

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**STHEFANIE OLIVEIRA DE MOURA**

**EXTRAÇÃO DE ANTIOXIDANTES DO CAFÉ VERDE (*Coffea canephora*) E  
APLICAÇÃO EM PRODUTOS CÁRNEOS COZIDOS**

**MEDIANEIRA**

**2023**

**STHEFANIE OLIVEIRA DE MOURA**

**EXTRAÇÃO DE ANTIOXIDANTES DO CAFÉ VERDE (*Coffea canephora*) E  
APLICAÇÃO EM PRODUTOS CÁRNEOS COZIDOS**

**Extraction of antioxidants from green coffee (*Coffea canephora*) and  
application in cooked meat products**

Trabalho de Dissertação apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador(a): Profa. Dra. Marinês Paula Corso  
Coorientador(a): Dra. Daneysa Lahis Kalschne

**MEDIANEIRA**

**2023**



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

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



STHEFANIE OLIVEIRA DE MOURA

**EXTRAÇÃO DE ANTIOXIDANTES DO CAFÉ VERDE (COFFEA CANEPHORA) E APLICAÇÃO EM  
PRODUTOS CÁRNEOS COZIDOS**

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

Data de aprovação: 27 de Março de 2023

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

Dra. Cristiane Canan, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dra. Josiane Alessandra Vignoli Camilios, Doutorado - Universidade Estadual de Londrina (UEL)

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 27/03/2023.

## **AGRADECIMENTOS**

Nesta etapa de crescimento pessoal gostaria de expressar minha gratidão aos que tornaram a caminhada deleitosa e sempre torceram para o meu sucesso.

Agradeço as minhas orientadoras Prof<sup>a</sup>. Dra. Marinês Paula Corso e Dra. Daneysa Lahis Kalschne, por compartilharem seus conhecimentos e me instruírem na vida acadêmica de forma tão generosa.

Aos Professores do PPGTA e colegas que fiz ao longo desses dois anos.

A coordenação, pela assistência.

Aos meus pais, que sempre se esforçaram e me incentivaram ao longo de todo meus anos de estudo, sacrificando muitas coisas, por reconhecerem que a educação tem o poder de mudar vidas.

Ao meu esposo e companheiro eterno Rafael Borcard, que sempre me apoiou em meus sonhos e abdicou de muitas coisas para que esse momento se tornasse real.

À CEANMED (Central Analítica do Campus Medianeira) e à LABCA (Central Analítica do Campus Toledo), que foram fundamentais para o desenvolvimento desse trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e da UTFPR (Edital PROPPG 07/2021 – PAPCDT), nossos agradecimentos.

Cultivem uma atitude de alegria. Cultivem um espírito de otimismo. Caminhem com fé, regozijando-se com as belezas da natureza, com a bondade dos que vocês amam e com o testemunho das coisas divinas em seu coração.  
(Gordon B. Hinckley, 1992).

## RESUMO

Os embutidos apresentam composição rica em proteínas, lipídios e ferro que os tornam passíveis de sofrerem oxidação, ocasionando alterações sensoriais negativas. Desse modo, os aditivos se tornaram aliados dos produtos processados. Porém, há hoje uma preocupação mundial com escolhas de alimentos considerados saudáveis, seguros e naturais. Além disso, o uso de conservantes sintéticos, como os antioxidantes, têm sido questionados, devido a estudos que indicam associação com desenvolvimento de doenças. Isso levou à pesquisa pelo uso de aditivos naturais. Nesse trabalho foi investigado a associação de diferentes solventes com as técnicas de EUA e shaker a fim de alcançar um extrato de *Coffea canephora* rico em antioxidantes. Foram testados 10 solventes (água, solução etanólica 34,2% (ET 34,2%)), e 8 solventes eutéticos naturais sintetizados com diferentes combinações entre cloreto de colina, ácido acético, ácido cítrico, ácido láctico e glicose), gerando 20 tratamentos. Dos 20 extratos, o etanólico (ET) 34,2% e água sob agitação proporcionaram os extratos com maior teor de fenólicos totais usando o método de Folin Ciocalteu e potencial antioxidante pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP, sendo observado extratos com atividade antioxidante estável mesmo extraídos de grãos de café verde armazenados sob congelamento por período de um ano. Os extratos selecionados foram aplicados no produto cárneo cozido linguiça tipo calabresa. As formulações se deram por meio da aplicação dos extratos aquoso e etanólico secos por atomização em proporções de 0,3% e 0,8% (EA 0,3%, EA 0,8% e EE 0,3% e EE 0,8%, respectivamente) e uma formulação padrão (P) (eritorbato de sódio 0,1%) para controle. As amostras foram analisadas quanto a composição química e aceitação sensorial pelo teste de escala hedônica e intenção de compra, cor, pH, atividade de água ( $A_w$ ) e estabilidade oxidativa pelo método TBARS (substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico) durante 60 dias (com intervalo de 15 dias) de armazenamento a  $21\text{ }^\circ\text{C} \pm 1$ . Não houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) na composição centesimal das amostras, estando todas de acordo com a legislação vigente. Durante o armazenamento as amostras diferiram significativamente ( $p \leq 0,05$ ) para cor, apresentando maiores valores de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  para a amostra P. Após 60 dias as formulações apresentaram pH entre 6,01 a 6,15, com exceção de EE 0,8%, que apresentou pH 5,58 ( $p \leq 0,05$ ). Todas as amostras apresentaram redução da  $A_w$  e diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) nos valores de TBARS, sendo EE 0,8% (0,09 mg/Kg) e EE 0,3% (0,12 mg/Kg) com menor oxidação lipídica, seguida das amostras EA 0,3% (0,21 mg/Kg), EA 0,8% (0,26 mg/Kg) e P (0,45 mg/Kg), mas todas dentro dos parâmetros recomendados para o produto. A média de aceitação na análise sensorial em escala de 9 pontos foi acima de 7 para todas as amostras ( $p \leq 0,05$ ). Portanto, a aplicação de extrato aquoso ou etanólico de café canéfora verde obtido de extração em shaker, secos por atomização, nas proporções de 0,3 a 0,8% são uma alternativa viável para a substituição de antioxidantes sintéticos em produto cárneo linguiça tipo calabresa, podendo se estender o uso a outros produtos cárneos cozidos de composição similar. O uso de solventes eutéticos profundos se mostraram promissores, no entanto podem ser explorados em outras composições e condições de extração a fim de se obter melhores resultados.

Palavras-chave: clean label; *Coffea canephora*; oxidação; embutidos; solventes eutéticos profundos.

## ABSTRACT

Sausages have a composition rich in proteins, lipids and iron that make them susceptible to oxidation, causing negative sensory changes. In this way, additives have become allies of processed products. However, today there is a worldwide concern with food choices considered healthy, safe and natural. In addition, the use of synthetic preservatives, such as antioxidants, has been questioned, due to studies that indicate an association with the development of diseases. This led to the search for the use of natural additives. In this work, the association of different solvents with the US and shaker techniques was investigated in order to achieve an extract of *Coffea canephora* rich in antioxidants. Ten solvents were tested (water, ethanolic solution 34.2% (ET 34.2%), and 8 natural eutectic solvents synthesized with different combinations of choline chloride, acetic acid, citric acid, lactic acid and glucose), generating 20 treatments. Of the 20 extracts, ethanol (ET) 34.2% and water under agitation provided the extracts with the highest total phenolic content using the Folin Ciocalteu method and antioxidant potential by the DPPH, ABTS and FRAP methods, with extracts with stable antioxidant activity being observed even extracted from green coffee beans stored under freezing for a period of one year. The selected extracts were applied to the cooked sausage meat product. The formulations were given through the application of spray-dried aqueous and ethanolic extracts in proportions of 0.3% and 0.8% (EA 0.3%, EA 0.8% and EE 0.3% and EE 0.8%, respectively) and a standard formulation (P) (0.1% sodium erythorbate) for control. The samples were analyzed for chemical composition and sensory acceptance by the hedonic scale test and purchase intention, color, pH, water activity ( $A_w$ ) and oxidative stability by the TBARS method (substances reactive to acid. 2-thiobarbituric acid) for 60 days (with an interval of 15 days) of storage at  $21\text{ }^\circ\text{C} \pm 1$ . There was no significant difference ( $p \leq 0.05$ ) in the centesimal composition of the samples, all of which were in accordance with current legislation. During storage, the samples differed significantly ( $p \leq 0.05$ ) for color, with higher values of  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  for the P sample. After 60 days, the formulations had a pH between 6.01 and 6.15, with exception of EE 0.8%, which presented pH 5.58 ( $p \leq 0.05$ ). All samples showed a reduction in  $A_w$  and a significant difference ( $p \leq 0.05$ ) in TBARS values, with EE 0.8% (0.09 mg/Kg) and EE 0.3% (0.12 mg / Kg) with lower lipid oxidation, followed by samples EA 0.3% (0.21 mg/Kg), EA 0.8% (0.26 mg/Kg) and P (0.45 mg/Kg), but all within the recommended parameters for the product. The average acceptance in the sensory analysis on a 9-point scale was above 7 for all samples ( $p \leq 0.05$ ). Therefore, the application of aqueous or ethanolic extract of green canephora coffee obtained from extraction in shaker, dried by spraying, in proportions of 0.3 to 0.8% are a viable alternative for the replacement of synthetic antioxidants in meat product pepperoni type sausage, the use of which may be extended to other cooked meat products of similar composition. The use of deep eutectic solvents showed promise; however, they can be explored in other compositions and extraction conditions in order to obtain better results.

Keywords: clean label; *coffea canephora*; oxidation; sausages; deep eutectic solvents.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 - Composição centesimal e conteúdo de colesterol e das principais vitaminas e minerais dos principais cortes de carne suína crua.....	18
Quadro 2 - Estudos com aplicação de extrato de café como estabilizante oxidativo em produtos cárneos .....	30
Figura 1 - Etapas do desenvolvimento experimental.....	39
Figura 2 - Etapas de elaboração das linguiças tipo calabresa.....	45
Figura 3 - Formulações de linguiça tipo calabresa após armazenamento de 60 dias a 21 °C .....	59
Figura 4 - Gráfico de oxidação lipídica das amostras de linguiça calabresa durante vida útil de 60 dias .....	62
Figura 5 - Gráfico em (%) de aceitação, indiferença e rejeição em relação a aceitação global e intenção de compra das formulações de linguiça tipo calabresa.....	64

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição dos solventes eutéticos profundos naturais (NADES) .....	41
Tabela 2 - Formulações de linguiça tipo calabresa com antioxidante eritorbato de sódio e testes com extrato etanólico e extrato aquoso de café verde .....	46
Tabela 3 - Parâmetros de cor e teor de umidade e cinzas de grãos de café verde frescos e armazenados por 1 ano sob congelamento .....	49
Tabela 4 - Comparação da atividade antioxidante de extratos de amostras frescas e armazenadas por um ano.....	50
Tabela 5 - Influência de diferentes tratamentos na extração de compostos fenólicos e capacidade antioxidante de grãos de café canéfora verdes.....	52
Tabela 6 - Comparativo da atividade antioxidante dos extratos aquoso e etanólico secos por spray dryer de café canéfora verde e do antioxidante sintético (Eritorbato de sódio) .....	55
Tabela 7 - Composição centesimal (base úmida) das amostras de linguiça tipo calabresa elaboradas com antioxidante sintético e extratos aquoso e etanólico de café canéfora verde .....	56
Tabela 8 - Medidas de cor (L*, a* e b*) externa e interna das amostras de linguiça tipo calabresa durante 60 dias de armazenamento a 21 °C.....	57
Tabela 9 - Valores de pH para as linguiças tipo calabresa com extrato de café verde e com eritorbato de sódio durante 60 dias armazenadas a 21 °C ± 1 .....	59
Tabela 10 - Valores de atividade de água (Aw) para as linguiças tipo calabresa com extrato de café verde e com eritorbato de sódio durante a vida útil de 60 dias .....	60
Tabela 11 - Teor de oxidação lipídica das amostras de linguiça tipo calabresa durante vida útil de 60 dias .....	61
Tabela 12 - Qualidade microbiológicas das formulações de linguiça tipo calabresa.....	63
Tabela 13 - Resultados da análise sensorial para as 5 formulações de linguiça calabresa.....	64

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

[Ch]Cl	Cloreto de colina
AA	Ácido acético
ABTS	2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico
AC	Ácido cítrico
AL	Ácido láctico
Aw	Atividade de água
b.s	Base seca
b.u	Base úmida
BOD	Demanda Bioquímica de Oxigênio
CA	<i>Coffea arabica verde</i>
CC	<i>Coffea canephora verde</i>
DPPH	(2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)
EA 0,3%	Linguiça calabresa (0,3% extrato aquoso seco de café canéfora)
EA 0,8%	Linguiça calabresa (0,8% extrato aquoso seco de café canéfora)
EAG	Equivalente ao Ácido Gálico
EAT	Equivalente Trolox
EE 0,3%	Linguiça calabresa (0,3% extrato etanólico seco de café canéfora)
EE 0,8%	Linguiça calabresa (0,8% extrato etanólico seco de café canéfora)
Eq.	Equivalente
ET 34,2%	Solução etanólica a 34,2%
EUA	Ultrassom
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
FT	Fenólicos totais
G	Glicose
HBA	Receptor de hidrogênio
HBD	Doador de hidrogênio
IN	Instrução normativa
MA	Malonaldeído
NADES	Solventes Eutéticos Naturais Profundos
P	Linguiça calabresa padrão (0,1% de eritorbato de sódio)
ROS	Substâncias Reativas ao Oxigênio
TBA	Ácido Tiobarbitúrico
TBARS	Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
TEP	1,1,3,3-tetraetoxipropano
TPTZ	2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná
UV	Ultra Violeta
Vis	Visível

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>15</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral</b> .....	<b>15</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	<b>15</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>17</b>
<b>3.1</b>	<b>Carne suína</b> .....	<b>17</b>
3.1.1	Características da Carne Suína.....	18
3.1.2	Linguiça Calabresa.....	19
<b>3.2</b>	<b>Oxidação em carnes</b> .....	<b>21</b>
3.2.1	Oxidação lipídica .....	21
3.2.2	Oxidação proteica.....	22
3.2.3	Métodos de detecção de oxidação em alimentos.....	23
<b>3.3</b>	<b>Antioxidantes</b> .....	<b>24</b>
3.3.1	Antioxidantes sintéticos .....	25
3.3.2	Antioxidantes naturais .....	26
<b>3.4</b>	<b>Café</b> .....	<b>27</b>
3.4.1	Compostos bioativos do café verde.....	29
<b>3.5</b>	<b>Extração de antioxidantes naturais</b> .....	<b>30</b>
3.5.1	Solventes.....	32
3.5.2	Solventes eutéticos profundos naturais (NADES) .....	32
3.5.3	Equipamentos que auxiliam a extração de compostos antioxidantes de matéria vegetal.....	34
<b>3.6</b>	<b>Verificação do teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante</b> .	<b>35</b>
3.6.1	Método Folin-Ciocalteu.....	35
3.6.2	Método DPPH.....	36
3.6.3	Atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS•+ .....	36
3.6.4	Método FRAP .....	37
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>39</b>
<b>4.1</b>	<b>Caracterização das amostras de café</b> .....	<b>39</b>
<b>4.2</b>	<b>Síntese dos solvente eutéticos profundos naturais (NADES)</b> .....	<b>40</b>
<b>4.3</b>	<b>Extração de compostos bioativos de <i>Coffea canephora</i> assistido por banho ultrassônico ou agitação constante</b> .....	<b>41</b>
<b>4.4</b>	<b>Determinação da capacidade antioxidante <i>in vitro</i> dos extratos</b> .....	<b>41</b>

4.4.1	Preparo das amostras para avaliação do teor de fenólicos e atividade antioxidante .....	41
4.4.1.1	<u>Teor de fenólicos totais .....</u>	<u>42</u>
4.4.1.2	<u>Método DPPH.....</u>	<u>42</u>
4.4.1.3	<u>Atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS•+ .....</u>	<u>43</u>
4.4.1.4	<u>A Atividade antioxidante pela redução do íon férrico (FRAP).....</u>	<u>43</u>
4.4.1.5	<u>Tratamento estatístico dos dados.....</u>	<u>44</u>
<b>4.5</b>	<b>Secagem dos extratos de <i>Coffea Canephora</i> em <i>Spray Dryer</i> .....</b>	<b>44</b>
<b>4.6</b>	<b>Elaboração de linguiça tipo calabresa com aplicação do extrato de café seco como antioxidante natural .....</b>	<b>45</b>
4.6.1	Composição centesimal das linguiças tipo calabresa.....	46
4.6.2	Medida instrumental de cor, pH e atividade de água (Aw) .....	46
4.6.3	Verificação da oxidação lipídica pelo método TBARS.....	47
4.6.4	Análise microbiológica das formulações das linguiças tipo calabresa ....	47
4.6.5	Análise sensorial .....	48
4.6.6	Tratamento estatístico dos dados.....	48
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>49</b>
<b>5.1</b>	<b>Caracterização da amostra e avaliação do impacto do armazenamento dos grãos de café verde sob congelamento na atividade antioxidante dos extratos de café.....</b>	<b>49</b>
<b>5.2</b>	<b>Avaliação da capacidade antioxidante <i>in vitro</i> de extratos de café verde obtidos em diferentes condições de extração .....</b>	<b>51</b>
<b>5.3</b>	<b>Comparação da atividade antioxidante dos extratos de <i>Coffea canephora</i> e antioxidante comercial .....</b>	<b>55</b>
5.3.1	Composição centesimal .....	56
5.3.2	Medida instrumental de cor, pH e atividade de água (Aw) .....	56
5.3.3	Medida de oxidação lipídica (TBARS).....	61
5.3.4	Análise sensorial das formulações de linguiça calabresa.....	63
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>66</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>67</b>
	<b>APÊNDICE A – FICHA UTILIZADA NA ANÁLISE SENSORIAL DE LINGUIÇA TIPO CALABRESA .....</b>	<b>76</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O consumo de proteína animal vem aumentando globalmente e espera-se que esse crescimento continue, especialmente na Ásia. Esse crescimento é resultante de uma combinação de renda e crescimento populacional, especialmente em países asiáticos e latino-americanos com grandes classes médias. De modo geral, os níveis de consumo nas regiões desenvolvidas já são altos, mas a demanda por carne continua aumentando à medida que a carne se torna mais acessível em alguns países (USDA, 2023). No geral, a carne e seus derivados são altamente perecíveis, fazendo-se necessário o uso de aditivos para mantê-los seguros por mais tempo. Conforme explicam Honorato *et al.* (2013), os avanços conquistados pela indústria química trouxeram inúmeros benefícios nesse sentido para a indústria alimentícia, que passou a contar com um número elevado de aditivos de grau alimentício, capazes de manter a qualidade inicial dos alimentos por longo período de armazenagem.

Destaca-se a utilização de aditivos com atividade antioxidante, que é a capacidade de um composto inibir a degradação oxidativa (POLJSAK; KOVAČ; MILISAV, 2021), considerando que a oxidação é uma das principais causas de deterioração da carne (BOEIRA *et al.*, 2020). Entre os compostos antioxidantes, tem-se os naturais e os sintéticos, sendo estes últimos os mais utilizados e de maior aproveitamento, devido à acessibilidade e estabilidade (BOEIRA *et al.*, 2020).

O uso de antioxidantes sintéticos é uma prática comum quando se refere a produtos de origem animal (HONORATO *et al.*, 2013; OSWELL; THIPPAREDDI; PEGG, 2018). Contudo, seu uso tem sido alvo de grandes preocupações em relação à segurança, pois estudos têm apontado a possibilidade de atividades tóxicas para saúde do consumidor, como efeitos mutagênicos e carcinogênicos (BOEIRA *et al.*, 2020).

Por conta disso, o uso dessas substâncias sintéticas tem sido questionado e, inclusive, em alguns países seu uso já foi restringido. Conseqüentemente, a pesquisa por novos antioxidantes mais seguros e, preferencialmente, naturais, que possam ser usados para substituir os produtos químicos artificiais, é um importante avanço para a indústria de alimentos (GREMSKI *et al.*, 2019). Entre os estudos tem sido explorada a possibilidade do desenvolvimento de antioxidantes naturais para utilização em produtos cárneos, principalmente nos embutidos, em substituição aos sintéticos (DE OLIVEIRA *et al.*, 2018).

Vários ingredientes de origem vegetal, como especiarias, frutas e resíduos da indústria de alimentos têm sido avaliados como potenciais aditivos alimentares. Em produtos alimentícios, os extratos vegetais são utilizados principalmente na tentativa de prevenir a oxidação de lipídios e proteínas e/ou inibir o crescimento bacteriano e de leveduras, no intuito de proporcionar proteção contra sua deterioração (BOTSARIS *et al.*, 2015). Seus efeitos antioxidantes e antimicrobianos têm sido principalmente correlacionados com seu alto conteúdo fenólico, mas também os fitoquímicos puros como ácidos fenólicos, flavonoides, diterpenos e tocoferóis têm sido testados como aditivos naturais em produtos cárneos. E embora o café seja reconhecidamente rico em polifenóis, poucos estudos abordam suas propriedades antioxidantes incorporadas a outros alimentos (FALOWO; FAYEMI; MUCHENJE, 2014; TOMOVIĆ *et al.*, 2017).

