± 0,88 ^A
	20	12,73 ± 1,86 ^A	16,36 ± 0,16 ^A	13,85 ± 0,09 ^A	9,9 ± 0,22 ^{AB}	10,72 ± 0,12 ^A
	30	8,31 ± 0,51 ^B	11,42 ± 0,94 ^{BC}	8,94 ± 0,73 ^B	7,23 ± 0,74 ^B	6,82 ± 0,33 ^B
b*	0	14,77 ± 0,07 ^{bA}	11,66 ± 0,30 ^{cB}	10,87 ± 0,69 ^{cA}	17,96 ± 0,62 ^{aA}	16,74 ± 1,22 ^{abAB}
	10	16,21 ± 0,85 ^A	11,18 ± 0,62 ^B	9,10 ± 0,73 ^B	18,36 ± 0,28 ^A	15,23 ± 0,67 ^B
	20	11,20 ± 0,72 ^B	13,39 ± 0,62 ^A	11,02 ± 0,12 ^A	16,33 ± 1,53 ^A	15,82 ± 0,89 ^B
	30	16,12 ± 0,34 ^A	14,58 ± 0,39 ^A	11,46 ± 0,11 ^A	17,71 ± 1,14 ^A	18,74 ± 0,46 ^A
Linguiça Assada						
L*	0	60,58 ± 0,90 ^{aA}	60,63 ± 1,23 ^{aA}	60,99 ± 1,33 ^{aA}	49,31 ± 2,60 ^{bA}	40,31 ± 0,68 ^{cA}
	10	57,22 ± 1,52 ^A	57,29 ± 0,16 ^A	58,52 ± 0,68 ^A	49,14 ± 0,55 ^A	39,41 ± 0,36 ^A
	20	59,73 ± 0,60 ^A	57,52 ± 0,25 ^A	60,65 ± 1,57 ^A	48,29 ± 2,34 ^A	41,58 ± 1,68 ^A
	30	61,17 ± 1,42 ^A	60,02 ± 1,71 ^A	62,11 ± 1,70 ^A	51,79 ± 0,42 ^A	42,78 ± 2,05 ^A
a*	0	9,91 ± 0,96 ^{bAB}	13,04 ± 0,27 ^{aA}	14,87 ± 0,41 ^{aA}	9,97 ± 0,75 ^{bAB}	9,33 ± 0,33 ^{bA}
	10	12,09 ± 1,32 ^A	12,32 ± 0,80 ^A	14,92 ± 0,61 ^A	10,85 ± 0,58 ^A	9,61 ± 0,49 ^A
	20	8,11 ± 1,46 ^{BC}	9,34 ± 0,68 ^B	9,78 ± 0,76 ^B	7,91 ± 0,84 ^{BC}	8,18 ± 0,68 ^A
	30	5,35 ± 0,10 ^C	8,07 ± 0,59 ^B	9,18 ± 0,58 ^B	5,80 ± 0,41 ^C	6,38 ± 0,13 ^B
b*	0	14,07 ± 0,70 ^{bB}	11,19 ± 0,71 ^{cB}	10,64 ± 0,30 ^{cC}	17,67 ± 0,20 ^{abC}	14,3 ± 0,30 ^{bC}
	10	13,24 ± 0,05 ^B	10,58 ± 0,54 ^B	12,05 ± 0,64 ^{BC}	17,13 ± 0,16 ^C	16,22 ± 0,66 ^{BC}
	20	16,61 ± 0,35 ^A	14,69 ± 0,31 ^A	14,48 ± 0,97 ^{AB}	19,56 ± 0,41 ^A	17,75 ± 0,88 ^{AB}
	30	16,49 ± 0,31 ^A	15,15 ± 0,22 ^A	15,63 ± 1,46 ^A	18,31 ± 0,15 ^B	19,67 ± 0,82 ^A

CV1%: Linguiça toscana com 1% de extrato de café canéfora verde; CV0,32%: Linguiça toscana com 0,32% de extrato de café canéfora verde; P: linguiça toscana padrão (com eritorbato de sódio); CT1%: Linguiça toscana com 1% de extrato de café canéfora torra média; CT0,32%: Linguiça toscana com 0,32% de extrato de café canéfora torra média; Resultados expressos pela média ± desvio padrão (n=5); Médias com diferentes letras minúsculas sobrescritas entre as colunas e letras maiúsculas entre as linhas indicam diferença significativa entre as amostras pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Fonte: Autoria própria (2021).

Analisando a coloração entre as amostras no tempo 0, pode-se verificar que para o parâmetro L*, as amostras padrão (P) e com 0,32% (CV0,32%) e 1% (CV1%) de extrato de café verde foram similares ($p \leq 0,05$), essas amostras apresentaram um valor superior para o L*, indicando que são mais claras, já as amostras com extrato de café torrado mostraram um valor de L* significativamente ($p \leq 0,05$) menor, sendo a com 1% de extrato (CT1%) a mais escura. O mesmo foi verificado tanto para as amostras cruas quanto para a assadas. Essa diferença já era esperada devido a coloração marrom do extrato de café torrado, e pode ser observada na Figura 19.

Em relação ao parâmetro a*, para as linguiças cruas, as amostras CV1%, P e CT0,32% (0,32% de extrato de café torrado), apresentaram maiores valores em direção ao vermelho,

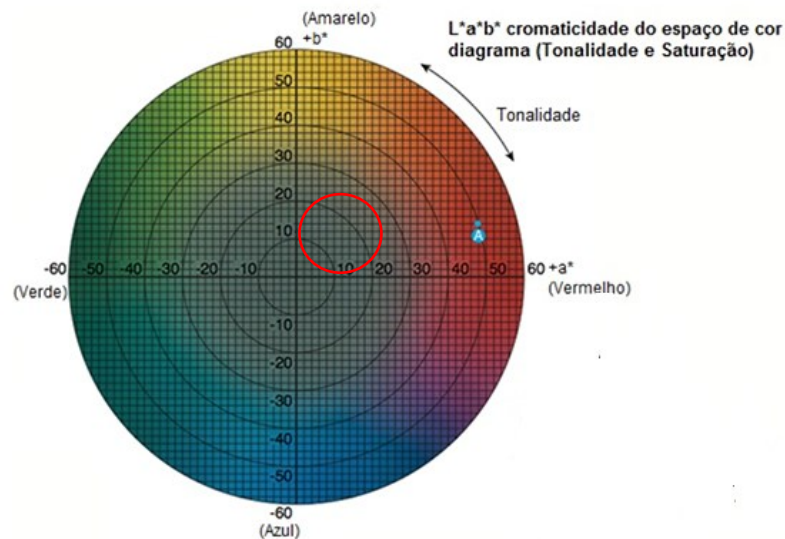
similares ($p \leq 0,05$), seguidas por CT1% e CV0,32% que foram significativamente ($p \leq 0,05$) diferentes. Já no caso da linguiça assada, o parâmetro a^* foi maior para as amostras P e CV0,32%, estatisticamente similares entre si.

Para as amostras cruas, o parâmetro b^* foi significativamente ($p \leq 0,05$) maior, em direção ao amarelo) para as amostras CT1% e CT0,32% (estatisticamente similares ($p \leq 0,05$)), o que pode ser explicado pela tonalidade marrom do extrato utilizado nessas amostras, seguida pela CV1% e pelas amostras P e CV0,32%, com as duas últimas sendo significativamente ($p \leq 0,05$) similares.

Para a linguiça assada, b^* foi significativamente ($p \leq 0,05$) maior para CT0,32%, seguida por CT1% e CV1% e depois por P e CV0,32%.

Apesar da diferença significativa ($p \leq 0,05$) encontrada entre os parâmetros a^* e b^* , para as diferentes amostras, ao se observar o diagrama do sistema CIELAB, Figura 20 - Diagrama do espaço de cor CIELAB, é possível verificar que todas as amostras ficaram na mesma região de tonalidade.

Figura 20 - Diagrama do espaço de cor CIELAB.



Fonte: SENAI (2021).

Em relação a mudança de cor ao longo da vida útil, 30 dias, é possível verificar (Tabela 16) que, para o iluminante L^* , não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) para nenhuma das amostras assadas, e que para as linguiças cruas, houve diferença apenas para a amostra P e CV0,32%. Porém, nos dois casos, a amostra no tempo 0 é significativamente ($p \leq 0,05$) igual

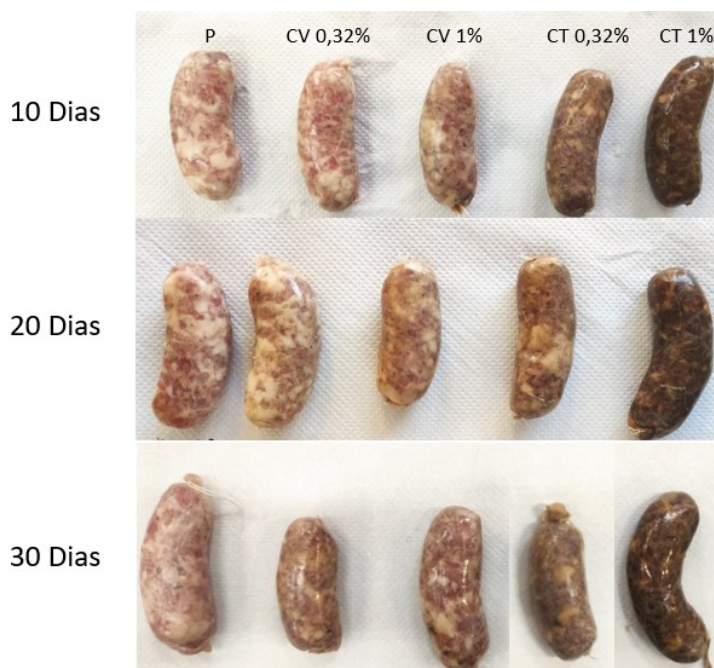
as em 30 dias, o que significa que essa diferença possivelmente ocorreu devido a característica do produto, que é formado por uma mistura majoritária de carne e gordura, desta forma, possivelmente, apesar de ter sido realizada uma mistura homogênea no preparo, as amostras que ficaram mais claras, apresentavam maior quantidade de pontos brancos de gordura.

Em relação ao parâmetro a^* , a maioria das amostras apresentaram valores significativamente ($p \leq 0,05$) maiores no tempo 0 e menores no tempo 30 dias, o que provavelmente ocorreu devido ao início da oxidação da oximioglobina, de coloração vermelho em metamioglobina, de coloração marrom, como o explicado por Faustman et al., (2010).

Já para b^* , as amostras apresentaram valores significativamente ($p \leq 0,05$) menores no tempo 0 e maior no tempo 30 dias, ou seja, a tonalidade foi em direção ao amarelo, que também indica o início da oxidação das amostras.

A variabilidade dos resultados dos parâmetros a^* e b^* que são verificados na Tabela 15, provavelmente também se deve a característica heterogênea do produto, não apresentando uma cor uniforme. As amostras, ao longo dos tempos 10, 20 e 30, podem ser observadas na Figura 21.

Figura 21 - Aspecto visual das amostras de linguiça toscana ao longo da vida útil, 10, 20 e 30 dias.



P: linguiça toscana padrão (com eritorbato de sódio); CV0,32%: Linguiça toscana com 0,32% de extrato de café canéfora verde; CV1%: Linguiça toscana com 1% de extrato de café canéfora verde; CT0,32%: Linguiça toscana com 0,32% de extrato de café canéfora torra média; CT1%: Linguiça toscana com 1% de extrato de café canéfora torra média;

Fonte: Autoria própria (2021).

5.4.3 Análise do Perfil de Textura

Na Tabela 17 estão dispostos os valores para o perfil de textura das linguiças dos parâmetros Dureza (N), Elasticidade (mm), Coesividade e Mastigabilidade (N mm^{-1}), onde é possível verificar que não houve diferença significativa, nem entre as amostras, nem ao longo da vida útil, para os parâmetros dureza e elasticidade

Para o parâmetro coesividade, as amostras CT0,32% e CT1% apresentam valores significativamente ($p \leq 0,05$) iguais e maiores do que CV1% e CV0,32%, enquanto P apresentou um valor intermediário, significativamente ($p \leq 0,05$) igual a CT0,32%, CV0,32% e CV1%, porém essa diferença só foi verificada no tempo 0, nos demais tempos avaliados, todas as amostras apresentaram valores de coesividade significativamente ($p \leq 0,05$) iguais. Ao longo do tempo, CV 0,32%, CV1% e CT1% apresentam diferenças significativas ($p \leq 0,05$), porém não foi uma variação linear, tendo amostras nos dias 0 significativamente ($p \leq 0,05$) igual ao dia 30, o que pode ser consequência da característica da massa heterogênea do produto.

No caso da mastigabilidade, houve uma diminuição significativa ($p \leq 0,05$), ao longo do tempo, na amostra CV1%, mas as demais amostras apresentaram valores estatisticamente similares ao longo dos 30 dias. No dia 20 as amostras apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$) de mastigabilidade, tendo CT0,32% apresentado o maior valor, que foi significativamente ($p \leq 0,05$) igual a P e CV 0,32%, sendo esses dois últimos significativamente ($p \leq 0,05$) iguais a CT1%, enquanto CT 1% foi significativamente igual a CV1%. No dia 30, CV0,32%, CT0,32% e CT1% apresentaram os maiores valores de mastigabilidade, sendo estatisticamente similares ($p \leq 0,05$), sendo CT0,32% e CT1% também significativamente ($p \leq 0,05$) iguais a CV1%, esse último também foi significativamente ($p \leq 0,05$) igual a P.

Novamente, não há uma uniformidade nas diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as amostras, e como não houve diferença ao longo do tempo, essa disparidade possivelmente, também é explicada pelas características do produto e não por uma alteração dos diferentes antioxidantes utilizados.

Tabela 17- Análise de perfil de textura das amostras de linguiça durante a vida útil de 30 dias.

	Dia	P	CV 0,32%	CV 1%	CT 0,32%	CT 1%
Dureza (N)	0	42,38 ± 0,87 ^{aA}	47,79 ± 4,23 ^{aA}	44,55 ± 3,37 ^{aA}	47,37 ± 1,24 ^{aA}	46,63 ± 1,28 ^{aA}
	10	43,34 ± 1,57 ^{aA}	45,91 ± 9,00 ^{aA}	44,53 ± 2,35 ^{aA}	45,47 ± 3,79 ^{aA}	46,88 ± 1,36 ^{aA}
	20	45,43 ± 3,99 ^{aA}	43,40 ± 2,97 ^{aA}	45,66 ± 1,78 ^{aA}	44,04 ± 1,92 ^{aA}	45,34 ± 2,96 ^{aA}
	30	42,19 ± 5,01 ^{aA}	45,87 ± 3,65 ^{aA}	45,41 ± 3,29 ^{aA}	45,16 ± 3,71 ^{aA}	45,48 ± 2,60 ^{aA}
Elasticidade mm	0	0,892 ± 0,003 ^{aA}	0,854 ± 0,020 ^{aA}	0,843 ± 0,008 ^{aA}	0,826 ± 0,037 ^{aA}	0,843 ± 0,027 ^{aA}
	10	0,873 ± 0,009 ^{aA}	0,911 ± 0,059 ^{aA}	0,870 ± 0,037 ^{aA}	0,857 ± 0,022 ^{aA}	0,878 ± 0,033 ^{aA}
	20	0,870 ± 0,020 ^{aA}	0,880 ± 0,045 ^{aA}	0,840 ± 0,021 ^{aA}	0,876 ± 0,036 ^{aA}	0,861 ± 0,013 ^{aA}
	30	0,870 ± 0,020 ^{aA}	0,904 ± 0,030 ^{aA}	0,859 ± 0,024 ^{aA}	0,851 ± 0,016 ^{aA}	0,861 ± 0,022 ^{aA}
Coesividade	0	0,581 ± 0,007 ^{bcA}	0,505 ± 0,005 ^{cB}	0,551 ± 0,048 ^{cAB}	0,663 ± 0,039 ^{abA}	0,694 ± 0,036 ^{aA}
	10	0,585 ± 0,006 ^{aA}	0,618 ± 0,017 ^{aA}	0,570 ± 0,012 ^{aA}	0,570 ± 0,012 ^{aA}	0,638 ± 0,078 ^{aAB}
	20	0,578 ± 0,037 ^{aA}	0,523 ± 0,032 ^{aB}	0,524 ± 0,013 ^{aB}	0,575 ± 0,033 ^{aA}	0,544 ± 0,032 ^{aAB}
	30	0,526 ± 0,033 ^{aA}	0,509 ± 0,039 ^{aB}	0,526 ± 0,018 ^{aB}	0,537 ± 0,063 ^{aA}	0,542 ± 0,023 ^{aB}
Mastigabilidade N mm⁻¹	0	22,35 ± 1,02 ^{aA}	25,23 ± 0,56 ^{aA}	23,79 ± 3,06 ^{aA}	25,58 ± 1,04 ^{aA}	23,74 ± 0,30 ^{aA}
	10	25,31 ± 3,45 ^{aA}	25,77 ± 5,00 ^{aA}	23,21 ± 2,91 ^{aA}	18,85 ± 3,34 ^{aA}	19,87 ± 3,57 ^{aA}
	20	23,46 ± 1,04 ^{abA}	25,47 ± 2,60 ^{abA}	15,43 ± 0,42 ^{cB}	25,89 ± 2,42 ^{aA}	19,61 ± 1,78 ^{bcA}
	30	18,12 ± 3,07 ^{cA}	26,96 ± 2,52 ^{aA}	18,43 ± 1,16 ^{bcAB}	26,21 ± 2,42 ^{abA}	23,62 ± 2,50 ^{abcA}