O grão de café é a semente produzida pelo fruto maduro do cafeeiro, é uma das *commodities* agropecuárias mais importantes, sendo a segunda bebida mais consumida em todo mundo. As espécies mais cultivadas são *Coffea canephora* (Robusta) e *Coffea arabica* (Arábica), apesar do arábica ser responsável por 60% de toda produção mundial a variedade robusta possui maiores teores de ácidos clorogênicos e cafeína (ITC, 2011; PAIVA *et al.*, 2018; SCHOUTEN *et al.*, 2021). O café se destaca devido à variedade de bioativos presentes em sua composição, entre esses componentes muitos são classificados como fenólicos, como exemplo os ácidos clorogênicos e ácido cafeico, responsáveis por exercer atividade antioxidante, inibindo a reação em cadeia dos radicais livres. Outros metabolitos secundários do café também são descritos como inibidores do processo oxidativo (CASTRO *et al.*, 2018).

Contudo o processo de torra, no qual o café é submetido industrialmente confere mudanças em sua composição devido a reação de Maillard formando melanoidinas, responsáveis pela coloração escura, aroma e sabor característico da bebida, embora essa substância contenha propriedades redutoras da oxidação, no geral a torrefação reduz significativamente o teor de ácidos clorogênicos diminuindo a capacidade antioxidante no geral. Além disso o café verde apresenta maior viabilidade para incorporação em alimentos, com menor alteração dos aspectos sensoriais (BUDRYN; NEBESNY, 2012; OPITZ *et al.*, 2017). Fetsch (2021) obtiveram resultados positivos em relação a estabilidade oxidativa e aceitação sensorial na aplicação de extrato de café verde em produto cárneo cru linguiça tipo toscana.

Existem várias técnicas de extração utilizadas para recuperar compostos antioxidantes de fontes naturais e orgânicas. Para obtenção de extrato de café, existem vários estudos buscando otimizar a extração de antioxidantes, como por exemplo a extração com o emprego de EUA (SEVERINI; DEROSI; FIORE, 2017; FETSCH, 2021). Entre os métodos de extração de compostos bioativos em geral, os tratamentos com água quente e solventes orgânicos como etanol, muitas vezes com diferentes proporções de água, são considerados mais seguros e, por isso, são as técnicas de extração mais utilizadas (KIM *et al.*, 2016, DABETIĆ *et al.*, 2020). No entanto, há preocupação, devido alguns solventes orgânicos serem inflamáveis, pouco biodegradáveis, tóxicos e voláteis (DABETIĆ *et al.*, 2020). Na busca por soluções, a extração verde surgiu como uma das questões-chave na pesquisa e desenvolvimento científico e industrial, originando uma nova geração de solventes, denominada de solventes eutéticos profundos (CHANIOTI; TZIA, 2018). Geralmente são compostos por uma mistura de dois componentes baratos e seguros: um aceptor de ligação de hidrogênio, geralmente cloreto de colina, e um doador de ligação de hidrogênio, como aminoácidos, ácidos carboxílicos, açúcares, entre outros, em estado sólido. Tais componentes formam uma mistura eutética com ponto de fusão inferior ao de cada componente individual (CHANOTI; TZIA, 2018), sendo que alguns estudos mostram que solventes eutéticos à base de cloreto de colina demonstraram ter alta capacidade estabilizadora para compostos fenólicos (DABETIĆ *et al.*, 2020).

Portanto, considerando a necessidade do desenvolvimento de soluções para atender a demanda dos consumidores por produtos mais saudáveis, a indústria cárnea busca substituir os aditivos sintéticos, em especial os antioxidantes, por antioxidantes naturais efetivos. Desta forma, estudos que contribuam para a otimização das condições ideais de obtenção de extratos ricos em compostos bioativos do café, para futura aplicação em produtos alimentícios são importantes para a inovação deste setor.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Avaliar a eficiência de diferentes solventes na capacidade de extração de compostos antioxidantes do *Coffea canephora* verde para posterior aplicação em produto cárneo cozido e verificar o impacto sensorial no produto e efeito antioxidante dos mesmos durante a vida útil.

### 2.2 Objetivos específicos

- Analisar as amostras de *Coffea canephora* e *Coffea arabica* e caracterizar, avaliando o percentual de umidade, cinzas, cor e padronização granulométrica para posterior extração;
- Avaliar a estabilidade dos grãos de *Coffea canephora* sob congelamento a -18 °C por 1 ano, em relação a capacidade antioxidante dos extratos obtidos;
- Comparar a extração dos grãos de *Coffea canephora*, assistida por banho ultrassónico ou agitação constante em diferentes solventes, tais como água, solução etanólica e solventes eutéticos profundos naturais;
- Determinar o teor de fenólicos totais pelos métodos de Folin-Ciocalteu, dos extratos líquidos;
- Determinar a atividade antioxidante pelos métodos ABTS+, DPPH e FRAP dos extratos líquidos;
- Secar os extratos mais promissores por atomização e avaliar o extrato seco quanto ao conteúdo de compostos bioativos e atividade antioxidante
- Avaliar a atividade antioxidante dos extratos secos obtidos em comparação com antioxidante sintético (Eritorbato de sódio);
- Elaborar produto cárneo cozido linguiça tipo calabresa com antioxidante do extrato de café verde e antioxidante sintético (eritorbato de sódio) para comparação;
- Analisar a composição centesimal das amostras (proteína, extrato etéreo, carboidratos, cinzas e umidade) e avaliar a qualidade microbiológica das amostras conforme legislação vigente para linguiça calabresa;
- Avaliar nos produtos elaborados o efeito dos extratos de café empregados sobre as características de cor (parâmetros L\*, a\* e b\*), pH e Aw durante vida útil;

- Avaliar a oxidação lipídica através das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) durante a vida útil dos produtos;
- Avaliar sensorialmente as diferentes formulações utilizando escala hedônica estruturada e intenção de compra.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Carne suína

A indústria suinícola brasileira vem se superando ano após ano, com seus índices técnicos conquistando taxas continuamente melhores. A suinocultura nacional conquistou uma posição expressiva no comércio internacional, tanto do ponto de vista econômico, quanto em relação ao desenvolvimento social atribuído à cadeia produtiva. É importante ressaltar que este esforço não teria resultado em desenvolvimento econômico e social se não estivesse associado aos avanços significativos na saúde animal, que permitissem oferecer ao mercado as garantias exigidas pelos países importadores, que é o que garante a credibilidade dos produtos no mercado internacional (ANUNCIATO; PAES, 2016; USDA, 2023).

Dados da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 2022), baseados em informações da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA) de 2021, indicam que o Brasil possuía, em 2020, 1.970.611 matrizes alojadas, com 4.436 milhões de toneladas de carne suína produzidas (ocupando o 4º lugar mundial). Esses dados apontam um aumento de 11,37% na produção nacional em relação a 2019. Do total da produção, 77% se destinam ao mercado interno (consumo de 16 kg de carne per capita) e 23% à exportação, o que representa 1.024 milhão de toneladas exportadas (4º lugar mundial). Em comparação com o ano anterior, houve 36,53% de aumento na exportação (EMBRAPA, 2022).

Mesmo que o Brasil esteja expandindo a produção de carne suína, seu consumo interno é muito baixo quando comparado a outros países como China e EUA (ITO; GUIMARÃES; AMARAL, 2016). Ou seja, apesar de a carne suína ser a mais consumida no mundo, no Brasil seu consumo perde para as carnes bovina e de frango, ainda que a produção brasileira desta carne seja majoritariamente para consumo interno (ITO; GUIMARÃES; AMARAL, 2016).

Atribui-se o fato por existirem alguns mitos no país, sobre a carne suína, ainda a serem quebrado, como a associação da carne suína a uma fonte de proteína extremamente gordurosa, mas é evidente que a carne consumida no passado não apresenta as mesmas características das produzida hoje (ANUNCIATO; PAES, 2016). Para que a suinocultura brasileira se desenvolvesse, produtores e especialistas investiram na evolução genética dos suínos nas duas últimas décadas, o que promoveu uma redução de 31% da gordura da carne, 10% do colesterol e 14% de

calorias, tornando a carne suína brasileira mais magra e nutritiva (ANUNCIATO; PAES, 2016).

### 3.1.1 Características da Carne Suína

A carne suína possui composição variável conforme o corte ou músculo, principalmente quanto ao conteúdo de gordura e proteína (Quadro 1). Por exemplo, os principais cortes sem gordura de cobertura possuem teor de proteína acima de 18%, baixa quantidade de gordura e conteúdo de energia e de colesterol bastante reduzidos. Esses fatores colocam a carne suína como uma importante fonte de proteína para alimentação humana. Em geral, a relação proteína: água na carne suína é igual ou menor a 0,3, sofrendo variações conforme o conteúdo de gordura da carne. Da mesma forma, seu conteúdo de colesterol varia de 60 (nos cortes mais magros) a 80mg (em cortes mais gordos) de colesterol/100 g de carne (BERTOL; OLIVEIRA; SANTOS FILHO, 2019).

**Quadro 1- Composição centesimal e conteúdo de colesterol e das principais vitaminas e minerais dos principais cortes de carne suína crua**

Nutriente	Corte <sup>1</sup>					
	Paleta (10072)	Pernil (10010)	Lombo (10040)	Filé mignon (10060)	Paleta, parte superior (10084)	Ponta da costela (10088)
Água (%)	72,63	72,90	73,62	76,00	74,31	59,75
Proteína (%)	19,55	20,48	21,99	20,95	18,73	15,47
Gordura (%)	7,14	5,41	3,71	2,17	5,71	23,40
Energia (cal/100 g)	148	136	127	109	131	277
Colesterol (mg/100 g)	67	68	69	65	60	80
Vitamina B1 - tiamina (mg/100 g)	0,884	0,875	0,510	0,998	0,558	0,319
Vitamina B2 - riboflavina (mg/100 g)	0,314	0,228	0,198	0,342	0,384	0,251
Niacina (mg/100 g)	4,275	5,338	6,934	6,684	4,387	4,662
Vitamina B6 - piridoxina (mg/100 g)	0,415	0,500	0,742	0,777	0,521	0,574
Vitamina B12 (µg/100 g)	0,84	0,71	0,50	0,51	0,91	0,38
P (mg/100 g)	202	229	220	247	202	141
K (mg/100 g)	341	369	362	399	339	242
Fe (mg/100 g)	1,22	1,01	0,65	0,98	1,20	0,91
Zn (mg/100 g)	3,14	2,27	1,86	1,89	3,36	2,50
Na (mg/100 g)	76	55	58	53	65	81

<sup>1</sup> Corte sem gordura, exceto para a ponta da costela.

Fonte: USDA (2018 *apud* BERTOL; OLIVEIRA; SANTOS FILHO, 2019)

Segundo Bertol, Oliveira e Santos Filho (2019), conforme as recomendações dietéticas da American Heart Association, o consumo de colesterol deve estar abaixo de 300 mg/dia. Tendo como base esse parâmetro, o consumo de 100 g de carne suína representa 20% a 27% deste valor. No geral, a gordura suína possui alta proporção

de ácidos graxos monoinsaturados, tendo como principal representante o ácido oleico, seguido pelos ácidos graxos saturados e, por último, em menor proporção, estão poli-insaturados, predominantemente do tipo ômega-6. O conteúdo de carboidratos da carne suína é muito baixo, assim como o de minerais, sendo a soma de ambos ao redor de 1% do total. Em relação a composição de minerais é considerada importante fonte de zinco (Zn), selênio (Se), fósforo (P), potássio (K), ferro (Fe) e sódio (Na). A carne suína é uma importante fonte de vitaminas do complexo B, sendo uma das principais fontes de tiamina (B1), além de ótima fonte de vitamina B<sub>6</sub> e conter vitamina E, embora possa ocorrer variação no conteúdo destes nutrientes em razão dos cortes provenientes de diferentes animais e cocção, dependendo da temperatura, mas em geral a retenção é maior do que 50%. Segundo a *National Nutrient Database for Standard Reference* (USDA, 2018), a carne suína também é importante fonte de vitaminas B<sub>2</sub>, B<sub>12</sub> e niacina.

Por sua qualidade nutricional e sabor agradável, a carne suína pode ser utilizada de variadas formas, inclusive para fabricação de embutidos, como é o caso das linguiças. A técnica de produção de embutidos veio para o Brasil trazida principalmente por migrantes italianos e portugueses, que a trouxeram com o intuito de conservar as carnes em ambientes onde não existia a possibilidade de refrigeração por longos períodos (SCHWERT, 2009).

### 3.1.2Linguiça Calabresa

Devido a formulação da linguiça calabresa, ela não pode ser considerada como um produto autêntico italiano. Pelo contrário, na verdade, trata-se de um patrimônio nacional do Brasil, ao ponto de ser reconhecida pelo Ministério de Agricultura na Instrução Normativa (IN) n° 4/2000 como um produto brasileiro. A IN n° 4/2000 define Linguiça Calabresa da seguinte forma:

É o produto obtido exclusivamente de carnes suína, curado, adicionado de ingredientes, devendo ter o sabor picante característico da pimenta calabresa submetidas ou não ao processo de estufagem ou similar para desidratação e ou cozimento, sendo o processo de defumação opcional (BRASIL, 2000, *online*).

Trata-se de um produto versátil que pode ser consumido como prato principal ou como acompanhamento de outras preparações. É um produto cárneo que rende bastante e geralmente possui preços acessíveis para toda a população. Uma

característica importante é que ela pode ser facilmente armazenada, não necessitando de manutenção em refrigeradores, podendo durar alguns dias sem refrigeração (SAVOLDI *et al.*, 2021).

A IN nº 4/2000 também define que, para as linguiças submetida ao processo de cozimento, será permitido a utilização de até 20% de Carne Mecanicamente Separada (CMS), desde que venha declarado no rótulo, de forma clara para o consumidor, a expressão “carne mecanicamente separada de (nome da espécie animal)”, além da obrigatoriedade de constar na relação de ingredientes a expressão “contém CMS (espécie animal)” ou “com CMS (espécie animal)” (BRASIL, 2000). Além disso, a CMS utilizada poderá ser substituída por carne de diferentes espécies de animais de açougue, até o limite máximo de 20% (BRASIL, 2000).

Sobre a composição de fabricação, a IN nº 4/2000 determina que, além dos ingredientes obrigatórios (que são a carne suína e a pimenta calabresa), são permitidos ingredientes opcionais, como: gordura; água; proteína animal; açúcares; plasma; aditivos intencionais; aromas, especiarias e condimentos. No entanto, não permite a adição de proteínas não cárnicas, como proteína agregada (BRASIL, 2000).

Cabe ressaltar que carnes e seus derivados, como as linguiças, são fontes de proteínas de alto valor biológico, lipídios, vitaminas e sais minerais. Especialmente os lipídios desempenham um papel importante na qualidade dos alimentos, pois contribuem para importantes propriedades sensoriais, como aroma, sabor, suculência e valor nutricional (SAVOLDI *et al.*, 2021). Sendo permitido até 35% de gordura em linguiças cozidas como a calabresa (BRASIL, 2000). No entanto, produtos com alto teor de lipídios são altamente suscetíveis a reações oxidativas. Isto é particularmente verdadeiro para carnes frescas e produtos derivados, dado seu alto teor de ácidos graxos poli-insaturados e substâncias pró-oxidantes, como íons de ferro, bem como os métodos de processamento aos quais os produtos são submetidos, incluindo cominuição e cozimento, que podem favorecer a rancificação oxidativa. As reações oxidativas reduzem o valor nutricional dos alimentos ao degradarem as vitaminas lipossolúveis e os ácidos graxos essenciais, como resultado formam-se compostos desagradáveis e potencialmente tóxicos, afetando a integridade e a vida útil dos alimentos. Além disso também podem oxidar proteínas e pigmentos alterando suas propriedades tecnológicas (SAVOLDI *et al.*, 2021).

## 3.2 Oxidação em carnes

O sabor intenso da carne é muito apreciado por seus consumidores, sendo este gerado durante o processo de cozimento por meio de uma série complexa de reações químicas entre precursores, produtos de reação intermediários e produtos de degradação. O conteúdo e a natureza dos precursores presentes na carne são afetados por vários fatores, incluindo genética, alimentação, manejo dos animais vivos e posterior manuseio da carne, no qual se inclui a oxidação (AASLYNG; MEINERT, 2017).

### 3.2.1 Oxidação lipídica

Os lipídios são quimicamente instáveis e propensos a oxidação, especialmente durante o manuseio após o abate e estocagem dos produtos cárneos (LEÃO *et al.*, 2017). A auto-oxidação de lipídios e a geração de radicais livres são fenômenos naturais em sistemas biológicos e alimentares, podendo ser catalisados por fatores ambientais e/ou pela presença de metais, enzimas e pigmentos. No entanto, a presença de ligações duplas favorece a oxidação lipídica devido à sua alta reatividade e menor estabilidade e resistência química, o que afeta fortemente os produtos contendo alto teor de ácidos graxos insaturados, em especial os ômega 3. A oxidação lipídica provoca a modificação tanto das características sensoriais quanto da vida útil dos produtos cárneos (BERNARDI *et al.*, 2016).

Ocorre principalmente devido a um mecanismo autocatalítico dos radicais livres, denominado de auto-oxidação, que possui três fases: iniciação, propagação e terminação. Na fase de iniciação a reação produz o radical alquil do ácido graxo que, por sua vez, na fase de propagação, reage com o oxigênio para formar radicais peróxidos. Os radicais peróxidos reagem com ácidos graxos insaturados e formam hidroperóxidos, que posteriormente se decompõem para produzir novos radicais livre e propagar a reação. Em um determinado momento, a interação dos radicais alquil e peróxil levam à formação de produtos como aldeídos, alcanos e dienos conjugados, compostos estes voláteis que dão à carne um sabor indesejado e odor rançoso. Portanto, a oxidação lipídica pode ser descrita como uma deterioração dependente de oxigênio e de ácidos graxos insaturados, sendo um processo que resulta em odor rançoso, sabor indesejado, perda de valor nutritivo, diminuição da vida de prateleira e

acúmulo de compostos tóxicos, que podem ser prejudiciais à saúde dos consumidores (LEÃO *et al.*, 2017).

### 3.2.2 Oxidação proteica

A oxidação de proteínas é definida como a modificação covalente de uma proteína induzida por reações diretas com espécies reativas de oxigênio (ROS) ou reações indiretas com subprodutos secundários do estresse oxidativo. As ROS podem causar oxidação em cadeias laterais de aminoácidos e cadeias de proteínas, resultando em fragmentação de proteínas ou ligações cruzadas proteína-proteína. Embora todos os aminoácidos possam ser modificados por ROS, cisteína e metionina são os mais suscetíveis a alterações oxidativas devido à alta suscetibilidade de reação do grupo enxofre nesses aminoácidos (ZHANG; XIAO; AHN, 2013).

Essa oxidação está relacionada com a presença de altas concentrações de pigmentos heme, lipídios oxidáveis, íons de metais de transição e enzimas oxidativas no músculo. Essas reações de oxidação podem resultar na formação de carbonilas (aldeídos e cetonas), polímeros de proteínas e cisões peptídicas. Entre esses fatores, a formação de carbonilas é uma das mudanças mais importantes, sendo o conteúdo dessas carbonilas amplamente utilizado como marcador de danos à proteína. Os danos pós-abate às proteínas podem levar a mudanças funcionais, incluindo habilidade de formar géis, capacidade de emulsificação, solubilidade, viscosidade e capacidade de retenção de água, que podem afetar significativamente a qualidade da carne e seus subprodutos (LEÃO *et al.*, 2017).

O estresse oxidativo ocorre quando a formação de oxidantes excede a capacidade dos sistemas antioxidantes de remover as ROS nos organismos. Modificações oxidativas de proteínas podem alterar suas propriedades físicas e químicas, incluindo conformação, estrutura, solubilidade, suscetibilidade à proteólise e atividades. Essas modificações podem estar envolvidas na regulação da qualidade da carne fresca e influenciar nas propriedades de processamento de produtos cárneos. Inclusive, níveis aumentados de oxidação de proteínas têm sido associados a várias consequências biológicas, incluindo doenças e envelhecimento, em humanos e outras espécies animais (ZHANG; XIAO; AHN, 2013).