CV1%: Linguiça toscana com 1% de extrato de café canéfora verde; CV0,32%: Linguiça toscana com 0,32% de extrato de café canéfora verde; P: linguiça toscana padrão (com eritorbato de sódio); CT1%: Linguiça toscana com 1% de extrato de café canéfora torra média; CT0,32%: Linguiça toscana com 0,32% de extrato de café canéfora torra média; Resultados expressos pela média ± desvio padrão (n=3); Médias com diferentes letras minúsculas sobrescritas entre as colunas e letras maiúsculas entre as linhas indicam diferença significativa entre as amostras pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Fonte: Autoria própria (2021).

Os resultados observados no TPA, indicam que não houve um processo de oxidação avançado até o final da vida útil, pois normalmente, o grande número de compostos gerados durante os processos de oxidação afetam adversamente a textura dos produtos cárneos (SHAH; BOSCO; MIR, 2014).

5.4.4 Medida de oxidação lipídica

A análise de oxidação lipídica por meio da metodologia de TBARS quantifica o composto malonaldeído, um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos dos ácidos graxos formados durante o processo de oxidação.

Os valores de TBARS das amostras com extrato café e com eritorbato de sódio estão dispostos na Tabela 18. É possível observar que não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as amostras e nem entre a mesma amostra ao longo do tempo, nos dias 0, 10 e 20. No dia 30, todas as amostras apresentaram valores de TBARS significativamente ($p \leq 0,05$) superiores aos demais dias. Entre as amostras, no dia 30, valores significativamente ($p \leq 0,05$) similares entre si e superiores as demais amostras, foram observados entre as amostras CV 0,32% e CT 0,32%. As amostras P, CV1% e CT1% exibiram valores de TBARS significativamente ($p \leq 0,05$) iguais.

Tabela 18 - Resultado da análise de TBARS (mg de TBARS kg^{-1} de amostra) para as amostras de linguiça toscana com extrato de café como antioxidante e com eritorbato de sódio durante a vida útil de 30 dias.

Amostra	0 dias	10 dias	20 dias	30 dias
CV 1%	0,681 \pm 0,056 ^{Ab}	0,696 \pm 0,059 ^{Ab}	0,677 \pm 0,068 ^{Ab}	9,605 \pm 1,036 ^{Ba}
CV 0,32%	0,612 \pm 0,056 ^{Ab}	0,595 \pm 0,071 ^{Ab}	0,577 \pm 0,079 ^{Ab}	13,205 \pm 0,561 ^{Aa}
P	0,662 \pm 0,038 ^{Ab}	0,697 \pm 0,065 ^{Ab}	0,628 \pm 0,048 ^{Ab}	10,842 \pm 0,668 ^{Ba}
CT 0,32%	0,671 \pm 0,056 ^{Ab}	0,671 \pm 0,049 ^{Ab}	0,687 \pm 0,067 ^{Ab}	13,912 \pm 0,916 ^{Aa}
CT 1%	0,655 \pm 0,054 ^{Ab}	0,687 \pm 0,045 ^{Ab}	0,644 \pm 0,071 ^{Ab}	9,529 \pm 0,532 ^{Ba}

Resultados expresso em mg de TBARS kg^{-1} de amostra; CV1%: Linguiça toscana com 1% de extrato de café canéfora verde; CV0,32%: Linguiça toscana com 0,32% de extrato de café canéfora verde; P: linguiça toscana padrão (com eritorbato de sódio); CT1%: Linguiça toscana com 1% de extrato de café canéfora torra média; CT0,32%: Linguiça toscana com 0,32% de extrato de café canéfora torra média; Resultados expressos pela média \pm desvio padrão (n=5); Médias com diferentes letras minúsculas sobrescritas entre as colunas e letras maiúsculas entre as linhas indicam diferença significativa entre as amostras pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Fonte: Autoria própria (2021).

Esses resultados indicam que a formação de malonaldeído só ocorreu de forma considerável depois de 20 dias de armazenamento e também que o uso de 1% de extrato de café, tanto verde quanto torra média, foram equivalentes ao uso de 0,08% do antioxidante sintético eritorbato de sódio.

Dilnawaz; Kumar e Bhat, (2017b) avaliaram o uso de 1% extrato de café arábica verde em blocos de carne de carneiro reestruturados ao longo de 21 dias e obtiveram valores semelhantes ao deste estudo até o dia 14, sendo que no estudo apresentado pelos autores, a amostra com 1% apresentou menores valores em relação ao controle sem adição de antioxidantes.

Kim, Cho e Han, (2013) avaliaram a aplicação de 0,5% extratos naturais de folhas verdes (extrato de Chamnamul e extrato de Fatsia), utilizando 0,5% de hidroxitolueno butilado (BHT) como controle positivo em hambúrgueres, armazenados a 4 °C por 12 dias. Seus resultados mostraram valores semelhantes para as amostras com extrato naturais e com BHT e superiores em relação a amostra controle sem antioxidante.

Em geral, a maioria dos estudos envolvendo aplicação de antioxidantes naturais em produtos cárneos resfriados, mostram um estudo de vida útil de no máximo 18 dias (DILNAWAZ; KUMAR; BHAT, 2017b; KIM; CHO; HAN, 2013; PATEIRO et al., 2018; VALENCIA et al., 2008) onde, os resultados encontrados para a formação de malonaldeído, são semelhantes ou superiores aos encontrados neste estudo, o que mostra que a aplicação de extrato de café como antioxidantes apresentou resultados satisfatórios de redução do processo de oxidação.

Os limites sugeridos para TBARS (equivalentes MDA), para que ocorra detecção de ranço pelo consumidor, são de 0,5 mg kg⁻¹ no caso de carnes e 1,0 mg kg⁻¹ para linguiças (BLOUKAS; PANERAS; FOURNITZIS, 1997) o que indica que a ação antioxidante dos extratos de café foi eficiente para controlar a oxidação lipídica nas amostras de linguiça até o 20° dia, assim como o eritorbato de sódio.

5.4.5 Porcentagem de formação de metamioglobina

Os resultados obtidos pela análise de formação de metamioglobina são mostrados na Tabela 19.

Tabela 19 - Resultados de formação de metamioglobina (%) para as linguiças toscanas com extrato de café e com eritorbato de sódio durante a vida útil de 30 dias.

Tempo (dias)	P	CV 0,32%	CV1%	CT 0,32%	CT1%
0	72,24 ± 0,19 ^{cA}	75,17 ± 0,47 ^{bA}	76,58 ± 0,72 ^{aA}	74,19 ± 0,19 ^{bA}	77,40 ± 0,41 ^{aA}
10	73,30 ± 0,40 ^{bA}	74,53 ± 0,52 ^{bA}	76,83 ± 0,82 ^{aA}	74,33 ± 0,43 ^{bA}	77,48 ± 0,18 ^{aA}
20	73,36 ± 0,47 ^{cA}	74,92 ± 0,32 ^{bA}	76,98 ± 0,25 ^{aA}	73,78 ± 0,08 ^{cA}	76,98 ± 0,04 ^{aA}
30	72,79 ± 0,29 ^{dA}	74,80 ± 0,84 ^{bcA}	76,21 ± 0,32 ^{abA}	73,91 ± 0,35 ^{cdA}	76,88 ± 0,33 ^{aA}

CV1%: Linguiça toscana com 1% de extrato de café canéfora verde; CV0,32%: Linguiça toscana com 0,32% de extrato de café canéfora verde; P: linguiça toscana padrão (com eritorbato de sódio); CT1%: Linguiça toscana com 1% de extrato de café canéfora torra média; CT0,32%: Linguiça toscana com 0,32% de extrato de café canéfora torra média; Resultados expressos pela média ± desvio padrão (n=3); Médias com diferentes letras minúsculas sobrescritas entre as colunas e letras maiúsculas entre as linhas indicam diferença significativa entre as amostras pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Fonte: Autoria própria (2021).

Os resultados de formação de metamioglobina mostram que houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) nos resultados entre as amostras mesmo no dia 0, sendo maiores valores obtidos para as amostras CV1% e CT1%, com maior quantidade de extrato de café, o que pode significar que os resultados foram influenciados pela coloração dos extratos, não sendo possível utiliza-los para comparação entre as diferentes amostras. Já ao longo dos 30 dias, não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) para nenhuma das amostras estudadas. Desta forma, apesar de ter ocorrido uma mudança significativa ($p \leq 0,05$) na cor das amostras no final da vida útil, não foi verificada uma formação de metamioglobina significativa. Esses resultados confirmam a eficiência dos extratos de cafés como antioxidantes aplicados a linguiça toscana.

5.4.6 Análise Sensorial

Os resultados obtidos para as análises microbiológicas foram, $< 1,0 \times 10$ para *Escherichia coli* UFC g⁻¹ (duplicata), 7×10^3 e 5×10^3 para Aeróbios mesófilos UFC g⁻¹ e ausência para *Salmonella* em 25 g (duplicata), atendendo o estabelecido pela Normativa n° 60 e RDC n° 331 (BRASIL, 2019b; BRASIL, 2019c).

Dos 62 avaliadores que participaram da análise sensorial, 42% foram homens e 58% mulheres, em relação a faixa etária, 73% possuíam entre 18 a 35 anos, e 27% entre 36 a 65 anos, sendo que 42% possuíam ensino superior incompleto e 42% superior completo ou mais.

98% dos avaliadores disseram possuir o hábito de consumir produtos cárneos, sendo que 81% disseram fazer isso ao menos uma vez por semana, 89% disseram consumir carne suína, 44% ocasionalmente e 32% até 3 vezes por semana. Dos produtos de carne suína mais consumidos a linguiça toscana foi a mais citada (27%), seguida pela calabresa (26%) e da carne *in natura* (21%). No geral, 84% disseram consumir linguiça toscana, com uma frequência de, ocasionalmente (47%), uma vez ao mês (35%), 3 vezes por semana (13%), nunca (3%) e diariamente (2%). 79% dos participantes disseram buscar alimentos com ingredientes mais saudáveis e os parâmetros que eles avaliam na aquisição de produtos cárneos seguiram a seguinte ordem de importância, aparência (29%), preço (24%), qualidade nutricional e marca (16% cada) e prazo de validade (14%).

O aspecto das amostras depois de preparadas pode ser observado na Figura 22 e os resultados da avaliação sensorial dos atributos cor, sabor, odor, textura e aceitação global, por meio do teste de escala hedônica e também de intenção de compra na Tabela 20. Os resultados do índice de aceitabilidade podem ser observados na Tabela 21.

Figura 22 - Aspecto das amostras de linguiça após assadas.



a) Linguiça toscana padrão (com eritorbato de sódio); b) Linguiça toscana com 0,32% de extrato de café canéfora verde; c) Linguiça toscana com 1% de extrato de café canéfora verde; d) Linguiça toscana com 1% de extrato de café canéfora torra média; e) Linguiça toscana com 0,32% de extrato de café canéfora torra média.

Fonte: Autoria própria (2021).

Tabela 20 - Resultados da avaliação sensorial por meio do teste de escala hedônica.

Amostra	Odor	Cor	Sabor	Textura	Aceitação Global	Intenção de compra
CV 1%	6,76 ± 1,50 ^c	7,19 ± 1,39 ^b	7,16 ± 1,43 ^{bc}	7,32 ± 1,56 ^a	7,34 ± 1,09 ^{bc}	3,85±0,91 ^{bc}
CV 0,32%	7,43 ± 1,16 ^{ab}	7,71 ± 1,05 ^{ab}	7,63 ± 1,37 ^{ab}	7,68 ± 1,19 ^a	7,77 ± 1,07 ^{ab}	4,21±0,86 ^{ab}
P	7,81 ± 1,24 ^a	8,00 ± 0,88 ^a	8,19 ± 1,01 ^a	7,92 ± 1,37 ^a	8,19 ± 0,91 ^a	4,53±0,98 ^a
CT 1%	5,76 ± 1,93 ^d	4,73 ± 2,18 ^d	5,77 ± 2,22 ^d	6,37 ± 2,08 ^b	5,81 ± 1,88 ^d	2,92±1,15 ^d
CT 0,32%	6,84 ± 1,73 ^{bc}	6,15 ± 1,94 ^c	6,92 ± 1,85 ^c	7,31 ± 1,56 ^a	7,03 ± 1,48 ^c	3,66±1,07 ^c

CV1%: Linguiça toscana com 1% de extrato de café canéfora verde; CV0,32%: Linguiça toscana com 0,32% de extrato de café canéfora verde; P: linguiça toscana padrão (com eritorbato de sódio); CT1%: Linguiça toscana com 1% de extrato de café canéfora torra média; CT0,32%: Linguiça toscana com 0,32% de extrato de café canéfora torra média; Resultados expressos pela média ± desvio padrão (n=62); Médias com diferentes letras minúsculas sobrescritas entre as linhas indicam diferença significativa entre as amostras pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Fonte: Autoria própria (2021).

Tabela 21 - Índice de aceitabilidade para as diferentes amostras de linguiça analisadaas.

Amostra	Índice de aceitabilidade (%)				
	Aceitação Global	Aroma	Cor	Sabor	Textura
CV 1%	81,54	75,09	79,93	79,57	81,36
CV 0,32%	86,38	82,62	85,66	84,77	85,30
P	91,04	86,74	88,89	91,04	87,99
CT 1%	64,52	63,98	52,51	64,16	70,79
CT 0,32%	78,14	75,99	68,28	76,88	81,18

CV1%: Linguiça toscana com 1% de extrato de café canéfora verde; CV0,32%: Linguiça toscana com 0,32% de extrato de café canéfora verde; P: linguiça toscana padrão (com eritorbato de sódio); CT1%: Linguiça toscana com 1% de extrato de café canéfora torra média; CT0,32%: Linguiça toscana com 0,32% de extrato de café canéfora torra média.

Fonte: Autoria própria (2021).

Em relação ao odor as amostras P e CV0,32% apresentaram valores estatisticamente similares entre si e superiores às demais amostras, sendo CV0,32% também significativamente similar a CT0,32%, as amostras com piores avaliações foram CT1% e CV1%, possivelmente devido a maior concentração de café que alterou o odor padrão do produto.

A cor foi melhor avaliada, sem diferença significativa nas amostras P e CV0,32%, seguidas da amostra CV1% que também foi significativamente similar a CV0,32%. CT1% teve a pior avaliação de cor, seguida pela amostra CT0,32%. O sabor teve um resultado muito semelhante a cor, porém a avaliação para a amostra CT0,32% foi significativamente similar a CV1%.