### 3.2.3 Métodos de detecção de oxidação em alimentos

Existem alguns métodos para detectar a oxidação em alimentos. Um deles é por meio da determinação da oxidação de moléculas. Para isso, foram desenvolvidas uma variedade de métodos para medir a atividade dos radicais livres sobre moléculas do organismo, como as proteínas, os ácidos nucleicos e os lipídeos. Em técnicas de determinação *in vitro* da oxidação lipídica, os substratos lipídicos são diversos: ácido linoleico, ésteres metílicos dos ácidos graxos e a LDL, além dos lipossomos. A oxidação pode ser iniciada pela adição de íons metálicos ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ), de AAPH [2,2-azobis(aminopropano) diidroclorido], de peróxido de hidrogênio, ou ainda pela aplicação de calor (SUCUPIRA *et al.*, 2012).

Segundo Silva, Borges e Ferreira (1999), outros métodos que podem ser citados são os que fazem análise dos substratos da oxidação, como os métodos de absorção de oxigênio, que têm por base o fato de a oxidação se traduzir em um consumo mensurável de oxigênio atmosférico, podendo ser manométricos, polarográficos, ponderais ou cromatográficos, como os seguintes: Teste de Sylvester; Ensaio com bomba de oxigênio; Oxigrafia com sistema polarográfico; Método de pesagem; e Método cromatográfico.

Há, também, a análise dos produtos primários de oxidação, como os peróxidos. Para medi-los, utiliza-se a determinação do índice de peróxidos (IP), que representa a diferença entre a formação e a decomposição de peróxidos, e exprime-se em milimoles de oxigênio ativo por kg de matéria graxa, havendo diferentes técnicas para isso, como: Método iodométrico de Lea, Método colorimétrico, Método do Oxigênio Ativo (AOM) ou teste de Swift, Teste de estufa de Schaal, Calorimetria diferencial, e Quimiluminescência (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

Outra medição pode ser feita em razão da análise dos produtos secundários de oxidação, partindo-se da premissa que os peróxidos são intermediários instáveis, especialmente quando expostos a temperaturas elevadas ou em presença de metais de transição. Ao se decomporem, produzem compostos de natureza muito diversa, entre eles: aldeídos, cetonas, hidroxiácidos, hidrocarbonetos e polímeros, os quais são genericamente designados produtos secundários da oxidação. Em sua medição pode-se utilizar o método de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), Índice de p-Anisidina (IpA), Teste de Kreis ou Índice de ranço, Índice de Carbonilo, combinação da cromatografia gasosa com a espectroscopia de massa (CG/EM), CG

de injeção direta ou por headspace, termólise, aparelhos Rancimat (Metrohm) e OSI (Oxidative Stability Instrument) (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

A oxidação lipídica em produtos cárneos é comumente medida pelo método de TBARS, com o princípio baseado no fato de que os produtos da oxidação primária consistem principalmente em hidroperóxidos, que são rapidamente decompostos em várias substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, particularmente carbonilas, sendo o malondialdeído (MDA) o elemento mais importante (BERNARDI *et al.*, 2016). O ensaio envolve a reação de produtos da peroxidação lipídica, principalmente MDA, com ácido tiobarbitúrico (TBA), que leva à formação de produtos de MDA-TBA<sub>2</sub> chamados TBARS. O TBARS produz uma cor vermelho-rosa que pode ser medida espectrofotometricamente em 532 nm (DE LEON; BORGES, 2020).

Por fim, outros métodos que podem ser citados são: (1) Cromatografia líquida de alta resolução (HPLC): permite medir separadamente peróxidos, hidroperóxidos e produtos secundários de oxidação; (2) Espectrofotometria no IV: utilizada na avaliação do ranço, desempenhando um papel particularmente importante no reconhecimento de grupos funcionais não característicos e de compostos contendo duplas ligações com configuração *trans*; (3) Fluorimetria: usada para a detecção de produtos resultantes da oxidação lipídica contendo grupos NH<sub>2</sub> livres (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

Para evitar a oxidação dos alimentos, pode se fazer uso de antioxidantes. Inclusive, há um interesse crescente neles, devido ao seu papel protetor em alimentos e produtos farmacêuticos contra a deterioração oxidativa e contra processos patológicos mediados pelo estresse oxidativo no corpo (GULCIN, 2020).

### **3.3 Antioxidantes**

Em termos de alimentos, um antioxidante inicialmente foi definido como qualquer substância que, quando presente em baixas concentrações em comparação com a de um substrato oxidável, retarda ou inibe significativamente a oxidação desse substrato. Atualmente, pode ser definido como qualquer substância que atrasa, previne ou remove o dano oxidativo a uma molécula alvo. É uma substância que elimina diretamente ROS ou atua indiretamente para regular as defesas antioxidantes ou inibir a produção de ROS (GULCIN, 2020).

Antioxidantes são úteis na redução da oxidação de proteínas e lipídios, bem como na interação de carbonilas derivadas de lipídios com proteínas que levam a uma

alteração da função da proteína (SINDHI *et al.*, 2013). Em sistemas alimentares, conseguir retardar a oxidação lipídica e a formação de produtos de oxidação lipídica secundária é importante, o que pode ser evitado pelo uso de moléculas antioxidantes nutricionais, ajudando assim a manter o sabor, a cor e a textura do produto alimentício durante o armazenamento (ÇAKMAKÇI *et al.*, 2015).

Sendo assim, os antioxidantes desempenham um papel vital tanto nos sistemas alimentares quanto no corpo humano para reduzir os processos oxidativos e os efeitos nocivos das ROS. Atuam por diferentes vias retardando o processo de peroxidação lipídica, principais razões para a deterioração de alimentos durante o processamento e armazenamento. Devido aos seus benefícios, tornaram-se um grupo indispensável de aditivos alimentares principalmente em razão de suas propriedades únicas de prolongar a vida de prateleira dos produtos alimentares sem causar efeito adverso nas suas qualidades sensoriais ou nutricionais (GULCIN, 2020).

Os antioxidantes para uso em sistemas alimentares podem ser sintéticos ou naturais, mas devem apresentar certas características, como: serem economicamente viáveis; eficazes; não tóxicos em baixas concentrações; altamente estáveis e capazes de sobreviver ao processamento; não possuírem odor, sabor ou cor próprios; serem fáceis de incorporar e apresentarem boa solubilidade no produto (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

### 3.3.1 Antioxidantes sintéticos

Os compostos fenólicos são classificados como antioxidantes primários que são principalmente sequestradores de radicais livres que retardam ou inibem a etapa de iniciação ou interrompem a etapa de propagação da oxidação lipídica, diminuindo assim a formação de produtos de decomposição voláteis (por exemplo, aldeídos e cetonas) que causam ranço. Interferem no processo de oxidação como terminadores de radicais livres e às vezes também como quelantes de metais (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

Antioxidantes fenólicos sintéticos atualmente permitidos para uso em alimentos são: hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), galato de propila (PG), terciário-butilhidroquinona (TBHQ), galato de octil (OG) e galato de dodecil (DG). Esses antioxidantes fenólicos sintéticos são deliberadamente adicionados aos produtos para prevenir ou retardar o início da oxidação lipídica durante o processamento e armazenamento de gorduras, óleos e alimentos contendo

lipídios e têm sido usados pela indústria alimentícia por cerca de 60 anos. Porém, seu uso em alimentos é estritamente regulamentado pelos governos devido aos seus potenciais efeitos de toxicidade, por exemplo, BHA e BHT são suspeitos de serem responsáveis por danos no fígado e carcinogênese quando usados em altas doses (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

Outra opção é o eritorbato de sódio (isoascorbato de sódio), um isômero óptico do ascorbato de sódio. Não compartilha a atividade fisiológica do ascorbato de sódio, mas sua atividade antioxidante é muito mais forte que a deste, e seu custo de produção é apenas um terço do ascorbato de sódio, levando assim a sua ampla utilização na produção de produtos cárneos (SHANG *et al.*, 2020).

### 3.3.2 Antioxidantes naturais

Devido a preocupações de segurança e limitação no uso de antioxidantes sintéticos, antioxidantes naturais obtidos a partir de materiais comestíveis, subprodutos comestíveis e fontes residuais têm sido de crescente interesse (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

Assim, no intuito de reduzir o impacto das alterações químicas e promover a estabilidade oxidativa, o uso de antioxidantes naturais tem ganhado espaço devido às vantagens de saúde e segurança associadas à sua eficácia na redução da oxidação. Muitos compostos naturais também já foram testados com sucesso em rações para animais, a fim de proteger as matérias-primas da carne e reduzir o risco de oxidação em produtos processados (BERNARDI *et al.*, 2016).

Especiarias, frutas, plantas e ervas são boas fontes de muitos antioxidantes potenciais, que são adicionados aos alimentos para torná-los mais duradouros e evitar que fiquem rançosos sob estresse oxidativo. Assim, esforços estão sendo feitos para reduzir a oxidação aumentando a adição de antioxidantes aos alimentos (SINDHI *et al.*, 2013).

A indústria alimentícia, e em particular a indústria de carnes, tem realizado diversos estudos para identificar antioxidantes naturais que atuam isoladamente ou sinergicamente com outros aditivos que podem ser aplicados aos produtos de forma a reduzir a oxidação sem prejudicar as características sensoriais do produto (BERNARDI *et al.*, 2016).

Vários estudos já foram realizados para avaliar o efeito de frutas, especiarias, ervas e temperos como antioxidantes naturais adicionados a produtos cárneos:

sementes de uva (CARPENTER *et al.*, 2007; ROJAS; BREWER, 2007; LORENZO *et al.*, 2013; LORENZO *et al.* 2014); ameixa (NUÑEZ DE GONZALEZ *et al.*, 2008); castanha (LORENZO *et al.*, 2013; LORENZO *et al.* 2014); algas marinhas (LORENZO *et al.* 2014); alho (PARK; CHIN, 2010); chá verde (LORENZO *et al.*, 2013; LORENZO *et al.* 2014); orégano (ROJAS; BREWER, 2007; PRETE *et al.*, 2020); curry (BISWAS; CHATLI; SAHOO, 2012); folha de hortelã (BISWAS; CHATLI; SAHOO, 2012); pimenta (UGWUONA, 2010); café (KIM *et al.*, 2016; MARTUSCELLI; ESPOSITO; MASTROCOLA, 2021; FETSCH *et al.*, 2022); entre outros.

### 3.4 Café

O café é uma planta perene e de regiões quentes, principalmente dos trópicos. Seu fruto é uma importante *commodity* no mercado mundial de produtos agrícolas, sendo o segundo maior gerador de riquezas do planeta, perdendo apenas para o petróleo (PERUZZOLO; CRUZ; RONQUI, 2019). Trata-se de um importante componente das exportações totais de vários países, inclusive do Brasil, tendo se tornado um produto economicamente importante para muitas famílias pelo mundo. É estimado que entre 20 e 25 milhões de famílias, em mais de 50 nações em desenvolvimento, e em mais de 5 milhões de fazendas, produzem e comercializam o café no mundo (CARVALHO *et al.*, 2017).

O café é originário da Etiópia, sec. VII, sendo consumido com manteiga. Sua origem como bebida não é clara, mas sabe-se que no final do século XV, era consumido nessa forma pelos países do Oriente Médio, como Arábia Saudita e Iêmen. Na forma de bebida chegou à Europa no século XVII, causando um aumento importante do consumo e demanda de café. Diante disso, fontes alternativas de produção do grão de café se tornaram uma interessante oportunidade de negócio, pois a maior parte da produção vinha de colônias africanas que se tornaram produtoras de café. Assim, no final do século XVIII, 50% da produção mundial de café passou a vir de lugares fora do Oriente Médio e da África (BOAVENTURA *et al.*, 2018).

No Brasil, as primeiras mudas e sementes de café chegaram no Pará, em 1.720. Com isso, o hábito do consumo de café teve início no Norte do país, e o café começou a ser produzido na Amazônia para consumo local. No entanto, seguindo a tendência internacional, sua produção se espalhou pelo país, em especial pela região Sudeste e, em meados de 1.820, o Brasil já era responsável por 20% das exportações de café mundiais (SIQUEIRA, 2005).

Com a evolução da produção, o Brasil tornou-se o maior exportador de grãos de café ao final da década de 1.820, posição que mantém até hoje (SIQUEIRA, 2005), tendo os Estados Unidos e a Alemanha como principais importadores. Geralmente, utilizam grãos de café verde, que são processados para uso local ou exportam os produtos refinados acrescidos de maior valor. Esse processo de posicionamento e cadeia de valor do café afeta a economia, a política e as organizações produtivas brasileiras (BOAVENTURA *et al.*, 2018).

O café é uma planta na forma de um arbusto lenhoso, perene, pertencente à família da Rubiaceae, gênero *Coffea* e há mais de 100 espécies desse gênero, mas duas espécies são mais amplamente comercializadas, portanto são as de maior interesse econômico: o café arábica (*Coffea arabica*), e o café robusta (*Coffea canephora*) (PERUZZOLO; CRUZ; RONQUI, 2019). O café arábica, chamado simplesmente de arábica, responde por cerca de 60% a 70% da produção mundial de café. Já o café robusta (também conhecido como Conilon no Brasil) responde por 30% a 40% de produção mundial, sendo proveniente de uma árvore de porte menor, que pode crescer em altitudes mais baixas que o arábica, com rendimentos mais altos e com maior resistência para doenças (CARVALHO *et al.*, 2017).

Em relação a área de plantio de café no Brasil, em 2021 o café arábica foi responsável por uma área de 1.433.171,5 hectares (ha), rendendo 21,9 sacas/ha. O café robusta teve, em 2021, uma área de produção de 375.291,0 ha, com produtividade de 43,4 sacas/ha. Portanto, no total, o Brasil utilizou uma área de 1.808.462,5 ha em plantação de café, produzindo 26,4 sacas/ha. Em relação à exportação, no ano de 2021 foram 38 milhões de sacas exportadas, no valor de 5,803 bilhões de dólares (BRASIL, 2022).

De acordo com a Organização Internacional do Café (OIC), no mercado internacional, os preços do café seguiram a alta constante observada em 2021, subindo ainda mais em janeiro de 2022, alcançando 204,29 centavos de dólar americano por libra-peso. No entanto, as exportações de arábica diminuíram ligeiramente em dezembro de 2021, em relação a dezembro de 2020. Por outro lado, as exportações de robusta aumentaram 25,8%, mostrando certo rebalanceamento de fontes de aquisição para compensar as altas de preços e a baixa disponibilidade de arábica (OIC, 2022).

Sobre as diferenças entre as duas espécies de maior importância econômica, pode-se dizer que o café arábica é apreciado por sua qualidade e aroma superiores,

enquanto o café robusta possui um sabor mais agressivo e contém maiores quantidades de sólidos solúveis, antioxidantes e cafeína (LUDWIG *et al.*, 2014). Por conta disso, o preço do robusta é mais baixo no mercado, em comparação ao arábica, e é frequentemente usado para café solúvel, ou para reforçar a cafeína dos cafés expressos. Sua produção vem se expandindo na África Central, na Ásia e na América Latina, sobretudo no Brasil, sendo muito importante para a economia local (CARVALHO *et al.*, 2017).

Além da relevância econômica do café, há a importância para a saúde, pois, embora o café seja consumido principalmente por seu sabor agradável e propriedades estimulantes, estudos recentes indicam potenciais benefícios à saúde associados à bebida, incluindo a redução da incidência de várias doenças crônicas e degenerativas, como câncer, doenças cardiovasculares, diabetes e doença de Parkinson. Há, portanto, um interesse crescente na caracterização de compostos bioativos específicos do café que possam servir como agentes fisiologicamente ativos (LUDWIG *et al.*, 2014).

#### 3.4.1 Compostos bioativos do café verde

Os componentes bioativos do café incluem cafeína, ácidos clorogênicos (CGAs), trigonelina, alcaloides de triptofano, diterpenos e outros metabólitos secundários. Durante a torrefação, os metabólitos do café sofrem reações complexas de Maillard, produzindo melanoidinas, consideradas componentes bioativos benéficos, e outros produtos de degradação, sendo o mais controverso a acrilamida, ingrediente amplamente encontrado em alimentos assados e listado como cancerígeno de segunda classe (HU *et al.*, 2019).

Há aproximadamente duas décadas começaram a surgir pesquisas buscando aplicar extratos de café em produtos cárneos com a finalidade de exercerem atividade antioxidante, como descritos no Quadro 2. (NISSEN *et al.*, 2004; LIN, TOTO, WERE, 2015; DILNAWAZ, KUMAR, BHAT, 2017; KIM; MOON; AHN, 2016). O estudo de Kim *et al.* (2016), por exemplo, se baseou no fato de que o resíduo de café moído, obtido após o processo de infusão, ainda contém vários componentes funcionais com alta capacidade antioxidante e benefícios à saúde. Assim, os autores avaliaram a atividade antioxidante de extratos etanólicos ou de água quente dos resíduos de café após a infusão. Os resultados indicaram que os extratos etanólicos do resíduo de café

possuem forte atividade antioxidante e têm potencial para serem utilizados como antioxidante natural em carnes.

**Quadro 2- Estudos com aplicação de extrato de café como estabilizante oxidativo em produtos cárneos**

Extrato	Produto	Condições do teste	Referência
<i>Coffea arabica</i> torrado moído	Carne bovina moída	Refrigerado por 7 dias	Lin, Toto e Were (2015)
<i>Coffea canephora</i> verde e torra média	Linguiça toscana	Congelamento por 30 dias	Fetsch (2021)
Casca de <i>Coffea arabica</i>	Hambúrguer de frango	Congelamento por 45 dias	Marques <i>et al.</i> (2022)
<i>Coffea arabica</i> verde	Almondegas bovinas	Refrigerado por 14 dias	Mostafa e Azab (2022)

Fonte: Autoria própria (2023)

Entre os compostos bioativos presentes no café que possuem ação antioxidante estão: ácido clorogênico, cafeína, trigonelina (KIM *et al.*, 2016); ácidos hidroxicinâmicos (ARELLANO-GONZÁLEZ *et al.*, 2011); diterpenoides, especialmente o cafestol e o kahweol (C&K) e melanoidinas (HU *et al.*, 2019).

### 3.5 Extração de antioxidantes naturais

Existem variadas técnicas convencionais de preparo de amostras, como extração líquido-líquido em várias etapas, extração Soxhlet e extração em fase sólida, entre outras (CUNHA; FERNANDES, 2018). Tradicionalmente, as técnicas convencionais de extração utilizam solventes orgânicos. A execução do processo de extração sólido-líquido, por exemplo, é comumente realizada em um aparelho Soxhlet, no qual o solvente fresco é repetidamente colocado em contato com a matriz sólida. As principais desvantagens desta técnica estão relacionadas à necessidade de grandes volumes de solventes, ao longo tempo de processamento, à ausência de agitação, à necessidade de uma etapa de evaporação do solvente e à possível degradação dos compostos vulneráveis devido à alta temperatura de extração utilizada (CHANIOTI; KATSOULI; TZIA, 2021).

A extração líquido-líquido é outra técnica amplamente utilizada, mas que apesar das altas capacidades de pré-concentração, sofre de várias limitações, incluindo consumo de tempo e de esforço e grande utilização de solvente orgânico (HAMMAD *et al.*, 2022). Segundo Facchin e Pasquini (1998), independentemente de essa técnica ser efetuada por procedimento manual ou pelo uso de qualquer tipo de

sistema mecanizado ou automatizado, ela se caracteriza pela transferência de solutos entre duas fases que formam um sistema heterogêneo, tendo como principais objetivos os seguintes:

(i) melhorar a seletividade de uma técnica de detecção, separando o elemento de interesse dos constituintes majoritários de uma matriz ou somente separar os interferentes mais significativos e (ii) elevar a sensibilidade, concentrando o analito ou isolando-o numa fase, onde é observado aumento de sinal analítico. Em geral, efetua-se a transferência dos solutos contidos numa solução aquosa para a fase orgânica mediante o contato intensivo entre as duas fases imiscíveis e a concomitante formação de espécies neutras como, por exemplo, quelatos ou compostos de associação iônica (FACCHIN; PASQUINI, 1998).

Mas, no geral, as técnicas convencionais são demoradas, trabalhosas e envolvem o uso de grande volume de solventes orgânicos, o que é custoso e gera uma quantidade considerável de resíduos prejudiciais à saúde humana e ao meio ambiente (CUNHA; FERNANDES, 2018).

Para superar esses inconvenientes, uma variação que surgiu foi a extração líquido-líquido homogênea, uma técnica alternativa de preparação de amostras que supera algumas desvantagens da extração líquido-líquido convencional e permite o emprego de solventes orgânicos mais verdes no tratamento de amostras. Nela, uma fase homogênea é formada entre a amostra aquosa e o extrator miscível em água, seguida de separação de fases induzida química ou fisicamente. Para formar a fase homogênea, as amostras aquosas são misturadas com solventes orgânicos miscíveis em água, solventes/cosolventes imiscíveis em água, surfactantes ou polímeros inteligentes. Em seguida, a separação de fases é induzida quimicamente (adicionando sal, açúcar ou tampão) ou fisicamente (alterando a temperatura ou o pH). Este modo é rápido, sustentável e econômico em comparação com outras técnicas convencionais de preparação de amostras (HAMMAD *et al.*, 2022).

Também surgiram novas técnicas de miniaturização da extração em fase sólida (*Solid Phase Extraction* - SPE) ou extração líquido-líquido (*Liquid Phase Extraction* - LPE), como SPME (*Solid Phase Microextraction*) e LPME (*Liquid Phase Microextraction*), respectivamente). SPME é uma técnica de extração sem solvente, que se tornou muito popular nos últimos anos, que utiliza diferentes materiais de fibra em várias configurações para a extração de uma ampla gama de analitos voláteis (TOBISZEWSKI; MECHLIŃSKA; NAMIEŚNIK, 2010).

Já o LPME compreende uma gama de técnicas ligeiramente diferentes, que oferecem alternativas eficientes à extração líquido-líquido tradicional, com inúmeras

vantagens, como alto grau de concentração (ou fator de enriquecimento) e baixo consumo de solventes orgânicos ao solicitar pequenas quantidades de amostras. Nessas técnicas, geralmente poucos microlitros do solvente extrator (geralmente designado como fase aceitadora) são colocados diretamente na amostra aquosa contendo os analitos (fase doadora) ou em seu headspace e posteriormente o solvente extrator é coletado. Pode empregar diferentes tipos de energia cinética como EUA ou micro-ondas para melhorar a eficiência de extração, fator de enriquecimento e simultaneamente reduzir o tempo de extração (CUNHA; FERNANDES, 2018).

### 3.5.1 Solventes

Existem várias técnicas de extração utilizadas para recuperar compostos antioxidantes de fontes naturais e orgânicas. Entre os solventes usados a água quente e etanol são considerados mais seguros e mais utilizados (KIM *et al.*, 2016). Essa extração era originalmente realizada usando solventes petroquímicos e orgânicos voláteis (DABETIĆ *et al.*, 2020), como metanol, etanol, acetona, acetato de etila e suas combinações, que têm sido usados para extrair compostos bioativos de plantas, muitas vezes com diferentes proporções de água (KIM *et al.*, 2016). Mas a maioria desses solventes é motivo de séria preocupação, pois são inflamáveis, pouco biodegradáveis, tóxicos e voláteis (DABETIĆ *et al.*, 2020).

Portanto, para obter extrações eficazes atribuindo extratos qualitativos, os métodos convencionais usados para a extração desses compostos precisavam ser aprimorados. A extração verde surgiu como uma das questões-chave na pesquisa e desenvolvimento científico e industrial, sendo empregada para projetar processos que oferecem uma ótima utilização de solventes e energia, minimizando o impacto ambiental e beneficiando a saúde humana, originando uma nova geração de solventes, chamada de solventes eutéticos profundos (*Natural Deep Eutectic Solvent - NADES*) (CHANIOTI; TZIA, 2018).

### 3.5.2 Solventes eutéticos profundos naturais (NADES)

O solvente eutético profundo geralmente é composto por uma mistura de dois componentes baratos e seguros: um acceptor de ligação de hidrogênio, geralmente cloreto de colina, e um doador de ligação de hidrogênio, como aminoácidos, ácidos carboxílicos, açúcares, entre outros, em estado sólido. Tais componentes formam

uma mistura eutética com ponto de fusão inferior ao de cada componente individual. Em particular, no caso da combinação de certos componentes que estão presentes na natureza e desempenham um papel nos processos metabólicos das células vivas, como cloreto de colina, ureia, ácidos orgânicos e açúcares, a mistura de solvente eutético profundo é chamada de solvente eutético profundo natural (Natural Deep Eutectic Solvent - NADES) (CHANIOTI; TZIA, 2018).

Recentemente foi descoberto que muitos metabólitos primários abundantes de plantas mudam seu estado de sólido para líquido quando misturados na proporção adequada. Essa descoberta fez levantar a hipótese de que os NADES desempenham um papel como meio alternativo à água em organismos vivos, o que gerou a testagem de uma ampla gama de produtos naturais, resultando na descoberta de mais de 100 NADES da natureza (DAI *et al.*, 2013).

Uma das características atrativas desses novos solventes é a possibilidade de ter, simplesmente mudando um ou ambos os componentes, um grande número de misturas eutéticas com diferentes propriedades químicas (CUNHA; FERNANDES, 2018). Por exemplo, NADES à base de cloreto de colina demonstraram ter alta capacidade de extração para compostos fenólicos, o que pode ser correlacionado com as fortes interações de ligação de hidrogênio entre solutos e moléculas de solvente (DABETIĆ *et al.*, 2020).

Os NADES possuem propriedades físico-químicas únicas: viscosidade ajustável, baixa volatilidade, solubilidade em água e alto grau de força de solubilização para vários compostos, além de apresentarem muitas vantagens, como fácil preparo, não inflamabilidade e toxicidade farmacologicamente aceitável (CHANIOTI; TZIA, 2018). Possuem ponto de fusão muito baixo (são líquidos mesmo abaixo de 20°C) e ampla faixa de polaridade (CUNHA; FERNANDES, 2018). Além disso, podem ser projetados com atividade biológica específica, por exemplo, para desempenhar um papel importante no aumento das atividades antioxidantes de extratos de plantas por possuir essa atividade em si (DABETIĆ *et al.*, 2020).

Por essas características, atraíram considerável atenção, pois não apenas são compostos orgânicos ecologicamente corretos, não tóxicos e biodegradáveis, sendo de fácil produção no próprio laboratório. Portanto, podem ter o potencial de atuar como solventes eficazes para a extração de uma ampla gama de compostos não polares e polares e têm sido propostos como alternativas a vários solventes orgânicos convencionais e tóxicos (CHANIOTI; TZIA, 2018).

Em combinação com várias técnicas de extração inovadoras, estes solventes ecológicos têm sido utilizados para extrair, separar e pré-concentrar compostos bioativos de fontes naturais, nomeadamente polifenóis (por exemplo, ácidos fenólicos e flavonoides), alcaloides, canabinoides, ginkgolides, etc. (MANSINHOS *et al.*, 2021).

### 3.5.3 Equipamentos que auxiliam a extração de compostos antioxidantes de matéria vegetal

Em processos de extração, a seleção do método apropriado também é uma variável importante. Recentemente, o desenvolvimento e o uso de métodos assistidos ecologicamente corretos tornaram-se cada vez mais populares, uma vez que melhoram a eficiência de extração e diminuem a degradação de compostos em solução. Vários novos métodos de extração assistida, como homogeneização, -ondas, EUA, alta pressão hidrostática, campo elétrico pulsado, descarga elétrica de alta tensão, radiação infravermelha e condições aceleradas de temperatura e pressão têm sido investigadas na extração de compostos bioativos de vários recursos vegetais (CHANIOTI; TZIA, 2018).

A homogeneização, por exemplo, é uma alternativa ao método de extração convencional, onde compostos bioativos podem ser extraídos do material vegetal em solvente por cisalhamento mecânico de alta velocidade, mistura, ação de corte de fluido e esmagamento sem pressão, oferecendo benefícios como menor temperatura de extração, maior eficiência e menos tempo e consumo de energia (CHANIOTI; TZIA, 2018).

Outro exemplo é a alta pressão hidrostática, que pode ser usada como uma ferramenta alternativa e sustentável para a recuperação de compostos bioativos, pois promove a penetração do solvente nas células permitindo a liberação dos compostos no solvente (CHANIOTI; KATSOULI; TZIA, 2021). Esse sistema opera sob pressões muito altas que variam de 100 a 1000 MPa e já provou ser mais rápido e eficaz em comparação com outros métodos de extração amplamente aplicados nas indústrias farmacêutica, metalúrgica e alimentícia que utilizam principalmente processos térmicos. Quanto maior a pressão hidrostática, mais solvente pode entrar nas células sólidas e mais compostos podem permear suas membranas, resultando em altos rendimentos de extração (CHANIOTI; TZIA, 2018).

No caso das micro-ondas, elas afetam imediatamente a umidade do material sólido. Com isso, a umidade é evaporada gerando uma tremenda pressão nas

paredes das células que incham e se rompem lixiviando os compostos alvo. Esse método oferece muitas vantagens, como maior eficiência, tempo de extração reduzido, baixo consumo de solvente e de energia e alto nível de automação em relação ao método de extração convencional (CHANIOTI; TZIA, 2018).

Já o EUA é uma técnica verde que foi introduzida com sucesso na aplicação de extração devido ao seu processamento rápido, baixo custo, ser ecologicamente correto, proporcionar maior rendimento e ser de fácil manuseio (FU *et al.*, 2021). A cavitação produzida por uma onda ultrassônica se espalha no solvente e desempenha um papel importante no aumento da extração, pois as forças de cisalhamento criadas pelo efeito da cavitação quebram as paredes celulares da planta, aumentando o transporte de massa (YANG *et al.*, 2017), facilitando a liberação de substâncias intracelulares no solvente (MANSINHOS *et al.*, 2021). Além disso, a turbulência violenta ao redor da superfície dos materiais vegetais durante a sonicação facilita a mistura do sólido com o solvente, diminuindo as camadas limite de difusão e aumentando a transferência de massa e calor de extrativos no solvente (FU *et al.*, 2021). Algumas das vantagens desta metodologia estão relacionadas principalmente com a redução do consumo de solventes e dos requisitos de energia (MANSINHOS *et al.*, 2021).

### **3.6 Verificação do teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante**

Para avaliar o teor de compostos fenólicos foi usado o método Folin-Ciocalteu, já para a capacidade antioxidante existem variados métodos de análise, podendo-se citar: método DPPH; método ABTS•+; e método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), que são descritos na sequência.

#### **3.6.1 Método Folin-Ciocalteu**

O método Folin-Ciocalteu se baseia na quantificação espectrofotométrica de compostos fenólicos, tendo em vista que o reagente, na presença de certos agentes redutores, forma os compostos molibdênio azul e tungstênio azul, com coloração que permite ser determinada sua concentração em espectrofotômetro no comprimento de onda de 740 nm (PRETE *et al.*, 2020).

Folin-Ciocalteu é o método mais conhecido para determinar os teores fenólicos de totais. Foi inicialmente projetado para a análise de proteínas, que

aproveita a tirosina como aminoácido fenólico em proteínas. Em seguida, foi adotado para analisar o conteúdo fenólico em alimentos e extratos de plantas. Assim, este método é frequentemente utilizado para determinação de compostos fenólicos totais em plantas (GULCIN, 2020).

### 3.6.2 Método DPPH

O DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) é um radical de nitrogênio orgânico, estável, de cor violeta, que possui absorção na faixa de 515-520 nm. Trata-se de um método químico cuja aplicação é feita no intuito de determinar a capacidade antioxidante de um composto em sequestrar radicais livres. O sequestro de radicais livres é um dos mecanismos reconhecidos pelo qual ocorre a ação dos antioxidantes (SUCUPIRA *et al.*, 2012).

O método DPPH é baseado na eliminação do radical DPPH dos antioxidantes, o que produz uma diminuição na absorbância em 515 nm (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURACALIXTO, 2006). Assim, nesse método, a redução do radical DPPH é monitorada pelo decréscimo da absorbância durante a reação. O método de sequestro do radical livre DPPH pode ser utilizado para avaliar a atividade antioxidante de compostos específicos ou de um extrato em curto período. É um dos mais utilizados, pois é considerado um método rápido, prático e com boa estabilidade (SUCUPIRA *et al.*, 2012).

### 3.6.3 Atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS•+

O radical ABTS•+ é produzido a partir de um precursor, o ácido 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfônico. Trata-se de um composto cromóforo quimicamente estável, que possui alta solubilidade em água, tendo seu máximo de absorbância a 414 nm, e de medidas secundárias de absorbância a 645, 734 e 815 nm. O radical ABTS•+ deve ser gerado por reações enzimáticas ou químicas, podendo ser solubilizado em meios orgânicos e aquosos nos quais a atividade antioxidante pode ser determinada, dependendo da natureza dos compostos antioxidantes (SUCUPIRA *et al.*, 2012).

Assim, esse método se baseia na habilidade dos antioxidantes em capturar o cátion radical de longa vida ABTS•+. Esta eliminação produz uma diminuição na absorbância a 658 nm. As leituras de absorbância da mistura do radical e do

antioxidante em tempos diferentes são representadas graficamente e, em seguida, calcula-se a área sob a curva gerada por essa inibição da absorbância (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2006).

O método ABTS•+ apresenta certas vantagens em relação a outros, sendo uma delas o fato de poder ser utilizado tanto para amostras hidrossolúveis quanto lipossolúveis. Possui excelente estabilidade, sendo um dos testes mais rápidos de atividade antioxidante e que oferece resultados passíveis de serem reproduzidos, além de oferecer vários máximos de absorção e uma boa solubilidade (SUCUPIRA *et al.*, 2012).

#### 3.6.4 Método FRAP

No método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), o complexo férrico-tripiridiltriazina (FeIII-TPZ) é reduzido ao complexo ferroso (FeII-TPZ), na presença de um antioxidante e em condições ácidas, apresentando uma intensa cor azul, com absorção máxima a 593 nm (SUCUPIRA *et al.*, 2012). Em outras palavras, é um método baseado em transferência de elétrons, que mede a redução do complexo ligante de íons férricos (Fe<sup>3+</sup>) ao complexo de íons ferrosos de cor azul intensa (Fe<sup>2+</sup>) por antioxidantes em meio ácido (GULCIN, 2020). Portanto, esse método se baseia não na capacidade de eliminação de radicais livres, mas na capacidade de redução de um complexo em outro (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2006).

O método FRAP é realizado em pH ácido 3,6 para manter a solubilidade do ferro. A reação em pH baixo diminui o potencial de ionização que impulsiona a transferência de elétrons e aumenta o potencial redox, causando uma mudança no mecanismo de reação dominante. Os valores de FRAP são calculados medindo o aumento de absorbância em 593 nm e relacionando-o a uma solução padrão de íon ferroso ou a uma solução padrão antioxidante. A mudança na absorbância é proporcional ao valor FRAP combinado dos antioxidantes na amostra (GULCIN, 2020).

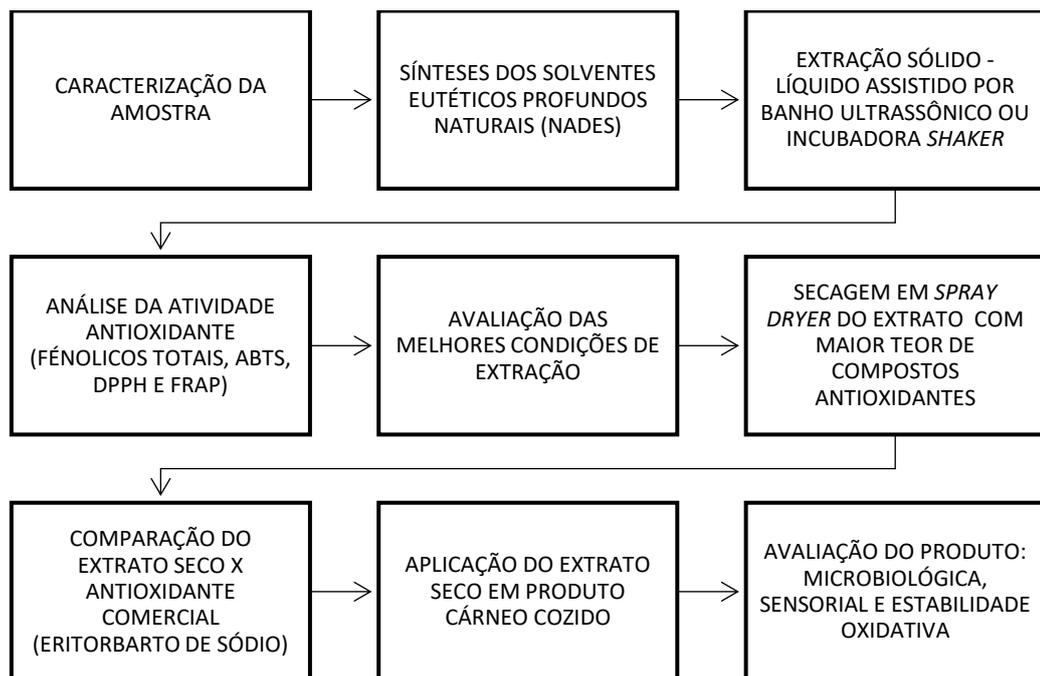
Estes quatro métodos citados, de avaliação de atividade antioxidante, foram escolhidos para serem empregados nesse estudo, no intuito de avaliar a atividade antioxidante de extratos obtidos com água e diferentes solventes como solução etanólica e NADES, por processos assistidos por agitação e EUA, obtidos da matriz vegetal grãos de café verde, com a finalidade de aplicação como antioxidante natural em um produto linguiça calabresa. Buscou-se obter um produto cárneo cozido sem

antioxidantes sintéticos, com estabilidade oxidativa durante a vida útil e sem alterações negativas nas características sensoriais. Na sequência será relatada a metodologia aplicada no presente estudo.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

A parte experimental foi conduzida nos laboratórios do PPGTA (Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Medianeira/PR. As etapas do desenvolvimento experimental estão sumarizadas na Figura 1.

**Figura 1– Etapas do desenvolvimento experimental**



Fonte: A autoria própria (2023)

### 4.1 Caracterização das amostras de café

As amostras de Café verde, *Coffea canephora* e *Coffea arabica*, safra de 2020 e 2022 foram fornecidas pela Empresa Companhia Iguaçu de Café Solúvel (Cornélio Procópio-PR, Brasil), as amostras (safra 2020) ficaram armazenadas em sacos plásticos de polipropileno em temperatura de -18 °C até as análises. Amostras frescas (safra 2022) de *Coffea Canephora* e *Coffea arabica* também foram avaliadas para fins de comparação da influência do armazenamento dos grãos de café verde sob congelamento pelo período de 1 ano sob a atividade antioxidante do extrato obtido. Todas as análises foram realizadas em triplicata, sendo os grãos moídos em moinho analítico básico de batelada (IKA, A11, Staufeln, Germany), em seguida realizada a granulometria para padronização das amostras durante a extração. Foram

selecionados os grânulos retidos na peneira 20 mesh de 0,85 mm de abertura como descrito por Fetsh (2020).

Para determinação de umidade foi utilizada a metodologia da AOAC (2005), na qual cinco gramas da amostra moída e homogeneizada foram pesadas em cadinho usando balança analítica (Marte, AW220, São Paulo, Brasil) em triplicata, após a pesagem as amostras foram colocadas em estufa (Cienlab, Campinas, Brasil) em temperatura constante de 105 °C por 6 horas, após esse período os cadinhos foram colocados em dessecador até atingir temperatura ambiente e pesadas em balança analítica, o processo se repetiu a cada 2 horas até as amostras atingirem peso constante. Para verificação do teor de cinzas também foi utilizada a metodologia da AOAC (2005), onde cinco gramas da amostra foram pesados em cadinhos em balança analítica (Marte, AW220, São Paulo, Brasil) em triplicata, e posteriormente colocado em forno mufla a 550 °C por um período inicial de 4 horas, posteriormente foram colocados em dessecador para atingirem temperatura ambiente para serem pesadas. Após esse horário o processo foi repetido até atingirem peso constante. A medida instrumental de cor também foi avaliada em triplicata, utilizando colorímetro (Konica Minolta, CR 400, Osaka, Japão) com iluminante D65 e ângulo de visão de 10°, sendo realizada a leitura de L\*, a\* e b\* do sistema CIELAB.

#### **4.2 Síntese dos solvente eutéticos profundos naturais (NADES)**

Os solventes foram elaborados a partir da síntese de dois componentes, sendo um o Cloreto de Colina ( $\geq 99\%$ , Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, USA) como receptor de hidrogênio (HBA), e como doadores de hidrogênio (HBD) o Ácido Acético (99,7%, Vetec, Duque de Caxias, Brasil), Glicose (99,5%, Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, USA), Ácido Cítrico (98%, Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, USA) e Ácido Lático (85%, Conditec, Medianeira, Brasil), conforme Tabela 1, acrescidos de 30% de água ultrapura ( $v v^{-1}$ ) obtida pelo equipamento ultra-purificador (resistividade de 18,2 M $\Omega$  cm, Master System®, Gehaka, São Paulo, Brasil) para diminuir a viscosidade como descrito por Fu *et al.* (2021). As proporções utilizadas foram baseadas em estudos científicos para obtenção de extratos com alto teor de compostos antioxidantes e testes preliminares. Cada reagente foi pesado em balança analítica (Marte, AW220, São Paulo, Brasil). Para síntese dos NADES foi utilizada a metodologia adaptada de Mansinhos *et al.* (2021), usando o emprego do

calor 60 °C em incubadora shaker (Solab, SL221, Piracicaba, Brasil) 400 RPM por 45 minutos a fim de obter uma mistura líquida, uniforme e translúcida.