O parâmetro textura apresentou-se significativamente igual para as amostras P, CV0,32%, CT0,32% e CV1%, indo de encontro aos resultados mostrados no item 5.4.3. A

diferença significativa no resultado para a amostra CT1% pode ter sido influenciada pela rejeição a amostra devido aos outros parâmetros.

Em relação a aceitação global, as amostras significativamente mais aceitas foram P e CV0,32%, seguida da amostra CV1%, depois CT0,32% e a com menor aceitação foi a CT1%. Em relação a aceitação global, apenas a amostra CT1% não obteve uma pontuação acima de 7, o que mostra que as demais amostras foram bem aceitas pelos provadores. A intenção de compra, de forma coerente, seguiu os mesmos resultados da aceitação global da amostra.

Dilnawaz; Kumar e Bhat (2017b) que aplicaram 1% de extrato de café verde a fim de avaliar a ação antioxidante em blocos de carne de carneiro reestruturada, encontraram resultados diferentes em relação a análise sensorial, os autores avaliaram cor a aparência, sabor, textura e suculência durante o período de armazenamento de 21 dias (0, 7, 14 e 21), e ao longo do período evidenciaram significativa ($P \leq 0,05$) tendência decrescente da pontuação, para todos os atributos, do dia 0 ao 21, porém, as pontuações foram significativamente ($P \leq 0,05$) maiores para os produtos incorporados com extrato de grão de café verde (1%) em todos os intervalos de armazenamento, exceto o dia 0, onde houve pontuações significativamente ($P \leq 0,05$) similares.

De acordo com Teixeira et al. (1987) para que o produto seja considerado como aceito, em termos de suas propriedades sensoriais, é necessário que este obtenha um Índice de Aceitabilidade (IA) de, no mínimo, 70%. Com base nas notas para a aceitabilidade (Tabela 21), pode-se confirmar que as amostras mais aceitas foram a padrão e as com 0,32% e 1% de café verde, nesta ordem, tendo todas apresentadas valores superiores a 70% para todos os atributos avaliados. A amostra com 0,32% de café torrado também apresentou valores acima de 70%, exceto para a cor, porém, com uma aceitabilidade inferior as já citadas, enquanto a amostra com 1% de café torrado só apresentou aceitabilidade acima de 70% para a textura.

Apesar da rejeição da amostra com 1% de extrato de café torrado, verifica-se que os maiores desvios são apresentados nestes resultados, chegando a um coeficiente de variação de 38% no sabor, o que condiz com os comentários apresentados pelos avaliadores. A amostra CT1% foi a que mais recebeu comentários que variavam entre “gosto de queimado”, “aroma, sabor e cor de café muito fortes” e “a cor achei estranho, mas amei o sabor”, “adorei, muito bom” e “senti um aroma de café, achei diferente e interessante, inovador, pois para um amante de café o produto é muito atrativo”. O que mostra que, não é possível utilizar os extratos de café torrado como um antioxidante natural para substituir os atualmente utilizado, apesar de sua eficiência, devido a mudança nas características sensoriais do produto, porém há uma aceitação

de um produto com esses atributos pelo nicho de pessoas que apreciam as características da bebida café.

Por fim, os resultados mostram, que o uso dos extratos de café verde como antioxidante em linguiça toscana é tão eficiente e tão aceito pelo público quanto o uso do antioxidante eritorbato de sódio.

6 CONCLUSÃO

Foi possível constatar a presença de compostos bioativos e a capacidade antioxidante nos extratos de café obtidos e comprovar a influência do método, solvente e parâmetros, como temperatura e concentração, na extração dos bioativos e atividade antioxidante do café. Dentro da metodologia avaliada, o banho de ultrassom mostrou-se mais eficiente do que o processador ultrassônico com sonda (uso indireto) e o shaker, e melhores resultados foram obtidos em temperaturas mais elevadas (70 °C) e com uma solução hidroalcóolica como solvente. Por meio do emprego de um DCCR, foi possível obter uma região ótima de extração, dentro da faixa estudada, onde um maior teor de bioativos e consequente maior atividade antioxidante foram obtidos na região do ponto central com otimização das respostas nas condições de 14,2 min, proporção de etanol/ água de 34,2% e razão amostra/ solvente de 5,8/100 g mL⁻¹.

Avaliando-se as diferentes amostras de café, das espécies *Coffea canephora* e *Coffea arabica* (verde e torra média) na condição otimizada, constatou-se que os extratos de café com maior atividade antioxidante, nos parâmetros utilizados no estudo, foram os da espécie *Coffea canephora* verde e torrado. Aplicando-se os extratos secos de café canéfora, verde e torra média, obtidos nas condições otimizadas, em amostras de linguiça toscana e avaliando-se por um período de 30 dias, em comparação com um antioxidante padrão, constatou-se que, para a formação de malonaldeído, a aplicação de 1% dos extratos de café, tanto verde quanto torra média, foram significativamente ($p \leq 0,05$) tão eficientes quanto o antioxidante sintético. Já para as amostras com 0,32% de extrato de café, a eficiência foi igual até o 20º dia, e no 30º foi significativamente ($p \leq 0,05$) inferior.

Quanto aos resultados de parâmetros de cor, TPA e formação de metamioglobina, não houveram alterações significativas ($p \leq 0,05$) ao longo do tempo para nenhuma das amostras. Entretanto, na avaliação sensorial de escala hedônica, as amostras com café verde apresentaram uma aceitação semelhante ao padrão enquanto as com café torrado foram significativamente menos preferidas. Por fim, considerando os parâmetros físico-químicos as amostras com 1% de café canéfora, verde e torrado, tiveram melhores resultados quanto a oxidação, enquanto considerando a avaliação sensorial, a amostra com 0,32% foi melhor aceita, sendo estatisticamente similar ($p \leq 0,05$) a padrão, mostrando que o extrato de café é um ótimo substituto como antioxidante para a linguiça toscana e possivelmente para outros produtos cárneos.

REFERÊNCIAS

- ABIC. Estatísticas. **Associação Brasileira da Indústria do Café**. Disponível em: <<http://abic.com.br/estatisticas/indicadores-da-industria/indicadores-da-industria-de-cafe-2018/>>. Acesso em: 13 de agosto de 2019.
- ABPA. Relatório Anual ABPA. **Associação Brasileira de Proteína Animal**, p. 248, 2015.
- ABPA. Relatório Anual ABPA. **Associação Brasileira de Proteína Animal**, p. 160, 2021.
- AMARAL, A. B.; SOLVA, M. V. DA; LANNES, S. C. D. S. Lipid oxidation in meat: Mechanisms and protective factors - a review. **Food Science and Technology**, v. 38, p. 1–15, 2018.
- ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes Naturais: Técnicas De Extração. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 24, n. 2, p. 319–336, 2006.
- AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association Analytical Chemists.**, 2005.
- ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos - Teoria e Prática**. 4. ed. Viçosa - MG. 2018.
- ARAUJO S. da, D. H. et al. Reduction of sodium content in frozen goat sausage using different types of salt. **Lwt**, v. 135, 2021.
- BLOUKAS, J. D.; PANERAS, E.D.; FOURNITZIS G.C. Effect of replacing pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. **Meat Science**, v. 45, n. 2, p. 133–144, 1997.
- BOYLAN, F.; MENEZES, S.; LEITA, G. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, v. 130, n. August, p. 127–130, 2001.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Linguiça e de Salsicha, em conformidade com os Anexos desta Instrução Normativa. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), 2000.
- BRASIL. RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 272, DE 14 DE MARÇO DE 2019. **Diário Oficial da União**, 2019a.
- BRASIL. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 60 DE 23 DE DEZEMBRO DE 2019. **Diário Oficial da União**, p. 133, 2019b.
- BRASIL. RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 277, DE 22 DE SETEMBRO DE 2005, **Diário Oficial da União**, 2005.
- BRASIL. RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 331 DE 23 DE DEZEMBRO DE 2019. p. 12–15, **Diário Oficial da União**, 2019c.
- BRAVO, J. et al. Influence of extraction process on antioxidant capacity of spent coffee. **Food Research International**, v. 50, n. 2, p. 610–616, 2013.
- BUDRYN, G. et al. Effect of different extraction methods on the recovery of chlorogenic acids, caffeine and Maillard reaction products in coffee beans. **European Food Research**

and Technology, v. 228, n. 6, p. 913–922, 2009.