**Tabela 1. Composição dos solventes eutéticos profundos naturais (NADES)**

Tratamentos	Receptor de hidrogênio	Doador de hidrogênio	Razão molar
[Ch]Cl:AA	Cloreto de Colina	Ácido Acético	1:2
[Ch]Cl:AA	Cloreto de Colina	Ácido Acético	1:4
[Ch]Cl:G	Cloreto de Colina	Glicose	1:1
[Ch]Cl:G	Cloreto de Colina	Glicose	5:2
[Ch]Cl:AC	Cloreto de Colina	Ácido Cítrico	1:1
[Ch]Cl:AC	Cloreto de Colina	Ácido Cítrico	2:1
[Ch]Cl:AL	Cloreto de Colina	Ácido Lático	1:1
[Ch]Cl:AL	Cloreto de Colina	Ácido Lático	1:2

Fonte: Autoria própria (2023)

### 4.3 Extração de compostos bioativos de *Coffea canephora* assistido por banho ultrassônico ou agitação constante

As extrações sólido-líquido foram realizadas com parâmetros fixos de 70 °C, por 15 minutos e 1,4 g de amostra para 25 mL de solvente seguindo o método de Fetsh (2020), com adaptações. 25 mL dos solventes foram colocados em frascos âmbar com tampa de rosca de 50 mL, em seguida pré-aquecidos a uma temperatura de 70 °C verificados com termômetro digital (TP-101). As amostras moídas de café (*Coffea canéfora*) foram pesadas em balança analítica (Marte, AW220, São Paulo, Brasil) e colocadas em frascos âmbar que continham o solvente. Na incubadora shaker (Solab, SL221, Piracicaba, Brasil) foi usada agitação de 400 RPM e no Banho Ultrassônico (Elma, Elmasonic P, Singen, Alemanha) foram utilizados os parâmetros 37 kHz, potência de 70% de 580 W. Também foram realizadas extrações com solvente etanólico 34,2% (v/v) e água ultrapura obtida pelo equipamento ultra-purificador (resistividade de 18,2 MΩ cm, Master System®, Gehaka, São Paulo, Brasil).

Após a extração os extratos foram postos em tubos falcon de 50 mL e centrifugados em centrífuga (Cientec, CT-5000R, Campinas, São Paulo) 4000 RPM por 20 minutos a 25 °C, após o processo o sobrenadante foi transferido para frasco âmbar, para realização das análises de antioxidantes (descritas no item 4.4).

### 4.4 Determinação da capacidade antioxidante *in vitro* dos extratos

#### 4.4.1 Preparo das amostras para avaliação do teor de fenólicos e atividade antioxidante

Os extratos líquidos de café foram diluídos 1:16 e 1:20 em água ultrapura e os extratos secos foram diluídos 0,293 g em 50 mL de água ultrapura e em seguida

feita outra diluição 1:10 e 1:100. Para o de eritorbato de sódio foram realizadas três diluições, 1 g 1000 mL<sup>-1</sup> e 1 g 500 mL<sup>-1</sup> e 1 g 250 mL<sup>-1</sup>.

#### 4.4.1.1 Teor de fenólicos totais

O teor de fenólicos totais (FT) foi determinado usando o método de Folin-Ciocalteu, segundo metodologia adaptada de Prado *et al.* (2009) e Brand-Willians *et al.* (1995). A estimativa do teor de fenólicos foi feita utilizando curva de calibração com padrão Ácido Gálico (anidro 99%) diluído em 7 pontos: 20, 40, 60, 80, 100, 150 e 200 mg/ L<sup>-1</sup> em duplicata. Para reação foi adicionado 0,1 mL das amostras (após diluições citadas) em tubos de ensaios, 7,9 mL de água ultrapura e 0,5 mL de Folin-Ciocalteu 2 N (Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, USA), após 2 minutos de reação, foi adicionado 1,5 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20%, agitado o tubo em vórtex por 30 segundos e mantendo os tubos de ensaio em ambiente escuro por 2 horas, a análise foi feita em triplicata.

A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro UV-Vis (PerkinElmer, Lambda XLS, Beaconsfield, Reino Unido) em 765 nm. Os dados foram calculados e expressos em g de ácido gálico equivalente (EAG) 100 g<sup>-1</sup> de amostra em base seca.

#### 4.4.1.2 Método DPPH

A reação se baseia na captura do radical livre DPPH e a metodologia usada foi adaptada de Rufino *et al.* (2007) e Brand-Willians *et al.* (1995). Para o preparo da solução de DPPH 60 µmol L<sup>-1</sup> foram pesadas 2,4 mg do reagente 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, USA) em balança analítica (Marte, AW220, São Paulo, Brasil), em seguida diluídas em álcool etílico absoluto e transferidos para um balão âmbar de 100 mL e completado o volume com álcool etílico absoluto. Para curva padrão de Trolox (5000 µmol<sup>-1</sup>) foram pesados 0,1252 g do reagente (Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico) e diluído em 100 mL de álcool etílico absoluto, a curva foi feita com 8 pontos de diluição (0, 50, 100, 200, 400, 600, 800 e 1000 µmol<sup>-1</sup>), sendo realizada em duplicata.

Para reação nos tubos de ensaio foram adicionados 0,1 mL do extrato líquido previamente diluído e acrescentado ao tubo 3,9 mL da solução de DPPH 60 µmol<sup>-1</sup>. Os tubos em triplicata foram homogeneizados em vórtex e colocados em repouso por

30 minutos em ambiente escuro, seguido de leitura em espectrofotômetro UV-Vis (PerkinElmer, Lambda XLS, Beaconsfield, Reino Unido) no comprimento de onda de 515 nm, utilizando álcool etílico absoluto como branco. Os resultados foram expressos em mg de Trolox equivalente 100 g<sup>-1</sup> de amostra em base seca.

#### 4.4.1.3 Atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS•+

A análise foi feita segundo metodologia descrita por Vignoli, Bassoli e Benassi (2012). Para o preparo da solução do radical ABTS•+ efetuou-se a mistura de solução ABTS (98%, Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, USA) 7 mmol L<sup>-1</sup> e persulfato de potássio 2,45 mmol L<sup>-1</sup>, a mistura foi mantida no escuro em temperatura ambiente por 16 horas antes do uso. O ABTS•+ para uso foi preparado na hora da análise a partir da diluição da solução ABTS em tampão fosfato com pH 7,4, e corrigida a leitura até 0,700 nm ± 0,020 a 730 nm. Para a determinação foi feita a curva padrão de Trolox (Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico), pesando 0,1032 g e diluindo em 50 mL álcool etílico absoluto (solução estoque) 8 mmol L<sup>-1</sup>; a seguir, foram preparadas as diluições com concentração na faixa entre 0,5 mmol L<sup>-1</sup> até 8 mmol L<sup>-1</sup>, em duplicata, totalizando 6 pontos.

Para reação foi colocado em tubo de ensaio 10 µL da amostra previamente diluída e posteriormente adicionada de 4 mL da solução de ABTS•+, em sequência agitando em vórtex e após 6 minutos de reação foi realizada leitura em espectrofotômetro UV-Vis (PerkinElmer, Lambda XLS, Beaconsfield, Reino Unido) a 730 nm usando água ultrapura como branco. As análises foram realizadas em triplicata. Os resultados foram expressos em g de Trolox equivalente 100 g<sup>-1</sup> de amostra em base seca. Assim, esse método se baseia na habilidade dos antioxidantes em capturar o cátion radical de longa vida ABTS•+. Esta eliminação produz uma diminuição na absorbância a 658 nm. As leituras de absorbância da mistura do radical e do antioxidante em tempos diferentes são representadas graficamente e, em seguida, calcula-se a área sob a curva gerada por essa inibição da absorbância (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2006).

#### 4.4.1.4 A Atividade antioxidante pela redução do íon férrico (FRAP)

A metodologia usada foi adaptada de Tran *et al.* (2020) na qual foi preparada a solução de FRAP usando tampão acetato 300 mmol L<sup>-1</sup>, 2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina

(98%, Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, USA) (TPTZ) 10 mmol L<sup>-1</sup> diluído em HCl 40 mmol L<sup>-1</sup> e FeCl III 20 mmol L<sup>-1</sup> na proporção 10:1:1. 2,85 mL da solução foi transferida para um tubo de ensaio e adicionado 0,15 mL dos extratos diluídos em água ultrapura, as amostras ficaram em banho-maria 37 °C por 30 min no escuro. Para determinação da atividade antioxidante foi realizada a curva de calibração de Trolox (Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico) em 7 pontos (entre 0,09 mmol L<sup>-1</sup> até 2 mmol L<sup>-1</sup>). A leitura foi realizada em espectrofotômetro UV-Vis (PerkinElmer, Lambda XLS, Beaconsfield, Reino Unido) a 593 nm, os resultados foram expressos em mg de Trolox equivalente 100 g<sup>-1</sup> de amostra.

#### 4.4.1.5 Tratamento estatístico dos dados

No tratamento dos dados foi usado Análise de variância *one-way* (ANOVA), seguido pelo teste de comparação de médias de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) do programa Statistica 8.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA). Os resultados são apresentados com média  $\pm$  desvio padrão.

### **4.5 Secagem dos extratos de *Coffea Canephora* em *Spray Dryer***

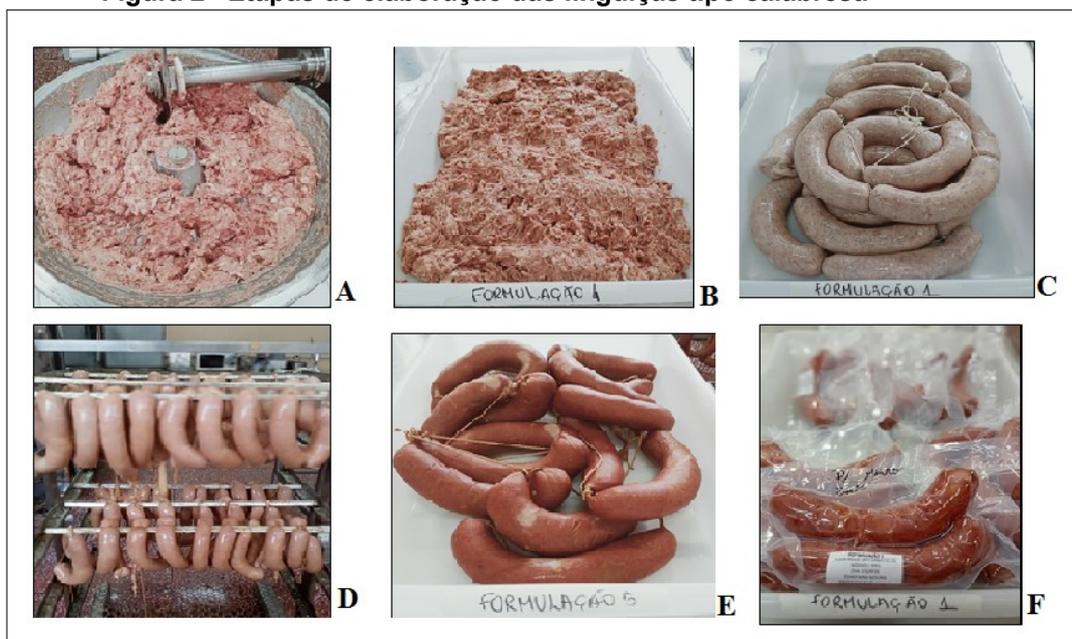
Baseado nos resultados obtidos nas análises de atividade antioxidante, foram selecionados dois extratos para aplicação em produto cárneos cozido, o extrato obtido com solução etanólica 34,2% e o obtido com água ultrapura em agitação constante. Para secagem por atomização com metodologia adaptada de Fetsh (2020), foram preparados 7 L de cada extrato (etanólico e aquoso) em incubadora shaker, filtrados com auxílio de bomba vácuo (Tecnal, TE-0581, Piracicaba, Brasil), em papel filtro 80 g m<sup>-2</sup> (Unifil) e armazenados em frascos âmbar de 1 L. Os dois extratos foram secos em *Spray Dryer* (LabMaq do Brasil, modelo MSD 1.0, Ribeirão Preto, Brasil), com temperatura de entrada 90 °C  $\pm$  2 e de saída 43 °C  $\pm$  2, com alimentação de 250 mL por hora, fluxo de ventilação de 35 Nm<sup>3</sup> h<sup>-1</sup>, fluxo de ar comprimido de 35 L min<sup>-1</sup> e bico de 1 mmol L<sup>-1</sup> de diâmetro na saída do ar. O extrato seco produzido foi coletado em frasco de vidro, após a coleta o pó foi transferido para embalagem hermeticamente fechada e armazenada em temperatura de 4 °C  $\pm$  1 °C ao abrigo de luz. O teor de compostos fenólicos e capacidade antioxidante *in vitro* também foi realizada do extrato seco como descrito no tópico 4.4.

#### 4.6 Elaboração de linguiça tipo calabresa com aplicação do extrato de café seco como antioxidante natural

As linguiças foram produzidas no Laboratório de processamento de produtos cárneos da UTFPR-Medianeira. A matéria prima carne foi cedida por uma Indústria Frigorífica com SIF do Paraná. Foram elaboradas cinco (05) formulações (Tabela 2), uma com o aditivo sintético Eritorbato de Sódio comercial 0,1%, duas com extrato aquoso de *Coffea canephora* seco e duas com extrato etanólico de *Coffea canephora* seco cujas concentrações (0,3% e 0,8%) foram definidas com base na atividade antioxidante *in vitro* dos extratos comparados ao antioxidante sintético eritorbato de sódio.

A formulação base utilizada seguiu as determinações contidas na RDC nº 272 (BRASIL, 2019) e Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (BRASIL, 2000). As etapas de produção seguiram conforme Figura 2, na qual todos os ingredientes foram previamente pesados, seguidos da moagem das carnes (A) em cutter (MADO, Garant MTK 661, Dornhan, Alemanha), e adição dos demais ingredientes, sendo o antioxidante o último incorporado a massa. Após essa etapa a massa foi armazenada em câmara fria a 8 °C para cura (B).

Figura 2– Etapas de elaboração das linguiças tipo calabresa



Fonte: Autoria própria (2023)

A massa foi então embutida com tripa natural bovina (C), em embutideira (IV20, série V195001, RB engineering, Italy), mergulhadas em fumaça líquida e em seguida as peças de aproximadamente 20 cm foram levadas a estufa (D) (Unimatic E100, Eller, Merano, Itália) para etapa de cozimento por 2,5 h a 73 °C e umidade de 60%, 30 min a 80 °C com umidade de 90% e mais 30 min a 85 °C e umidade de 90%, até a calabresa atingir temperatura interna de 74 °C. Após efetuou-se choque térmico com banho de água a temperatura ambiente por 5 min realizado 2 vezes com intervalo de 5 minutos, em seguida as linguiças foram resfriadas em câmara fria a 8 °C (E) e embaladas a vácuo (F) para armazenamento em Estufa Incubadora BOD 20 °C ± 1 para futuras análises.

**Tabela 2– Formulações de linguiça tipo calabresa com antioxidante eritorbato de sódio e testes com extrato etanólico e extrato aquoso de café verde**

Ingredientes	Formulações				
	P (%)	EA 0,3%	EA 0,8%	EE 0,3%	EE 0,8%
Retalho suíno gordo	40,00%	40,00%	40,00%	40,00%	40,00%
Retalho suíno magro	25,60%	25,60%	25,60%	25,60%	25,60%
Água	10,00%	10,00%	10,00%	10,00%	10,00%
CMS	14,60%	14,60%	14,60%	14,60%	14,60%
Água	10,00%	10,00%	10,00%	10,00%	10,00%
Sal	1,50%	1,50%	1,50%	1,50%	1,50%
Fosfato	0,50%	0,50%	0,50%	0,50%	0,50%
Cura	0,25%	0,25%	0,25%	0,25%	0,25%
Condimento	0,50%	0,50%	0,50%	0,50%	0,50%
Antioxidante	0,10%	0,30%	0,80%	0,30%	0,80%
Corante carmim	0,05%	0,05%	0,05%	0,05%	0,05%
Proteína soja	2,50%	2,50%	2,50%	2,50%	2,50%
Açúcar	1,00%	1,00%	1,00%	1,00%	1,00%
Lactato de sódio	2,50%	2,50%	2,50%	2,50%	2,50%

\*P: 0,5 % de eritorbato de sódio, EA 0,3%: 0,3% de extrato aquoso de café verde, EA 0,8%: 0,8% de extrato aquoso, EE 0,3%: 0,3% de extrato etanólico e EE 0,3%: 0,3% de extrato etanólico.

Fonte: Autoria própria (2023)

#### 4.6.1 Composição centesimal das linguiças tipo calabresa

O teor de umidade, cinzas, proteína, lipídios e carboidratos das formulações foram realizados em triplicata conforme Kalschne *et al.* 2019 e Instituto Adolfo Lutz [IAL], 2005 de acordo com a metodologia 012/IV, 018/IV, 036/IV e 032/IV respectivamente.

#### 4.6.2 Medida instrumental de cor, pH e atividade de água (Aw)

A avaliação da cor foi realizada em quintuplicata tanto na parte externa sobre o envoltório como na parte interna do embutido, 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), foram expressos no sistema de cor CIELAB.

A medida do pH foi realizada em pHmetro (HI 99163, Hanna Instruments Brasil, Barueri, SP, Brazil) em triplicata, na qual o embutido foi submetido a um corte transversal e introduzido o eletrodo diretamente no centro e nas bordas até a estabilização do equipamento.

A atividade de água foi realizada em equipamento Aqualab® 4TE (Decagon, São Paulo/SP, Brazil) após estabilização em 25°C em triplicata.

#### 4.6.3 Verificação da oxidação lipídica pelo método TBARS

A verificação da oxidação lipídica das formulações seguiu a metodologia descrita por Tarladgis *et al.* (1964) que foi modificada por Crackel *et al.* (1988). A análise foi realizada nos tempos 0, 15, 30, 45 e 60 dias. Foram utilizados 10 g de amostra submetidos a destilação com 98 mL de água deionizada, 2,5 mL de ácido clorídrico 4 Mol L<sup>-1</sup>, 2 mL de solução 0,5% de sulfanilamida em 20% de HCl e 5 gotas de antiespumante (8 partes de Span 80 + 1,3 partes de Tween 20) acrescido de 5 pérolas de vidro, em erlenmeyer de 500 mL. A amostra foi destilada por 10 minutos e coletada 50 mL em balão volumétrico. Em seguida foi transferido 5 mL do destilado homogeneizado e 5 mL do TBA 0,02 mol L<sup>-1</sup> para um tubo de ensaio com rosca, aquecido em banho-maria a 85 °C por 35 min, seguido do resfriamento em temperatura ambiente para leitura no espectrofotômetro UV - Visível a 530 nm. A curva de calibração foi feita usando de 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) (96%, Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, USA) em água fervida e resfriada na faixa de concentração de 0,004 a 1 Mol L<sup>-1</sup> em 8 pontos, em duplicata.

#### 4.6.4 Análise microbiológica das formulações das linguiças tipo calabresa

A análises microbiológicas de *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, Estafilococos coagulase (+) e *Escherichia coli*, conforme IN n° 161, de 1 de julho de 2022 que estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos (BRASIL, 2022c). Também foram realizadas análises para Aeróbios mesófilos e Bactérias ácido lácticas g<sup>-1</sup> (BAL) todos conforme metodologia adaptada de Ayad, Makni e Attia (2009) em

diluições seriadas apropriadas e semeadas em duplicata em Agar SPS (Sulfito-Polimixina-Sulfadiazina), Ágar BP (Baird-Parker), Agar VRB (Biliar Vermelho Violeta) Ágar Padrão de contagem (PCA) e Ágar MRS, todos da marca Merck

#### 4.6.5 Análise sensorial

A análise sensorial foi realizada com autorização do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UTFPR (parecer consubstanciado nº 3.913.717).

Participaram da análise 120 provadores não treinados. Antes de provar as amostras os provadores assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido e responderam um questionário para levantamento de dados sócio-demográficos e hábitos de consumo relacionados ao produto para caracterização da equipe. Também foram orientados quanto ao procedimento das análises.

As amostras foram avaliadas em Escala hedônica de 9 pontos (Apêndice A), sendo 1= Desgostei extremamente, 5= Nem gostei, nem desgostei e 9 = Gostei extremamente, também foi avaliada a intenção de compra.

As amostras foram aquecidas em forno elétrico a 45 °C e cortadas em fatias de 30 g aproximadamente, cada provador recebeu uma amostra codificada com 3 dígitos aleatórios por vez, e foram servidas de forma aleatória e balanceada. Os provadores foram instruídos de limpar o paladar com água em temperatura ambiente entre as amostras.