CAO, Y.; XIONG, Y. L. Chlorogenic acid-mediated gel formation of oxidatively stressed myofibrillar protein. **Food Chemistry**, v. 180, p. 235–243, 2015.

CIARAMELLI, C.; PALMIOLI, A.; AIROLDI, C. Coffee variety, origin and extraction procedure: Implications for coffee beneficial effects on human health. **Food Chemistry**, v. 278, p. 47–55, 2019.

CID, M. C.; DE PEÑA, M. P. Coffee: Analysis and Composition. **Encyclopedia of Food and Health**, p. 225–231, 2015.

CONAB. Acompanhamento da safra brasileira 2019/2020. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2019/2020**, p. 1–29, 2020.

CRACKEL, R. L.; GRAY, J. I.; BOOREN, A. M.; BUCKELY, D. J. Effect of antioxidants on lipid stability in restructured beef steaks. **Journal of food Science**, Chicago, v. 53, n. 2, p. 656, 1988.

CUNHA, L. C. M. et al. Natural antioxidants in processing and storage stability of sheep and goat meat products. **Food Research International**, v. 111, n. 2017, p. 379–390, 2018.

DAS, P. R.; EUN, J. B. A comparative study of ultra-sonication and agitation extraction techniques on bioactive metabolites of green tea extract. **Food Chemistry**, v. 253, p. 22–29, 2018.

DERRINGER, G., SUICH, R. Simultaneous optimization of several response variables. **Journal of Quality Technology**, v. 12, p. 214–219, 1980.

DIAS, R.; BENASSI, M. Discrimination between Arabica and Robusta Coffees Using Hydrosoluble Compounds: Is the Efficiency of the Parameters Dependent on the Roast Degree? **Beverages**, v. 1, n. 3, p. 127–139, 2015.

DILNAWAZ, H. M.; KUMAR, S.; BHAT, Z. F. Ipomoea batatas as a novel binding agent for hot-set restructured binding systems and green coffee bean for improved lipid oxidative stability and storage quality. **Nutrition and Food Science**, v. 47, n. 5, p. 659–672, 2017a.

DILNAWAZ, H. M.; KUMAR, S.; BHAT, Z. F. Effect of Green Coffee Bean Extract on the Lipid Oxidative Stability and Storage Quality of Restructured Mutton Blocks Containing Colocasia esculenta, a Novel Binding Agent. **Agricultural Research**, v. 6, n. 4, p. 443–454, 1 dez. 2017b.

DUANGJAI, A. et al. Comparison of antioxidant, antimicrobial activities and chemical profiles of three coffee (*Coffea arabica* L.) pulp aqueous extracts. **Integrative Medicine Research**, v. 5, n. 4, p. 324–331, 2016.

EMBRAPA. Rastreabilidade e Certificação de Suínos no Brasil. **2ª Conferência Internacional Virtual sobre Qualidade de Carne Suína**, p. 452, 2002.

ESTÉVEZ, M. Protein carbonyls in meat systems: A review. **Meat Science**, v. 89, n. 3, p. 259–279, 2011.

ESTÉVEZ, M. What's New in Meat Oxidation? In: PURSLOW, P. P. (Ed.). **New Aspects of Meat Quality**. Universidade Nacional da Província Central de Buenos Aires, Tandil, Argentina: Elsevier Ltd, p. 91–109, 2017.

ESTÉVEZ, M.; LORENZO, J. M. **Impact of Antioxidants on Oxidized Proteins and Lipids in Processed Meat**. [s.l.] Elsevier, 2019.

FALOWO, A. B.; FAYEMI, P. O.; MUCHENJE, V. Natural antioxidants against lipid-

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

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <http://www.fao.org/ag/againfo/themes/en/pigs/home.html>. Acesso em: 09 de julho de 2019.

FAO. Overview of global meat market developments in 2019. **Meat Market Review**, n. April, p. 1–11, 2020.

FAUSTMAN, C. et al. Myoglobin and lipid oxidation interactions: Mechanistic bases and control. **Meat Science**, v. 86, n. 1, p. 86–94, 2010.

FOLIN, O.; CIOCALTEAU, V. Tyrosine and Tryptophane in Proteins. **Journal of Biological Chemistry**, v. 73, n. 2, p. 627–648, 1927.

FOLMER, B.; FARAH, A.; JONES, L.; FOGLIANO, V. Human Wellbeing, Sociability, Performance, and Health. *In*: FOLMER, B. **The Craft and Science of Coffee**. p. 493–520, Elsevier, 2017.

GHANI, M. A. et al. Measurement of antioxidant activity with the thiobarbituric acid reactive substances assay. **Food Chemistry**, v. 230, p. 195–207, 2017.

GUERGOLETTI, K. B. et al. Influence of Spray-Drying and Room Temperature Storage on the Anti- and Prooxidant Properties of Fermented Juçara Pulp. **Food Technology & Biotechnology**, v. 58, n. 1, p. 29–37, 2020.

HUGO, C. J.; HUGO, A. Current trends in natural preservatives for fresh sausage products. **Trends in Food Science and Technology**, v. 45, n. 1, p. 12–23, 2015.

ICO. Annual Review 2017/18. **International Coffee Organization-Annual Review**, p. 58, 2017.

ICO. Exporting countries (Crop years) - International Coffee Organization. p. 7–8, 2019.

IRAKLI, M.; CHATZOPOULOU, P.; EKATERINIADOU, L. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds: Oleuropein, phenolic acids, phenolic alcohols and flavonoids from olive leaves and evaluation of its antioxidant activities. **Industrial Crops and Products**, v. 124, n. June, p. 382–388, 2018.

JIANG, J.; XIONG, Y. L. Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: A review. **Meat Science**, v. 120, p. 107–117, 2016.

JULLY, K. M. M.; TOTO, C. S.; WERE, L. Antioxidant effect of spent, ground, and lyophilized brew from roasted coffee in frozen cooked pork patties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 66, p. 244–251, 2016.

KALSCHNE, D. et al. Main Minerals and Organic Compounds in Commercial Roasted and Ground Coffee: an Exploratory Data Analysis. **Química Nova**, v. X, n. 00, p. 1–6, 2020.

KALSCHNE, D. L. et al. Sensory characterization and acceptance of coffee brews of C. arabica and C. canephora blended with steamed defective coffee. **Food Research International**, v. 124, p. 234–238, 2019.

KEENAN, D. F. **Pork Meat Quality, Production and Processing on**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Ltd., 2015.

KIM, J.-H. et al. Antioxidant Effect of Extracts from the Coffee Residue in Raw and Cooked Meat. **Antioxidants**, v. 5, n. 3, p. 21, 4 jul. 2016.

KIM, J.-H. et al. Antioxidant Effect of Extracts from the Coffee Residue in Raw and Cooked

- Meat. **Antioxidants**, v. 5, n. 3, p. 21, 4 jul. 2018.
- KIM, S. J.; CHO, A. R.; HAN, J. Antioxidant and antimicrobial activities of leafy green vegetable extracts and their applications to meat product preservation. **Food Control**, v. 29, n. 1, p. 112–120, 2013.
- KOMES, D.; BUŠIĆ, A. Antioxidants in Coffee. **Processing and Impact on Antioxidants in Beverages**, p. 25–32, 2014.
- KRZYWICKI, K. The determination of haem pigment in meat. **Meat Science**, v. 7, n. 1, p. 29–36, 1982.
- KUMAR, K.; SRIVASTAV, S.; SHARANAGAT, V. S. Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 70, n. May 2020, p. 105325, 2021.
- KUMAR, Y. et al. Recent Trends in the Use of Natural Antioxidants for Meat and Meat Products. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, n. 6, p. 796–812, 2015.
- LIN, C.; TOTO, C.; WERE, L. Antioxidant effectiveness of ground roasted coffee in raw ground top round beef with added sodium chloride. **LWT - Food Science and Technology**, v. 60, n. 1, p. 29–35, 1 jan. 2015.
- LORENZO, J. M. et al. Influence of natural extracts on the shelf life of modified atmosphere-packaged pork patties. **Meat Science**, v. 96, n. 1, p. 526–534, 2014.
- LORENZO, J. M. et al. Natural antioxidants to reduce the oxidation process of meat and meat products. **Food Research International**, v. 115, p. 377–378, 2019.
- LUDWIG, I. A. et al. Extraction of coffee antioxidants: Impact of brewing time and method. **Food Research International**, v. 48, n. 1, p. 57–64, 2012.
- MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Café no Brasil. 2017. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/cafe/cafeicultura-brasileira>. Acesso em: 18 de julho de 2019.
- MARCUCCI, C. T. et al. Teores de trigonelina, ácido 5-cafeoilquínico, cafeína e melanoidinas em cafés solúveis comerciais Brasileiros. **Química Nova**, v. 36, n. 4, p. 544–548, 2013.
- MEREGALLI, M. M. et al. Conventional and ultrasound-assisted methods for extraction of bioactive compounds from red araçá peel (*Psidium cattleianum* Sabine). **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, n. 6, p. 5800–5809, 2020.
- NISSEN, L. R. et al. Protection of dehydrated chicken meat by natural antioxidants as evaluated by electron spin resonance spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 11, p. 5548–5556, 2000.
- NISSEN, L. R. et al. The antioxidative activity of plant extracts in cooked pork patties as evaluated by descriptive sensory profiling and chemical analysis. **Meat Science**, v. 68, n. 3, p. 485–495, nov. 2004.
- NOWAK, A. et al. Polyphenolic extracts of cherry (*Prunus cerasus* L.) and blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) leaves as natural preservatives in meat products. **Food Microbiology**, v. 59, p. 142–149, 2016.
- OLIVEIRA, A. C. et al. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 689–702, 2009.

- OLIVEIRA, D. S. Nova metodologia para extração de compostos fenólicos de vinho tinto e avaliação da estabilidade dos extratos obtidos. 150f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa. 2014.
- OLIVEIRA, É. R. et al. Potential of alternative solvents to extract biologically active compounds from green coffee beans and its residue from the oil industry. **Food and Bioproducts Processing**, v. 115, p. 47–58, 2019.
- PAGE, J. C.; ARRUDA, N. P.; FREITAS, S. P. Crude ethanolic extract from spent coffee grounds: Volatile and functional properties. **Waste Management**, v. 69, p. 463–469, 2017.
- PAPUC, C. et al. Plant Polyphenols as Antioxidant and Antibacterial Agents for Shelf-Life Extension of Meat and Meat Products: Classification, Structures, Sources, and Action Mechanisms. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 16, p. 1243–1268, 2017.
- PATEIRO, M. et al. Guarana seed extracts as a useful strategy to extend the shelf life of pork patties: UHPLC-ESI/QTOF phenolic profile and impact on microbial inactivation, lipid and protein oxidation and antioxidant capacity. **Food Research International**, v. 114, p. 55–63, 2018.
- PEREDA, J. A. O. Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal. Tradução de Fátima Murad. Porto Alegre: Artmed, v. 2. 279 p. 2005.
- PERUMALLA, A. V. S.; HETTIARACHCHY, N. S. Green tea and grape seed extracts - Potential applications in food safety and quality. **Food Research International**, v. 44, n. 4, p. 827–839, 2011.
- PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 4290–4302, 2005.
- REZENDE, Y. R. R. S.; NOGUEIRA, J. P.; NARAIN, N. Comparison and optimization of conventional and ultrasound assisted extraction for bioactive compounds and antioxidant activity from agro-industrial acerola (*Malpighia emarginata* DC) residue. **LWT - Food Science and Technology**, v. 85, p. 158–169, 2017.
- SAIFULLAH, M. et al. Comparison of conventional extraction technique with ultrasound assisted extraction on recovery of phenolic compounds from lemon scented tea tree (*Leptospermum petersonii*) leaves. **Heliyon**, v. 6, n. 4, p. e03666, 2020.
- SEGHEO, L. et al. Antioxidant extracts of coffee leaves and its active ingredient 5-caffeoylquinic acid reduce chemically-induced inflammation in mice. **Industrial Crops and Products**, v. 126, n. September, p. 48–57, 2018.
- SENAI. Entendendo o espaço de cor L*A*B*. Escola SENAI Francisco Matarazzo. Brás - São Paulo. Disponível em: <<https://textil.sp.senai.br/5287/entendendo-o-espaco-de-cor-l-a-b>>. Acesso em 19 de agosto de 2021.
- SHAH, M. A.; BOSCO, S. J. D.; MIR, S. A. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. **Meat Science**, v. 98, n. 1, p. 21–33, 2014.
- SHAHIDI, F. **Oxidative Stability and Shelf Life of Meat and Meat Products**. [s.l.] Elsevier Inc., 2016.
- SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 820–897, 2015.

- SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 94–103, 1999.
- SILVEIRA, S. M. et al. Chemical composition and antibacterial activity of *Laurus nobilis* essential oil towards foodborne pathogens and its application in fresh Tuscan sausage stored at 7°C. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 86–93, 2014.
- SOLADOYE, O. P. et al. Protein Oxidation in Processed Meat: Mechanisms and Potential Implications on Human Health. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, p. 106–122, 2015.
- TARLADGIS, B. G.; PEARSON, A. M.; DUGAN, L. R. Chemistry of the 2-thiobarbituric acid test for determination of oxidative rancidity in foods – II Formation of the TBA – Malonaldehyde complex without acid-heat treatment. **Journal Science and Food Agriculture**, v. 15, p. 602, 1964.
- TEIXEIRA, E.; MEINERT, E.; BARBETA, P. A. Análise sensorial dos alimentos. Florianópolis: UFSC. 182 p. 1987.
- THU, T. et al. Application of natural antioxidant extract from guava leaves (*Psidium guajava* L.) in fresh pork sausage. **Meat Science**, v. 165, 2020.
- TOMOVIĆ, V. et al. Plants as natural antioxidants for meat products. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 85, n. 1, p. 1–9, 2017.
- VALENCIA, I. et al. Enhancement of the nutritional status and quality of fresh pork sausages following the addition of linseed oil, fish oil and natural antioxidants. **Meat Science**, v. 80, n. 4, p. 1046–1054, 2008.
- VIGNOLI, J. A. et al. Roasting process affects differently the bioactive compounds and the antioxidant activity of arabica and robusta coffees. **Food Research International**, v. 61, p. 279–285, 2014.
- VIGNOLI, J. A.; BASSOLI, D. G.; BENASSI, M. DE T. Antioxidant Activity of Roasted and Instant Coffees : **Coffee Science**, v. 7, n. 1, p. 68–75, 2012.
- VIGNOLI, J. A.; BASSOLI, D. G.; BENASSI, M. T. Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. **Food Chemistry**, v. 124, n. 3, p. 863–868, 2011.
- VIGNOLI, J. A.; MORI, A. L. B; VIEGAS, M. C.; BASSOLI, D. G.; BENASSI, M. T. Comparative impact of different coffee constituents on the antioxidant capacity. In: Kalschne, D. L.; Corso, M. P., Dias, R. C. E. (Org.). *Innovations in Coffee Quality*. 1ed. Hauppauge: **Nova Science Publishers, Inc.**, v. 1, p. 69-88, 2020.
- VILLALOBOS-DELGADO, L. H. et al. Natural Antioxidants in Fresh and Processed Meat. **Sustainable Meat Production and Processing**, p. 207–236, 2019.
- VINATORU, M.; MASON, T. J.; CALINESCU, I. Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 97, p. 159–178, 2017.
- WANG, Z. et al. **Interrelationship among ferrous myoglobin, lipid and protein oxidations in rabbit meat during refrigerated and superchilled storage**. [s.l.] Elsevier Ltd, 2018. v. 146
- WEN, L. et al. Ultrasound-assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from coffee silverskin: Impact on phenolic content, antioxidant activity, and morphological

characteristics. **Journal of Food Process Engineering**, n. October 2018, p. 1–11, 2019.

WENJIAO, F. et al. TBARS predictive models of pork sausages stored at different temperatures. **Meat Science**, v. 96, n. 1, p. 1–4, 2014.