#### 4.6.6 Tratamento estatístico dos dados

Os resultados físico-químicos foram tratados estatisticamente por Análise de variância *one-way* (ANOVA) e para os resultados da análise sensorial foi usado Análise de variância *main effects* (ANOVA), seguidos pelo teste de comparação de médias de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) do programa Statistica 8.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA). Os resultados são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Caracterização da amostra e avaliação do impacto do armazenamento dos grãos de café verde sob congelamento na atividade antioxidante dos extratos de café

Na Tabela 3 estão apresentados os parâmetros de cor, umidade, cinzas de grãos de café canéfora e arábica verdes frescos (recém obtidos) e também de grãos canéfora verde armazenados sob congelamento pelo período de 1 ano e na Tabela 4 a atividade antioxidante dos extratos etanólicos obtidos destes respectivos grãos, a fim de avaliar a qualidade dos grãos a serem utilizados nos testes bem como a influência da estocagem destes sobre a qualidade antioxidante do extrato que será obtido.

**Tabela 3- Parâmetros de cor e teor de umidade e cinzas de grãos de café verde frescos e armazenados por 1 ano sob congelamento**

Amostra	Medida Instrumental de Cor			Umidade (%)	Cinzas (%)
	L*	a*	b*		
CC verde (Congelado)	54,73 ± 0,09 <sup>c</sup>	-0,37 ± 0,02 <sup>b</sup>	18,78 ± 0,15 <sup>b</sup>	12,57 ± 0,11 <sup>b</sup>	4,17 ± 0,17 <sup>a</sup>
CC verde (Fresco)	56,63 ± 0,42 <sup>b</sup>	0,14 ± 0,01 <sup>a</sup>	20,55 ± 0,35 <sup>a</sup>	12,88 ± 0,05 <sup>a</sup>	3,98 ± 0,11 <sup>a</sup>
CA verde (Fresco)	59,93 ± 1,13 <sup>a</sup>	-1,83 ± 0,19 <sup>c</sup>	18,94 ± 0,07 <sup>b</sup>	10,26 ± 0,06 <sup>c</sup>	4,05 ± 0,09 <sup>a</sup>

Resultados expressos pela média ± desvio padrão (n=3). CC: *Coffea canephora*; CA: *Coffea arabica*. Médias com diferentes letras minúsculas sobrescritas indicam diferença significativa entre as amostras pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

**Fonte: Autoria própria (2023)**

Comparando-se as amostras de café canéfora fresca com a congelada observa-se que a amostra fresca apresenta valor de L\* maior ( $p \leq 0,05$ ), indicando cor mais clara, bem como maior teor de umidade ( $p \leq 0,05$ ). Conforme Bastian *et al.* (2021), a cor dos grãos de café está intimamente relacionada com a qualidade do produto e, durante o armazenamento, os grãos têm sua cor alterada com o prolongamento do tempo de estocagem, passando da tonalidade verde-azulada, característica do produto de boa qualidade, à coloração marrom-clara e esbranquiçada, fenômeno conhecido como "branqueamento". No entanto, este efeito é citado para armazenamento a temperatura ambiente. Sob congelamento, observou-se efeito contrário, aumentando a tonalidade azul esverdeada após um ano, conforme demonstrado pelos resultados para os parâmetros a\* e b\*, maiores do que para os demais cafés avaliados ( $p \leq 0,05$ ). Portanto preservando a coloração durante a estocagem.

Em relação a umidade todas as amostras seguem os parâmetros considerados ideais descritos por Tripetch e Borompichaichartkul (2019), mantendo a umidade durante o armazenamento inferior a 14%, o que garante menor risco de desenvolvimento de fungos. Observou-se também diminuição na umidade da amostra de café canéfora com o armazenamento sob congelamento. Segundo PDG (2021). O armazenamento de café verde em temperaturas abaixo de zero ainda é um conceito razoavelmente novo, apesar da prática estar se tornando cada vez mais popular, já que o café verde é higroscópico e instável por longos períodos. A redução da temperatura de conservação deve evitar reações químicas que ocorrem ao longo do tempo (como envelhecimento), fazendo com que ocorram de forma extremamente lenta, e portanto, preservando. Em pesquisa similar com grãos armazenados em freezer por 75 dias, observou-se que o café a temperatura de congelamento perdeu umidade nas primeiras três semanas (aproximadamente 2%), nas demais não houve mais perda de umidade uma vez que a que está contida no grão condensou e, portanto, não pôde evaporar mais. O mesmo comportamento foi observado para várias espécies diferentes de café, indicando que todas as amostras de café verde se comportaram de maneira semelhante.

Na Tabela 4 a atividade antioxidante dos extratos etanólicos obtidos destes respectivos grãos, a fim de avaliar a qualidade dos grãos a serem utilizados nos testes bem como a influência da estocagem destes sobre a qualidade antioxidante do extrato que será obtido.

**Tabela 4- Comparação da atividade antioxidante de extratos de amostras frescas e armazenadas por um ano**

Amostra	Fenólicos Totais (g EAG 100 g <sup>-1</sup> b.s.)	Atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS <sup>•+</sup> (g EAT 100 g <sup>-1</sup> b.s.)	Atividade Antioxidante pela Captura do Radical Livre DPPH (g EAT 100 g <sup>-1</sup> b.s.)
CC verde (Congelado)	6,76 ± 0,13 <sup>a</sup>	11,23 ± 0,00 <sup>a</sup>	9,35 ± 0,08 <sup>a</sup>
CC verde (Fresco)	6,74 ± 0,02 <sup>a</sup>	11,49 ± 1,19 <sup>a</sup>	8,87 ± 0,29 <sup>a</sup>
CA verde (Fresco)	5,32 ± 0,16 <sup>b</sup>	10,23 ± 0,08 <sup>a</sup>	7,82 ± 0,22 <sup>b</sup>

EAG: Equivalente de Ácido Gálico; EAT: Equivalente Trolox; b.s: base seca; CC: *Coffea canephora*; CA: *Coffea arabica*. Resultados expressos pela média ± desvio padrão (Fenólicos Totais, DPPH e ABTS); Médias com diferentes letras sobrescritas indicam diferença significativa entre as extrações pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05).

**Fonte: Autoria própria (2023)**

Os resultados obtidos para fenólicos totais não diferiram (p ≥ 0,05) em relação ao armazenamento entre as amostras de café canéfora fresca e congelada. De acordo

com os dados obtidos no estudo conduzido por Jeszka-Skowron *et al.* (2017) na qual valores maiores de FT foram encontrados nos extratos de café canéfora em comparação ao café arábica, isso ocorre mesmo em grãos de diferentes origens. No estudo de Fetsch (2021) os valores encontrados também confirmam essa superioridade do café canéfora verde, já que os valores de FT variaram entre  $8,04 \pm 0,14$  e  $9,54 \pm 0,40$  e para os grãos de café arábica de  $5,72 \pm 0,17$  a  $6,35 \pm 0,20$ . Espera-se que amostras com maior teor de compostos fenólicos também possibilitem maior ação antioxidante, como é possível observar nos resultados da capacidade antioxidante avaliadas por outros métodos nesse estudo.

Avaliando-se o efeito do congelamento por 1 ano dos grãos é possível constatar a eficiência do método para conservação dos compostos com capacidade antioxidante dos grãos, conforme demonstrado pelos dados da Tabela 4, na qual observou-se que não ocorreu alterações significativas ( $p \geq 0,05$ ) na atividade antioxidante após o período de 1 ano para a amostra de café canéfora, segundo os três métodos utilizados na avaliação, sugerindo que houve preservação dos compostos bioativos do grão, evidenciando o congelamento como um método alternativo para manter da atividade antioxidante nos grãos, embora envolva custos.

Valores mais elevados de atividade antioxidante foram também observados quando comparado a espécie de café canéfora (fresco ou congelado) com a espécie arábica fresca, conforme o esperado segundo Vignoli, Bassoli e Benassi (2011). Segundo Babova, Occhipinti e Maffei (2016) a maior capacidade da espécie canéfora se justifica pelos altos teores de ácidos clorogênicos e cafeína, permitindo maior ação antioxidante em comparação com grãos de café arábica.

. Portanto, para estudo sequente do processo de extração foi utilizado a espécie *Coffea canephora*, o qual foi mantido estocado congelado durante todo o estudo.

## **5.2 Avaliação da capacidade antioxidante *in vitro* de extratos de café verde obtidos em diferentes condições de extração**

Na Tabela 5 são apresentados os resultados obtidos para o teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante pelos métodos de Folin Ciocalteau, ABTS, DPPH e FRAP de extratos de grãos de café canéfora verdes obtidos pela extração sólido-líquido sob agitação constante em shaker ou extração assistida por EUA. A

composição dos solventes eutéticos profundos sintetizados foram apresentados na Tabela 1.

**Tabela 5- Influência de diferentes tratamentos na extração de compostos fenólicos e capacidade antioxidante de grãos de café canéfora verdes**

(continua)

Solvente	Banho Ultrassônico	Incubadora Shaker
	Fenólicos Totais (g EAG 100 g <sup>-1</sup> de amostra b.s.)	
[Ch]Cl:AA 1:2	6,50 ± 0,04 <sup>bc</sup>	6,01 ± 0,19 <sup>cd</sup>
[Ch]Cl:AA 1:4	4,16 ± 0,16 <sup>f</sup>	5,99 ± 0,24 <sup>cd</sup>
[Ch]Cl:G 1:1	1,72 ± 0,36 <sup>i</sup>	3,06 ± 0,28 <sup>ghi</sup>
[Ch]Cl:G 5:2	3,40 ± 0,09 <sup>g</sup>	2,73 ± 0,07 <sup>hi</sup>
[Ch]Cl:AC 1:1	2,68 ± 0,09 <sup>i</sup>	2,94 ± 0,06 <sup>ghi</sup>
[Ch]Cl:AC 2:1	1,14 ± 0,12 <sup>j</sup>	2,92 ± 0,16 <sup>ghi</sup>
[Ch]Cl:AL 1:1	2,56 ± 0,12 <sup>j</sup>	4,88 ± 0,22 <sup>e</sup>
[Ch]Cl:AL 1:2	3,32 ± 0,11 <sup>gh</sup>	5,85 ± 0,25 <sup>d</sup>
ET 34,2%	6,67 ± 0,13 <sup>b</sup>	7,60 ± 0,07 <sup>a</sup>
Água	6,65 ± 0,43 <sup>b</sup>	6,53 ± 0,25 <sup>bc</sup>
<b>Atividade Antioxidante pela Captura do Radical Livre DPPH (g EqTrolox 100 g<sup>-1</sup> de amostra b.s.)</b>		
[Ch]Cl:AA 1:2	8,46 ± 0,13 <sup>d</sup>	6,24 ± 0,15 <sup>f</sup>
[Ch]Cl:AA 1:4	5,93 ± 0,15 <sup>f</sup>	7,39 ± 0,15 <sup>e</sup>
[Ch]Cl:G 1:1	4,19 ± 0,09 <sup>h</sup>	3,03 ± 0,08 <sup>jk</sup>
[Ch]Cl:G 5:2	5,12 ± 0,08 <sup>g</sup>	2,57 ± 0,01 <sup>lm</sup>
[Ch]Cl:AC 1:1	3,29 ± 0,02 <sup>j</sup>	2,19 ± 0,05 <sup>mn</sup>
[Ch]Cl:AC 2:1	2,80 ± 0,06 <sup>kl</sup>	1,95 ± 0,11 <sup>n</sup>
[Ch]Cl:AL 1:1	3,75 ± 0,08 <sup>i</sup>	3,91 ± 0,01 <sup>hi</sup>
[Ch]Cl:AL 1:2	4,10 ± 0,10 <sup>h</sup>	4,11 ± 0,15 <sup>h</sup>
ET 34,2%	9,35 ± 0,08 <sup>b</sup>	8,89 ± 0,02 <sup>c</sup>
Água	11,24 ± 0,00 <sup>a</sup>	7,26 ± 0,15 <sup>e</sup>
<b>Atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS+• (g EqTrolox 100 g<sup>-1</sup> de amostra b.s.)</b>		
[Ch]Cl:AA 1:2	9,63 ± 0,20 <sup>cd</sup>	10,68 ± 0,46 <sup>bc</sup>
[Ch]Cl:AA 1:4	7,51 ± 0,10 <sup>ef</sup>	11,26 ± 0,28 <sup>b</sup>
[Ch]Cl:G 1:1	3,21 ± 0,00 <sup>i</sup>	4,95 ± 0,23 <sup>hi</sup>
[Ch]Cl:G 5:2	6,42 ± 0,20 <sup>fg</sup>	7,06 ± 0,11 <sup>fg</sup>
[Ch]Cl:AC 1:1	4,52 ± 0,00 <sup>hi</sup>	5,80 ± 0,23 <sup>gh</sup>
[Ch]Cl:AC 2:1	3,85 ± 0,10 <sup>i</sup>	4,64 ± 0,11 <sup>hi</sup>
[Ch]Cl:AL 1:1	8,42 ± 0,31 <sup>de</sup>	11,40 ± 0,59 <sup>b</sup>
[Ch]Cl:AL 1:2	6,26 ± 0,20 <sup>fg</sup>	11,25 ± 0,11 <sup>b</sup>
ET 34,2%	11,23 ± 0,00 <sup>b</sup>	16,10 ± 0,23 <sup>a</sup>
Água	16,74 ± 1,00 <sup>a</sup>	16,39 ± 0,11 <sup>a</sup>
<b>Poder redutor do íon ferro FRAP (g EqTrolox 100 g<sup>-1</sup> de amostra b.s.)</b>		
[Ch]Cl:AA 1:2	13,95 ± 0,79 <sup>ef</sup>	18,21 ± 1,46 <sup>bc</sup>
[Ch]Cl:AA 1:4	5,31 ± 0,76 <sup>hi</sup>	20,27 ± 0,66 <sup>b</sup>
[Ch]Cl:G 1:1	3,14 ± 0,39 <sup>ij</sup>	4,47 ± 0,06 <sup>hij</sup>
[Ch]Cl:G 5:2	11,66 ± 0,77 <sup>f</sup>	8,05 ± 0,36 <sup>g</sup>
[Ch]Cl:AC 1:1	8,08 ± 0,22 <sup>g</sup>	6,16 ± 0,39 <sup>gh</sup>
[Ch]Cl:AC 2:1	2,50 ± 0,27 <sup>i</sup>	15,04 ± 0,21 <sup>de</sup>
[Ch]Cl:AL 1:1	6,31 ± 0,03 <sup>gh</sup>	16,65 ± 0,24 <sup>cd</sup>
[Ch]Cl:AL 1:2	14,00 ± 0,06 <sup>e</sup>	19,52 ± 0,43 <sup>b</sup>

(conclusão)

Solvente	Banho Ultrassônico	Incubadora Shaker
	Poder redutor do íon ferro FRAP (g EqTrolox 100 g <sup>-1</sup> de amostra b.s.)	
ET 34,2%	8,19 ± 0,15 <sup>g</sup>	28,61 ± 0,18 <sup>a</sup>
Água	18,15 ± 1,24 <sup>bc</sup>	19,45 ± 0,30 <sup>b</sup>

EAG: Equivalente de Ácido Gálico; b.s: base seca; [Ch]Cl: Cloreto de colina; AA: Ácido acético; G: Glicose; AC: Ácido cítrico; AL: Ácido Lático; ET: Solução etanólica. Resultados expressos pela média ± desvio padrão (Atividade redutora, DPPH, ABTS e FRAP); Médias com diferentes letras sobrescritas indicam diferença significativa entre as extrações pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

**Fonte: A autoria própria (2023)**

Os resultados *in vitro* (Tabela 5) demonstraram maior eficiência nas extrações etanólicas 34,2% e aquosas, seguidas da extração com NADES [Ch]Cl:AA 1:2 e 1:4. Comparando os métodos de cada extração realizada, é possível afirmar que o emprego dos equipamentos produziu impactos distintos entre os diferentes solventes ( $p \leq 0,05$ ).

O método de Folin Ciocalteau é usado para estimar o teor de FT e a capacidade antioxidante (VIGNOLI, BASSOLI; BENASSI, 2011; VIGNOLI, et al., 2014; CORSO; VIGNOLI; BENASSI, 2016). Verificou-se que o maior teor obtido foi de  $7,60 \pm 0,07$  e o menor de  $1,14 \pm 0,12$  g de ácido gálico em  $100 \text{ g}^{-1}$  amostra (Tabela 5). O maior teor de FT foi obtido para o solvente ET 34,4% em shaker ( $p \leq 0,05$ ). Quando utilizado água em shaker e ET 34,2% e [Ch]Cl:AA 1:2 no banho ultrassônico os resultados também foram satisfatórios, embora, com diferença estatística ( $p \leq 0,05$ ) em relação ao ET 34,2% e shaker (Tabela 5).

Para o DPPH, os valores variaram de  $11,24 \pm 0,00$  a  $1,95 \pm 0,11$  g equivalente de Trolox  $100 \text{ g}^{-1}$  de amostra. O tratamento mais eficaz foi a água como solvente e extração assistida por EUA ( $p \leq 0,05$ ). A extração com solução etanólica tanto em shaker ou EUA, foi a segunda melhor opção.

Para a análise de ABTS (mg de Equivalente de Trolox  $100 \text{ g}^{-1}$  de amostra), os resultados obtidos ficaram entre  $16,74 \pm 1,00$  a  $3,21 \pm 0,00$ . Não se observou diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os tratamentos que utilizaram água e shaker ou água e EUA, bem como, para solução etanólica e shaker ( $p \leq 0,05$ ). Os 3 tratamentos quando comparados aos demais, apresentaram a maior atividade antioxidante por este método ( $p \leq 0,05$ ).

Os valores de FRAP (mg de Equivalente de Trolox  $100 \text{ g}^{-1}$  de amostra) também variaram significativamente ( $p \leq 0,05$ ), de  $28,61 \pm 0,18$  a  $2,50 \pm 0,27$ , sendo a maior atividade antioxidante observada no tratamento ET 34,2% em agitação

constante. Resultados satisfatórios embora significativamente menor (aproximadamente 33% menor) ( $p \leq 0,05$ ), foram observados nos tratamentos extraídos no agitação constante, com os solventes eutéticos [Ch]Cl:AA 1:4, [Ch]Cl:AC 2:1 e [Ch]Cl:AL 1:2 e água.

Portanto, de forma geral, considerando os resultados dos quatro métodos, que a agitação em agitadores tipo shaker é uma alternativa mais simples, e que a água é o solvente mais barato, inócuo e disponível, bem como o etanol, em relação aos solventes orgânicos pode ser considerado também o mais viável economicamente e em relação a toxidez, optou-se por dar continuidade no estudo utilizando-se extratos obtidos com água e solução etanólica 34,2% para aplicação em produto cárneo cozido linguiça tipo calabresa.

Ressalta-se, no entanto, que embora a eficiência dos NADES tenha sido inferior aos métodos tradicionais de extração, também é necessário avaliar o tempo de extração e outras composições de solventes eutéticos profundos naturais. No estudo conduzido por Ahmad *et al.* (2021) o uso de NADES composto de Betaína e Sorbitol 1,25:1,2 mol L<sup>-1</sup> na extração assistida por EUA demonstraram resultados promissores na condição otimizada por 60 minutos, extraindo maior teor de cafeína e ácidos clorogênicos dos grãos de café canéfora.

De acordo com Loukri *et al.* (2020) um empecilho no uso do NADES são as extensas interações das pontes de hidrogênio que os tornam viscosos, o que pode prejudicar a eficiência do solvente na extração devido à baixa interação do soluto com o solvente, uma solução seria adicionar água em pequenas concentrações (proporção de 1:6 mol L<sup>-1</sup>), que leva a uma redução da viscosidade, permitindo assim maior solubilização, melhorando a capacidade de extração. A aplicação de altas temperaturas também cooperam para difusão e solubilidade do soluto, embora temperaturas muito altas possam gerar degradação de compostos bioativos e menor rendimento por volatilização do solvente.

### 5.3 Comparação da atividade antioxidante dos extratos de *Coffea canephora* e antioxidante comercial

Extratos usando ambos os solventes ET 34,2% e água, na quantidade de 7 L cada, foram produzidos em agitação constante a 400 RPM por 15 minutos, a temperatura de 70 °C, na proporção de 5,6 g de amostra para cada 100 mL, e secos por atomização para posterior avaliação do comportamento como antioxidante em produto cárneo cozido linguiça calabresa.

Antes da aplicação dos extratos secos, eles foram analisados quanto a atividade antioxidante, visando avaliar os efeitos da secagem e comparar com o antioxidante sintético eritorbato de sódio, no intuito de determinar a quantidade necessária a ser aplicada no produto. Os resultados podem ser visualizados na Tabela 6.