WONGSA, P. et al. Quality and bioactive compounds of blends of Arabica and Robusta spray-dried coffee. **Food Chemistry**, v. 283, p. 579–587, 2019.

YAHYA, N. A.; ATTAN, N.; WAHAB, R. A. An overview of cosmeceutically relevant plant extracts and strategies for extraction of plant-based bioactive compounds. **Food and Bioproducts Processing**, v. 112, p. 69–85, 2018.

ZAREIAN, M. et al. Interrelationship among myoglobin forms, lipid oxidation and protein carbonyls in minced pork packaged under modified atmosphere. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 20, n. March 2018, p. 100311, 2019.

APÊNDICE A - Questionário de avaliação do perfil do avaliador



Ministério da Educação
 Universidade Tecnológica Federal do Paraná
 Câmpus Medianeira
 Departamento Acadêmico Alimentos



QUESTIONÁRIO PARA LEVANTAMENTO DE DADOS

Nome: _____ Data: ____/____/____

Telefone: _____ E-mail: _____

Gênero: () Feminino () Masculino

Idade (anos): () 18-25 () 26-35 () 36-45 () 46-55 () 56-65 () >65

Profissão (ocupação): _____

Grau de instrução:

- () Ensino fundamental incompleto () Ensino médio completo
 () Ensino fundamental completo () Ensino superior incompleto
 () Ensino médio incompleto () Ensino superior completo ou mais

1. Você possui o hábito de consumir produtos cárneos?

() Sim () Não

1.1 Se sim, com que frequência você consome?

() 1 vez por semana () 2 vezes por mês () 1 vez por mês
 () Ocasionalmente () Nunca

2. Você possui o hábito de consumir carne suína?

() Sim () Não

2.1. Se sim, com que frequência?

() Diariamente () 3 vezes por semana () 1 vez por mês
 () Ocasionalmente () Nunca

3. Qual produto de carne suína que você mais consome?

() Linguiça toscana () Linguiça de Pernil () Salames () Carne *in natura* () Calabresa ()
 Outros.

4. Você costuma consumir linguiça toscana?

() Sim () Não

4.1. Se sim, com que frequência?

() Diariamente () 3 vezes por semana () 1 vez por mês
 () Ocasionalmente () Nunca

5. Você busca alimentos mais saudáveis, com ingredientes naturais?

() Sim () Não

6. O que você avalia na aquisição de um produto cárneo?

() Preço () Prazo de validade
 () Marca () Qualidade nutricional
 () Aparência () Outros

APÊNDICE B - Respostas dos ensaios estudados no DCCR considerando os sólidos solúveis

Tabela 22. Respostas dos ensaios estudados no DCCR considerando os sólidos solúveis.

Ensaio	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7
	Cafeína (g 100 g amostra ⁻¹ b.s.)	5-ACQ (g 100 g amostra ⁻¹ b.s.)	Conteúdo de Ácidos Clorogênicos Totais (g 100 g amostra ⁻¹ b.s.)	Atividade redutora (g EAG 100 g amostra ⁻¹ b. s.)	Atividade Antioxidante pela Captura do Radical Livre DPPH (g EqTrolox 100 g amostra ⁻¹ b. s.)	Atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS+• (g Eq Trolox 100 g amostra ⁻¹ b. s.)
1	10,01 ± 0,51	1,25 ± 0,09	4,85 ± 0,31	37,43 ± 0,66	69,68 ± 5,67	84,39 ± 6,32
2	9,86 ± 0,77	1,17 ± 0,10	4,86 ± 0,16	35,02 ± 1,32	66,35 ± 2,50	77,91 ± 6,89
3	6,23 ± 0,25	0,74 ± 0,04	2,76 ± 0,11	27,17 ± 1,03	53,84 ± 1,49	53,54 ± 3,56
4	7,45 ± 0,79	0,95 ± 0,01	4,85 ± 0,23	31,40 ± 0,61	50,25 ± 1,47	72,79 ± 3,09
5	6,51 ± 0,59	0,80 ± 0,03	3,13 ± 0,22	21,97 ± 0,31	38,87 ± 0,60	52,90 ± 0,85
6	6,41 ± 0,17	0,83 ± 0,04	3,17 ± 0,31	23,67 ± 0,25	40,87 ± 0,62	68,89 ± 1,27
7	5,51 ± 0,13	0,74 ± 0,04	3,22 ± 0,26	20,86 ± 0,48	34,88 ± 1,11	36,04 ± 1,36
8	5,93 ± 0,09	0,83 ± 0,07	2,86 ± 0,13	21,96 ± 0,49	36,35 ± 0,85	37,02 ± 2,05
9	6,49 ± 0,12	0,70 ± 0,01	3,13 ± 0,20	23,66 ± 0,66	40,66 ± 0,97	43,35 ± 2,05
10	7,21 ± 0,82	0,83 ± 0,01	3,50 ± 0,06	25,69 ± 0,35	46,04 ± 1,40	48,51 ± 1,72
11	7,53 ± 0,33	0,84 ± 0,10	3,05 ± 0,22	24,85 ± 0,69	47,08 ± 1,81	39,68 ± 2,78
12	6,49 ± 0,66	0,75 ± 0,07	3,26 ± 0,34	24,13 ± 0,65	44,05 ± 0,96	40,62 ± 1,33
13	6,06 ± 0,05	0,61 ± 0,02	3,06 ± 0,16	40,10 ± 1,73	23,97 ± 1,28	118,71 ± 6,10
14	5,70 ± 0,22	0,56 ± 0,01	2,94 ± 0,04	20,52 ± 0,16	33,81 ± 0,68	36,18 ± 0,67
15	8,25 ± 0,94	1,46 ± 0,04	7,27 ± 0,08	25,31 ± 1,01	46,35 ± 2,14	46,08 ± 2,60
16	7,72 ± 0,55	1,38 ± 0,01	6,49 ± 0,61	24,25 ± 0,82	43,44 ± 1,77	41,52 ± 1,66
17	6,79 ± 0,75	1,42 ± 0,03	6,88 ± 0,34	23,95 ± 0,20	42,34 ± 1,12	42,27 ± 1,14

ANEXO A – Parecer consubstanciado da Comissão de Ética em Pesquisa

UNIVERSIDADE
TECNOLÓGICA FEDERAL DO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: VIABILIDADE DO USO DE EXTRATO DE CAFÉ COMO ANTIOXIDANTE NATURAL EM PRODUTO CÁRNEO CRU CURADO

Pesquisador: Marinês Paula Corso

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 29497820.9.0000.5547

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.913.717

Apresentação do Projeto:

De acordo com as pesquisadoras,

Resumo:

Carne in natura e produtos cárneos são amplamente consumidos em todo o mundo, principalmente devido ao seu alto valor nutricional, porém são altamente suscetíveis a mudanças oxidativas. Para retardar o processo oxidativo a indústria faz uso de antioxidantes, aditivos que possuem propriedades que prolongam o prazo de validade dos produtos alimentares. Os antioxidantes podem ser de origem sintética ou natural, mas devido ao crescente interesse dos consumidores por alimentos mais saudáveis, a demanda por diferentes alternativas naturais vem aumentando. O café é altamente consumido e produzido em todo o mundo e é rico em antioxidantes naturais, tornando-se assim uma possível opção a substituição do uso de antioxidantes sintéticos. A composição do extrato obtido é profundamente influenciada pelo método de extração e solvente utilizados. Desta forma, o presente projeto tem como objetivo avaliar a viabilidade do uso da extração assistida por ultrassom, de extratos do café, empregando água e etanol como solventes, otimizando o processo de obtenção por meio de um delineamento composto central rotacional e avaliar a viabilidade do uso de extratos de café como antioxidantes em produto cárneo cru curado, linguiça toscana. Serão utilizadas amostras das espécies *Coffea canephora* e *Coffea arabica* (verde e torra média). Será realizada a caracterização dos extratos de

Endereço: SETE DE SETEMBRO 3165

Bairro: CENTRO

UF: PR

Município: CURITIBA

CEP: 80.230-901

Telefone: (41)3310-4494

E-mail: coep@utpr.edu.br