**Tabela 6 - Comparativo da atividade antioxidante dos extratos aquoso e etanólico secos por spray dryer de café canéfora verde e do antioxidante sintético (Eritorbato de sódio)**

Antioxidante	Fenólicos Totais (g EAG 100 g <sup>-1</sup> )	AA pela Captura do Radical Livre DPPH (g EqTrolox 100 g <sup>-1</sup> )	Atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS+• (g Eq Trolox 100 g <sup>-1</sup> )	Atividade redutora do íon ferro FRAP (g EqTrolox 100g de amostra <sup>-1</sup> )
Extrato aquoso	24,63 ± 0,12 <sup>c</sup>	24,62 ± 0,27 <sup>c</sup>	73,63 ± 0,73 <sup>b</sup>	65,19 ± 0,90 <sup>c</sup>
Extrato etanólico	25,53 ± 0,15 <sup>b</sup>	27,25 ± 0,65 <sup>b</sup>	74,46 ± 1,49 <sup>b</sup>	69,85 ± 0,03 <sup>b</sup>
Eritorbato de sódio	59,63 ± 0,14 <sup>a</sup>	103,30 ± 1,37 <sup>a</sup>	141,32 ± 1,88 <sup>a</sup>	178,71 ± 0,24 <sup>a</sup>

EAG: Equivalente de Ácido Gálico; Resultados expressos pela média ± desvio padrão (Atividade redutora, DPPH, ABTS e FRAP); médias com diferentes letras sobrescritas indicam diferença significativa entre as amostras pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

**Fonte: Autoria própria (2023)**

O extrato seco etanólico demonstrou atividade antioxidante estatisticamente superior em relação ao extrato seco aquoso (Tabela 6) ( $p \leq 0,05$ ), para FT, captura do radical livre DPPH e Atividade redutora do íon ferro FRAP, mas não houve diferença estatística para atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS+•.

Em relação a capacidade antioxidante total obtida pelos resultados em FT o extrato seco obtido da extração etanólica demonstrou-se superior, correspondendo a 42,81% da atividade antioxidante do eritorbato de sódio em comparação ao do extrato seco obtido pela extração aquosa com 41,30%. O mesmo foi observado pelo método DPPH, ABTS, FRAP. Portanto, considerando optou-se por testar no produto cárneo, ambos os extratos, etanólico e aquoso, nas concentrações 0,3% e 0,8%, ou seja 3 e

8 vezes mais que o antioxidante sintético (0,1%), visando garantir a concentração mínima necessária na elaboração do produto. Aplicação dos extratos em linguiça tipo calabresa

### 5.3.1 Composição centesimal

Na Tabela 7 pode-se visualizar a composição química das cinco formulações de linguiça tipo calabresa desenvolvidas.

**Tabela 7- Composição centesimal (base úmida) das amostras de linguiça tipo calabresa elaboradas com antioxidante sintético e extratos aquoso e etanólico de café canéfora verde**  
**Composição (g/ 100g)**

Amostra	Proteína bruta	Lipídios	Umidade	Cinzas	Carboidratos totais
P	14,76 ± 1,66 <sup>a</sup>	23,72 ± 1,65 <sup>a</sup>	51,83 ± 1,61 <sup>a</sup>	4,77 ± 0,17 <sup>a</sup>	4,90
EA 0,3%	14,62 ± 1,22 <sup>a</sup>	22,28 ± 1,81 <sup>a</sup>	54,11 ± 1,53 <sup>a</sup>	4,93 ± 0,07 <sup>a</sup>	4,03
EE 0,3%	14,07 ± 1,53 <sup>a</sup>	23,20 ± 1,56 <sup>a</sup>	54,38 ± 0,63 <sup>a</sup>	4,89 ± 0,13 <sup>a</sup>	3,44
EA 0,8%	14,36 ± 0,24 <sup>a</sup>	22,39 ± 0,89 <sup>a</sup>	52,68 ± 1,91 <sup>a</sup>	4,90 ± 0,08 <sup>a</sup>	5,65
EE 0,8%	14,76 ± 1,21 <sup>a</sup>	22,05 ± 1,68 <sup>a</sup>	55,57 ± 1,72 <sup>a</sup>	4,84 ± 0,02 <sup>a</sup>	3,15

P: Linguiça calabresa formulação padrão (0,1% Eritorbato de sódio); EA 0,3%: Linguiça calabresa com 0,3% de extrato aquoso de café canéfora; EE 0,3%: Linguiça calabresa com 0,3% de extrato etanólico de café canéfora; EA 0,8%: Linguiça calabresa com 0,8% de extrato aquoso café canéfora; EE 0,8%: Linguiça calabresa com 0,8% de extrato etanólico de café canéfora; b.u.: base úmida; Resultados expressos pela média ± desvio padrão (n=3). Médias com diferentes letras sobrescritas indicam diferença significativa entre as amostras pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

**Fonte: Autoria própria (2022)**

De acordo com a Tabela 7, as formulações estão de acordo com o Regulamento técnico de identidade e qualidade de linguiça calabresa da IN nº 4 de 31 de março de 2000 (BRASIL, 2000), que estabelece teores máximo de umidade (60%), extrato etéreo (35%) e teor mínimo de proteína (14%). As amostras não apresentaram diferença significativa entre si na composição centesimal pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

### 5.3.2 Medida instrumental de cor, pH e atividade de água ( $A_w$ )

Os parâmetros de cor, externa e interna das peças de linguiça tipo calabresa das 5 formulações durante armazenamento por 60 dias a 21 °C podem ser visualizados na Tabela 8.

Tabela 8 – Medidas de cor (L\*, a\* e b\*) externa e interna das amostras de linguça tipo calabresa durante 60 dias de armazenamento a 21 °C

Cor	Dias	P	EA 0,3%	EE 0,3%	EA 0,8%	EE 0,8%
<b>Cor Externa</b>						
<b>L*</b>	0	46,76 ± 1,84 <sup>aA</sup>	44,82 ± 1,43 <sup>aA</sup>	46,43 ± 1,51 <sup>aA</sup>	47,24 ± 0,58 <sup>aA</sup>	42,12 ± 0,99 <sup>bC</sup>
	15	49,66 ± 1,02 <sup>aA</sup>	46,30 ± 0,84 <sup>bA</sup>	45,43 ± 0,91 <sup>bcA</sup>	43,83 ± 1,73 <sup>cB</sup>	40,73 ± 1,19 <sup>dC</sup>
	30	47,70 ± 2,66 <sup>aA</sup>	46,33 ± 1,86 <sup>aA</sup>	46,01 ± 1,88 <sup>aA</sup>	49,12 ± 0,86 <sup>aA</sup>	48,91 ± 0,61 <sup>aA</sup>
	45	46,37 ± 2,30 <sup>aA</sup>	45,60 ± 2,40 <sup>aA</sup>	47,67 ± 1,99 <sup>aA</sup>	47,02 ± 2,08 <sup>aA</sup>	46,89 ± 1,48 <sup>aAB</sup>
	60	46,43 ± 0,89 <sup>abA</sup>	45,30 ± 0,63 <sup>abA</sup>	46,49 ± 0,19 <sup>abA</sup>	47,20 ± 0,90 <sup>aA</sup>	45,00 ± 1,76 <sup>bB</sup>
<b>a*</b>	0	18,00 ± 0,75 <sup>aA</sup>	17,53 ± 0,60 <sup>aA</sup>	16,02 ± 0,65 <sup>bA</sup>	15,46 ± 0,65 <sup>bA</sup>	15,51 ± 0,86 <sup>bA</sup>
	15	15,04 ± 2,08 <sup>aAB</sup>	15,01 ± 1,65 <sup>aB</sup>	13,15 ± 0,91 <sup>aB</sup>	13,11 ± 1,32 <sup>aB</sup>	13,78 ± 0,63 <sup>aA</sup>
	30	13,27 ± 2,94 <sup>aB</sup>	11,30 ± 0,51 <sup>abC</sup>	9,74 ± 0,61 <sup>cD</sup>	11,98 ± 0,17 <sup>abB</sup>	9,20 ± 1,68 <sup>cB</sup>
	45	15,03 ± 1,42 <sup>aAB</sup>	12,12 ± 0,93 <sup>bC</sup>	11,31 ± 1,19 <sup>bCD</sup>	12,20 ± 0,73 <sup>bB</sup>	9,37 ± 0,43 <sup>cB</sup>
	60	16,54 ± 0,72 <sup>aAB</sup>	13,07 ± 1,24 <sup>bBC</sup>	12,00 ± 0,67 <sup>bBC</sup>	11,97 ± 0,55 <sup>bB</sup>	10,30 ± 0,33 <sup>cB</sup>
<b>b*</b>	0	24,95 ± 2,32 <sup>aA</sup>	23,51 ± 1,02 <sup>abA</sup>	24,85 ± 1,00 <sup>aA</sup>	24,54 ± 1,39 <sup>aA</sup>	21,74 ± 1,12 <sup>bA</sup>
	15	23,70 ± 1,30 <sup>aA</sup>	21,77 ± 1,79 <sup>abAB</sup>	21,65 ± 1,87 <sup>abB</sup>	21,40 ± 1,01 <sup>abBC</sup>	20,19 ± 0,79 <sup>bA</sup>
	30	24,49 ± 1,81 <sup>aA</sup>	20,43 ± 0,74 <sup>bcB</sup>	18,28 ± 0,71 <sup>cdD</sup>	21,98 ± 0,69 <sup>bB</sup>	17,26 ± 1,35 <sup>dB</sup>
	45	23,04 ± 1,10 <sup>aA</sup>	19,72 ± 0,56 <sup>cB</sup>	19,39 ± 0,64 <sup>cCD</sup>	21,34 ± 0,51 <sup>bBC</sup>	16,59 ± 0,73 <sup>dB</sup>
	60	24,18 ± 1,82 <sup>aA</sup>	20,45 ± 1,09 <sup>bB</sup>	21,18 ± 0,56 <sup>bBC</sup>	19,93 ± 0,82 <sup>bC</sup>	16,99 ± 0,52 <sup>cB</sup>
<b>Cor Interna</b>						
<b>L*</b>	0	57,22 ± 2,23 <sup>aA</sup>	54,44 ± 0,53 <sup>abAB</sup>	55,99 ± 1,17 <sup>abAB</sup>	55,86 ± 1,04 <sup>abB</sup>	54,07 ± 2,09 <sup>bA</sup>
	15	54,29 ± 0,96 <sup>aAB</sup>	54,58 ± 0,48 <sup>aAB</sup>	55,41 ± 0,95 <sup>aAB</sup>	55,50 ± 0,92 <sup>aB</sup>	53,23 ± 2,15 <sup>aA</sup>
	30	56,92 ± 2,26 <sup>aA</sup>	55,77 ± 2,01 <sup>aA</sup>	57,50 ± 3,24 <sup>aA</sup>	57,72 ± 1,22 <sup>aA</sup>	54,87 ± 1,26 <sup>aA</sup>
	45	55,56 ± 1,38 <sup>aAB</sup>	56,06 ± 2,36 <sup>aA</sup>	54,31 ± 0,91 <sup>abB</sup>	54,73 ± 0,56 <sup>aBC</sup>	51,62 ± 2,08 <sup>bA</sup>
	60	53,76 ± 0,87 <sup>aB</sup>	52,37 ± 1,03 <sup>aB</sup>	53,75 ± 0,70 <sup>aB</sup>	53,42 ± 0,42 <sup>aC</sup>	52,63 ± 1,04 <sup>aA</sup>
<b>a*</b>	0	13,14 ± 1,86 <sup>aA</sup>	14,60 ± 0,42 <sup>aA</sup>	13,30 ± 0,73 <sup>aAB</sup>	13,06 ± 0,55 <sup>aA</sup>	13,51 ± 1,13 <sup>aA</sup>
	15	15,01 ± 0,66 <sup>aA</sup>	14,09 ± 0,56 <sup>abAB</sup>	12,81 ± 0,55 <sup>dAB</sup>	12,91 ± 0,24 <sup>cdAB</sup>	13,92 ± 0,60 <sup>bcA</sup>
	30	13,81 ± 1,53 <sup>aA</sup>	11,53 ± 2,14 <sup>aC</sup>	11,76 ± 1,63 <sup>aB</sup>	12,05 ± 0,59 <sup>aB</sup>	13,92 ± 0,48 <sup>aA</sup>
	45	14,79 ± 1,32 <sup>aA</sup>	12,14 ± 0,87 <sup>bBC</sup>	13,68 ± 0,38 <sup>abA</sup>	12,69 ± 0,45 <sup>bAB</sup>	13,12 ± 0,70 <sup>bA</sup>
	60	15,05 ± 0,53 <sup>aA</sup>	14,09 ± 0,76 <sup>aAB</sup>	12,79 ± 0,41 <sup>bAB</sup>	12,65 ± 0,59 <sup>bAB</sup>	14,06 ± 0,47 <sup>aA</sup>
<b>b*</b>	0	12,86 ± 0,80 <sup>bB</sup>	12,93 ± 0,39 <sup>bA</sup>	13,38 ± 0,69 <sup>abB</sup>	14,06 ± 0,37 <sup>aB</sup>	13,47 ± 0,54 <sup>abB</sup>
	15	14,85 ± 0,61 <sup>aA</sup>	13,93 ± 0,70 <sup>abA</sup>	13,33 ± 0,11 <sup>bB</sup>	14,62 ± 0,51 <sup>aAB</sup>	14,29 ± 0,73 <sup>aAB</sup>
	30	14,88 ± 0,93 <sup>aA</sup>	13,20 ± 1,05 <sup>bA</sup>	14,59 ± 0,92 <sup>abA</sup>	14,73 ± 0,25 <sup>abAB</sup>	15,63 ± 0,95 <sup>aA</sup>
	45	15,92 ± 0,47 <sup>aA</sup>	13,39 ± 1,01 <sup>bA</sup>	14,42 ± 0,42 <sup>bAB</sup>	14,77 ± 0,45 <sup>abAB</sup>	14,66 ± 1,07 <sup>abAB</sup>
	60	15,62 ± 0,23 <sup>aA</sup>	14,12 ± 0,30 <sup>cA</sup>	13,60 ± 0,46 <sup>cAB</sup>	14,84 ± 0,36 <sup>bA</sup>	15,27 ± 0,30 <sup>abA</sup>

P: Formulação padrão (0,1% Eritorbato de sódio); EA 0,3%: 0,3% de extrato aquoso de C. canéfora; EE 0,3%: 0,3% de extrato etanólico de C. canéfora; EA 0,8%: 0,8% de extrato aquoso C. canéfora; EE 0,8%: 0,8% de extrato etanólico de C. canéfora; Resultados expressos pela média ± desvio padrão. Médias com diferentes letras sobrescritas indicam diferença significativa entre as amostras pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

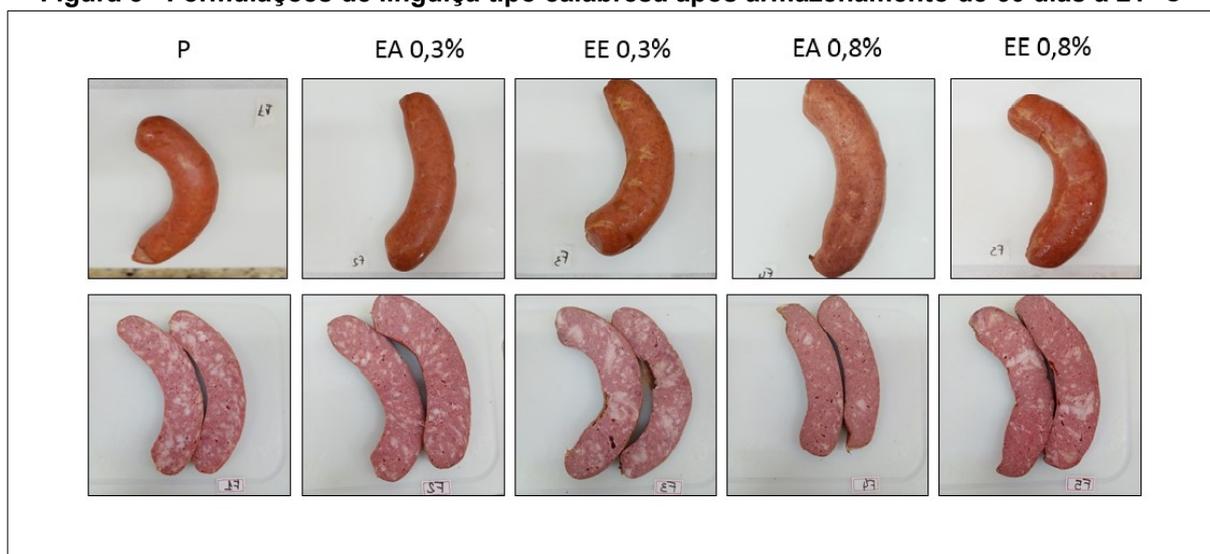
Fonte: Autoria própria (2022)

Observa-se que quanto maior os valores de  $L^*$ , maior a luminosidade e/ou brilho da amostra, de acordo com a Tabela 8, a medida de cor externa no tempo 0 demonstram que a amostra EE 0,8% foi a única que diferiu significativamente ( $p \leq 0,05$ ) em relação as outras formulações, no tempo 15, a amostra P demonstrou maior  $L^*$ , sendo uma constante até os 60 dias. A amostra EA 0,8% teve maior  $L^*$ . Isso demonstra que a adição do extrato teve influência na luminosidade, principalmente na amostra EE 0,8% deixando as amostras mais escuras. A adição do eritorbato de sódio na amostra P proporcionou maior luminosidade e estabilidade, tanto na cor externa como na cor interna ao longo dos 60 dias.

Em relação a cor vermelha ( $a^*$ ), ao longo dos 60 dias na medida externa todas as amostras tiveram diminuição do valor significativamente, embora a amostra P tendo maiores valores de  $a^*$  durante toda vida útil do produto. Na parte interna o P se manteve estável e com maior valor para  $a^*$ , as amostras com extrato de café variaram significativamente.

Para valores da cor amarela ( $b^*$ ) na parte externa as amostras também apresentaram diferença estatística, no tempo 0 somente para a amostra EE 0,8% com menor valor e dos 15 aos 60 dias as amostras demonstraram diferença ( $p \leq 0,05$ ) em relação a amostra P que tinha os maiores valores e estáveis. Na parte interna ao longo dos 60 dias todas as amostras tiveram aumento gradual dos valores de  $b^*$  sugerindo aumento da cor amarela.

A cor está diretamente relacionada com a proporção de oximioglobina vermelho brilhante ( $MbO_2$ ), mioglobina vermelho escuro ( $Mb$ ) e metamioglobina marrom acinzentada ( $MetMb$ ) presentes no alimento, como resultado da oxidação a coloração tende diminuir a tonalidade vermelha e aumentar a tonalidade amarelada, dando ao alimento coloração marrom/acastanhada. Embora tenha ocorrido a diminuição  $a^*$  e aumento do  $b^*$  pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ), sugerindo o início da oxidação, a amostra P se manteve estável tanto em todos os parâmetros externos e  $L^*$  e  $a^*$  internos o que também foi relatado no estudo de Shang *et al.* (2020) sobre a manutenção da cor vermelha em embutidos com uso de eritorbato de sódio, sendo possível observá-las aos 60 dias (Figura 3).

**Figura 3– Formulações de linguiça tipo calabresa após armazenamento de 60 dias a 21 °C**

Fonte: Autoria própria (2023)

Os valores de pH das formulações durante os 60 dias estão descritos na Tabela 9.

**Tabela 9 - Valores de pH para as linguiças tipo calabresa com extrato de café verde e com eritorbato de sódio durante 60 dias armazenadas a 21 °C ± 1**

Tempo (dias)	P	EA 0,3%	EE 0,3%	EA 0,8%	EE 0,8%
0	6,05 ± 0,03 <sup>aA</sup>	6,08 ± 0,01 <sup>aA</sup>	6,06 ± 0,00 <sup>aA</sup>	5,99 ± 0,01 <sup>bD</sup>	5,97 ± 0,01 <sup>bA</sup>
15	6,05 ± 0,04 <sup>aA</sup>	6,06 ± 0,01 <sup>aA</sup>	6,06 ± 0,02 <sup>aA</sup>	6,03 ± 0,01 <sup>aCD</sup>	5,96 ± 0,02 <sup>bA</sup>
30	5,92 ± 0,02 <sup>bB</sup>	5,85 ± 0,02 <sup>cBC</sup>	5,85 ± 0,02 <sup>cC</sup>	6,06 ± 0,01 <sup>aBC</sup>	5,75 ± 0,01 <sup>dB</sup>
45	6,05 ± 0,02 <sup>aA</sup>	5,75 ± 0,15 <sup>bC</sup>	5,98 ± 0,02 <sup>aB</sup>	6,08 ± 0,03 <sup>aB</sup>	5,74 ± 0,08 <sup>bB</sup>
60	6,11 ± 0,01 <sup>aA</sup>	6,01 ± 0,05 <sup>cB</sup>	6,06 ± 0,02 <sup>bcA</sup>	6,15 ± 0,01 <sup>aA</sup>	5,58 ± 0,02 <sup>dC</sup>

P: Linguiça calabresa formulação padrão (0,1% Eritorbato de sódio); EA 0,3%: Linguiça calabresa com 0,3% de extrato aquoso de café canéfora; EE 0,3%: Linguiça calabresa com 0,3% de extrato etanólico de café canéfora; EA 0,8%: Linguiça calabresa com 0,8% de extrato aquoso café canéfora; EE 0,8%: Linguiça calabresa com 0,8% de extrato etanólico de café canéfora; 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 ≤ 0,05).

Fonte: Autoria própria (2022)

Os valores de pH oscilaram em todas as amostras ao longo dos 60 dias conforme apresentado na Tabela 9. No tempo 0 e 15 as amostras P, EA 0,3% e EE 0,3% ficaram estáveis, após os 30 dias tiveram uma leve acidificação. Na amostra EE 0,8% a acidificação foi constante sendo o valor 5,58 no 60° dia. De acordo com Puolanne, Ruusunena e Vainionpää (2001) o pH dos embutidos é dependente de fatores intrínsecos, como pH da carne, teor de NaCl e demais ingredientes da sua formulação, a redução do pH sugere perda da capacidade de reter água, podendo

interferir na suculência e maciez do alimento. A maior acidez no tempo 0 foi constatada nas amostras com maior adição de extrato seco (0,8%). Valores de pH entre 5,0 e 5,5 são relatados em embutidos fermentados como no estudo de Lorenzo *et al.* (2013), porém não é desejável em linguiças tipo calabresa.

Na Tabela 10 são apresentados os valores de  $A_w$  das formulações durante o armazenamento.

**Tabela 10 - Valores de atividade de água ( $A_w$ ) para as linguiças tipo calabresa com extrato de café verde e com eritorbato de sódio durante a vida útil de 60 dias**

Tempo (dias)	P	EA 0,3%	EE 0,3%	EA 0,8%	EE 0,8%
0	0,9449 ± 0,002 <sup>aAB</sup>	0,9482 ± 0,003 <sup>aAB</sup>	0,9517 ± 0,000 <sup>aAB</sup>	0,9449 ± 0,003 <sup>aB</sup>	0,9501 ± 0,002 <sup>aB</sup>
15	0,9500 ± 0,002 <sup>aA</sup>	0,9517 ± 0,003 <sup>aA</sup>	0,9550 ± 0,000 <sup>aA</sup>	0,9525 ± 0,001 <sup>aA</sup>	0,9527 ± 0,001 <sup>aB</sup>
30	0,9380 ± 0,001 <sup>cB</sup>	0,9540 ± 0,000 <sup>abA</sup>	0,9517 ± 0,002 <sup>bAB</sup>	0,9510 ± 0,000 <sup>bA</sup>	0,9577 ± 0,000 <sup>aA</sup>
45	0,9363 ± 0,004 <sup>bcB</sup>	0,9451 ± 0,000 <sup>aB</sup>	0,9401 ± 0,003 <sup>abcC</sup>	0,9343 ± 0,001 <sup>dC</sup>	0,9426 ± 0,002 <sup>abC</sup>
60	0,9402 ± 0,005 <sup>bAB</sup>	0,9483 ± 0,001 <sup>aAB</sup>	0,9459 ± 0,000 <sup>abC</sup>	0,9426 ± 0,001 <sup>abB</sup>	0,9481 ± 0,000 <sup>aB</sup>

Linguiça calabresa formulação padrão (0,1% Eritorbato de sódio); EA 0,3%: Linguiça calabresa com 0,30% de extrato aquoso de café canéfora; EE 0,3%: Linguiça calabresa com 0,3% de extrato etanólico de café canéfora; EA 0,8%: Linguiça calabresa com 0,8% de extrato aquoso café canéfora; EE 0,8%: Linguiça calabresa com 0,8% de extrato etanólico de café canéfora; 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 (2023)**

As amostras, de modo geral, tiveram diminuição nos valores de  $A_w$ , sendo que no tempo 0 e 15 não houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre as formulações (Tabela 10). A amostra P teve menor valor para  $A_w$  após 60 dias de armazenamento. A  $A_w$  está intimamente ligada a textura e ao desenvolvimento microbiano, sendo maior quando há água livre para ser usada no metabolismo dos micro-organismos, no caso de alimentos ricos em macro e micronutrientes, isso é um fator determinante para a rápida deterioração.

Embora a  $A_w$  oscilaram entre 0,934 a 0,955 para as linguiças tipo calabresa neste experimento, no estudo conduzido por Santos (2006) que avaliou a influência do tratamento de tripas suínas naturais com soluções emulsificantes de grau alimentar (lecitina de soja) no aumento do rendimento de processo de embutimento de linguiça calabresa, a  $A_w$  variou de 0,935 a 0,951 e no estudo de Schwert (2009) que comparou o uso do método tradicional de defumação em comparação ao uso de fumaça líquida,

a  $A_w$  variou de 0,951 a 0,968, demonstrando que os valores deste estudo estão dentro dos descritos na literatura.

### 5.3.3 Medida de oxidação lipídica (TBARS)

Na Tabela 11 estão dispostos os resultados da oxidação lipídica das diferentes amostras de calabresa durante 60 dias sob armazenamento em temperatura ambiente de  $21\text{ }^\circ\text{C} \pm 1$ . Os valores de TBARS refletem o teor de malonaldeído, que são produtos da oxidação lipídica, formados a partir da degradação de hidroperóxidos e peróxidos lipídicos, que causam alterações sensoriais indesejáveis, como odor e sabor de ranço (WENJIAO, 2014).

De acordo com Ahmad e Srivastava (2007) o teor de TBARS entre 0,5 e 1,0  $\text{mg kg}^{-1}$  não são perceptíveis sensorialmente, mostrando que todas as amostras estão dentro dos limites aceitáveis.

**Tabela 11- Teor de oxidação lipídica das amostras de linguiça tipo calabresa durante vida útil de 60 dias**

Tempo (dias)	P	EA 0,3%	EE 0,3%	EA 0,8%	EE 0,8%
0	$0,06 \pm 0,00^{bC}$	$0,25 \pm 0,05^{aA}$	$0,06 \pm 0,00^{bB}$	$0,07 \pm 0,00^{bCD}$	$0,07 \pm 0,01^{bC}$
15	$0,15 \pm 0,01^{abBC}$	$0,17 \pm 0,00^{aA}$	$0,11 \pm 0,01^{cAB}$	$0,11 \pm 0,01^{cC}$	$0,12 \pm 0,01^{bcB}$
30	$0,30 \pm 0,01^{aAB}$	$0,15 \pm 0,00^{bA}$	$0,09 \pm 0,00^{cdB}$	$0,06 \pm 0,00^{dD}$	$0,11 \pm 0,01^{cB}$
45	$0,17 \pm 0,00^{bBC}$	$0,28 \pm 0,02^{aA}$	$0,17 \pm 0,01^{bA}$	$0,18 \pm 0,01^{bB}$	$0,19 \pm 0,01^{bA}$
60	$0,45 \pm 0,09^{aA}$	$0,21 \pm 0,09^{abA}$	$0,12 \pm 0,03^{bAB}$	$0,26 \pm 0,03^{abA}$	$0,09 \pm 0,00^{bBC}$

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 ( $p \leq 0,05$ ).

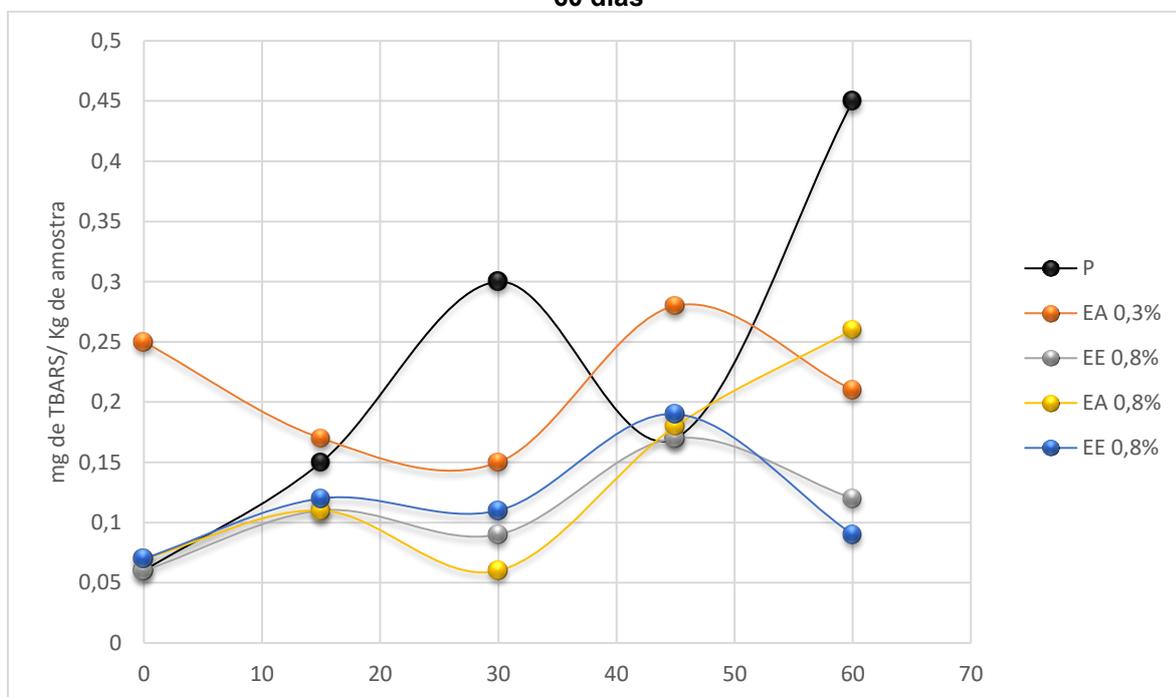
**Fonte: Autoria própria (2023)**

Os resultados evidenciaram diferença estatística ( $p \leq 0,05$ ), no teste de Tukey para  $\text{mg}$  de TBARS  $\text{kg}^{-1}$  de amostra. As amostras EE 0,3%, EA 0,8% e EE 0,8% com adição dos extratos secos de *Coffea canephora*, proporcionaram atividade antioxidante superior a amostra padrão (antioxidante sintético) após os 60 dias de armazenamento em temperatura de  $21\text{ }^\circ\text{C} \pm 1$  (Figura 4), reduzindo a formação de compostos resultantes da oxidação lipídica como o malonaldeído. O extrato etanólico seco também demonstrou mais eficácia em comparação ao aquoso, tanto na concentração de 0,3% como na 0,8%. Resultados semelhantes foram relatados no estudo de Mostafa e Azab (2022), em que o extrato de café verde foi adicionado a almôndegas bovinas refrigeradas por 14 dias, as amostras com 250, 500 e 1000 ppm de antioxidante natural garantiu maior estabilidade comparada ao controle e a amostra

com adição de ácido ascórbico. O extrato de casca de café extratora (água:etanol 1:1) 1:10 (p:v), seguida de incubação em banho-maria a 60 °C por 60 min também foi eficiente na proporção de (100 e 200 ppm) usados na formulação de hamburguês de frango durante armazenamento de 45 dias em comparação a amostra controle, as amostras foram analisadas congeladas e após o cozimento, sendo encontrado valores inferiores a 2,0 mg kg<sup>-1</sup> de malondialdeído segundo Marques *et al.* (2022).

De acordo com Wenjiao (2014), a temperatura de armazenamento influenciou significativamente no teor de TBARS em linguiças de carne suína, sendo maior em temperaturas mais elevadas, isso demonstra a eficiência do extrato seco mesmo em temperatura ambiente de 21 ± 1 °C.

**Figura 4– Gráfico de oxidação lipídica das amostras de linguiça calabresa durante vida útil de 60 dias**



Fonte: Autoria própria (2023)

Existem vários mecanismos de ação pelos quais os extratos podem inibir ou retardar a oxidação nos alimentos, um deles é o alto teor de compostos fenólicos que agem principalmente doando átomos de H, proporcionando ligações estáveis aos radicais livres. Outra forma é quelando agentes catalisadores da oxidação, como por exemplo, os íons metálicos que iniciam a reação oxidativa (AMARAL *et al.*, 2018).

### 5.3.4 Análise sensorial das formulações de linguiça calabresa

As análises microbiológicas estavam dentro dos parâmetros exigidos (Tabela 12) para produtos cárneos cozidos (BRASIL, 2022b), sendo própria para consumo.

**Tabela 12 – Qualidade microbiológicas das formulações de linguiça tipo calabresa**

Micro-organismos	Amostras					Legislação*
	P	EA 0,3%	EE 0,3%	EA 0,8%	EE 0,8%	
<i>Salmonella</i> 25 g <sup>-1</sup>	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus
<i>Clostridium perfringens</i> (UFC g <sup>-1</sup> )	<1,0x10 <sup>1</sup>	1,5x10 <sup>1</sup>	<1,0x10 <sup>1</sup>	<1,0x10 <sup>1</sup>	<1,0x10 <sup>1</sup>	10 <sup>3</sup>
Estafilococos coagulase (+) (UFC g <sup>-1</sup> )	<1,0x10 <sup>1</sup>	10 <sup>3</sup>				
<i>Escherichia coli</i> (UFC g <sup>-1</sup> )	<1,0x10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>				
Aeróbios mesófilos (UFC g <sup>-1</sup> )	0,5x10 <sup>1</sup>	5,5x10 <sup>2</sup>	1,5x10 <sup>1</sup>	1,5x10 <sup>1</sup>	4,5x10 <sup>1</sup>	-
Bactérias ácido lácticas (BAL) (UFC g <sup>-1</sup> )	<1,0x10 <sup>1</sup>	2,6x10 <sup>2</sup>	<1,0x10 <sup>1</sup>	<1,0x10 <sup>1</sup>	<1,0x10 <sup>1</sup>	-

\*Valores máximos para micro-organismos em produtos cárneos cozidos (Brasil, 2022).

Fonte: Autoria própria (2023)

Dos 120 provadores, 55,46% eram do sexo masculino e 44,54% do sexo feminino, com idades entre 18 e 65 anos, sendo a ampla maioria (96%) com idade de 18 a 36 anos. Em relação a escolaridade 75% disseram ter ensino superior incompleto, 16% Ensino médio completo e 9% ensino superior completo. Todos os participantes afirmaram que consomem produtos cárneos, sendo a frequência de consumo pelo menos 1 vez por semana para 70% dos participantes. Sobre o consumo específico de carne suína 89% disseram que consomem, sendo (40,17%) 3 vezes na semana, (37,60%) ocasionalmente, (15,38%) 1 vez ao mês, (5,98%) diariamente e menos de (1%) relataram que não consumiam nunca, sendo a linguiça calabresa citada por 52,2% dos entrevistados como produto cárneo mais consumido. Quando questionados se consumiam linguiça calabresa, 94,16% disseram que sim, sendo: (42,37%) ocasionalmente, (39,83%) 1 vez ao mês, (15,25%) 3 vezes por semana e (1,69%) diariamente. 81,51% relataram que buscam por alimentos naturais e quanto a compra dos alimentos levam em consideração aspectos como aparência (71,66%), preço (65%), prazo de validade (42,5), marca (30%) e qualidade nutricional (28,33).

A Tabela 13 apresenta as médias  $\pm$  desvio padrão das notas recebidas por escala hedônica de 9 pontos para as formulações desenvolvidas. Verificou-se que não houve diferença significativa entre as amostras pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

**Tabela 13 - Resultados da análise sensorial para as 5 formulações de linguiça calabresa**

Amostra	Análise sensorial				
	Aceitação Global	Aroma	Cor	Sabor	Textura
P	7,57 $\pm$ 1,20 <sup>a</sup>	7,41 $\pm$ 1,45 <sup>a</sup>	7,38 $\pm$ 1,54 <sup>a</sup>	7,70 $\pm$ 1,45 <sup>a</sup>	7,15 $\pm$ 1,69 <sup>a</sup>
EA 0,3%	7,27 $\pm$ 1,34 <sup>a</sup>	7,15 $\pm$ 1,36 <sup>a</sup>	7,21 $\pm$ 1,31 <sup>a</sup>	7,29 $\pm$ 1,62 <sup>a</sup>	6,93 $\pm$ 1,68 <sup>a</sup>
EE 0,3%	7,33 $\pm$ 1,44 <sup>a</sup>	7,24 $\pm$ 1,48 <sup>a</sup>	7,04 $\pm$ 1,73 <sup>a</sup>	7,32 $\pm$ 1,65 <sup>a</sup>	7,10 $\pm$ 1,80 <sup>a</sup>
EA 0,8%	7,59 $\pm$ 1,09 <sup>a</sup>	7,45 $\pm$ 1,25 <sup>a</sup>	7,20 $\pm$ 1,40 <sup>a</sup>	7,35 $\pm$ 1,30 <sup>a</sup>	7,40 $\pm$ 1,42 <sup>a</sup>
EE 0,8%	7,36 $\pm$ 1,42 <sup>a</sup>	7,44 $\pm$ 1,35 <sup>a</sup>	7,34 $\pm$ 1,56 <sup>a</sup>	7,26 $\pm$ 1,66 <sup>a</sup>	7,27 $\pm$ 1,60 <sup>a</sup>

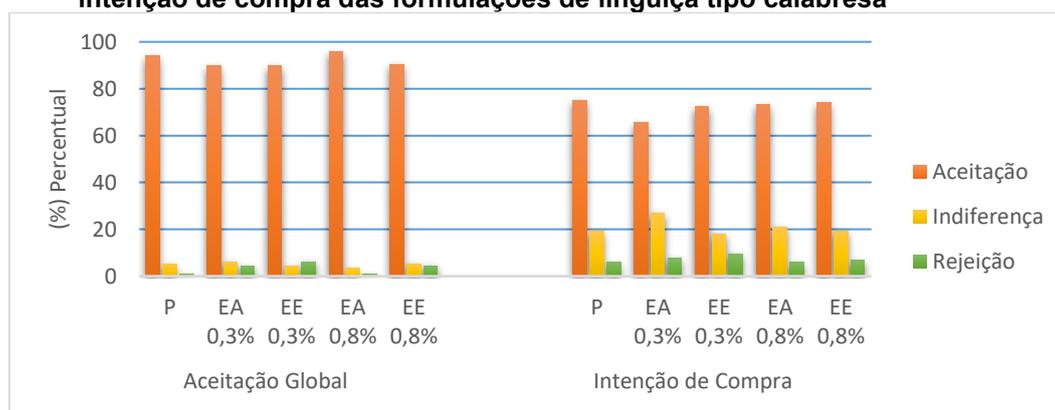
P: Linguiça calabresa formulação padrão (0,1% Eritorbato de sódio); EA 0,3%: Linguiça calabresa com 0,3% de extrato aquoso de café canéfora; EE 0,3%: Linguiça calabresa com 0,3% de extrato etanólico de café canéfora; EA 0,8%: Linguiça calabresa com 0,8% de extrato aquoso de café canéfora; EE 0,8%: Linguiça calabresa com 0,8% de extrato etanólico de café canéfora; Resultados expressos pela média  $\pm$  desvio padrão. Médias com diferentes letras sobrescritas indicam diferença significativa entre as amostras pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

**Fonte: Autoria própria (2023)**

De acordo com Pires *et al.* (2019) médias acima de 6,3 classificam as amostras como sendo bem aceitas, isso demonstra que tanto a amostra P, como as amostras com adição de extrato de café foram bem avaliadas pelos provadores.

O uso de outra metodologia também foi empregado para demonstrar os índices de aceitação, indiferença e rejeição em (%), levando em consideração a nota atribuída por cada provador, sendo as notas 6-9 (aceitação), 5 (indiferença) e 1-4 (rejeição).

**Figura 5 – Gráfico em (%) de aceitação, indiferença e rejeição em relação a aceitação global e intenção de compra das formulações de linguiça tipo calabresa**



**Fonte: Autoria própria (2023)**

De acordo com a Figura 5, a amostra EA 0,8% recebeu as seguintes avaliações: aceitação (95,72%), indiferença (3,41%) e rejeição (0,85%), seguida da

amostra P aceitação (94,06%), indiferença (5,08%) e rejeição (0,84%), EE 0,8% aceitação (90,35%), indiferença (5,25%) e rejeição (4,38%), EA 0,3% aceitação (89,65%), indiferença (6,03%) e rejeição (4,31%) e EE 0,3% com aceitação (89,65%), indiferença (4,31%) e rejeição (6,03%). Esses índices demonstram que a adição do extrato seco de café canéfora verde não causou impacto negativo em relação a amostra padrão, visto que a amostra EA 0,8% obteve nota superior na aceitação global em relação a amostra P.

Para intenção de compra o maior percentual foi para a amostra P aceitação (75%), indiferença (19,16%) e rejeição (5,83%), seguida EE 0,8% aceitação (73,94%), indiferença (19,32%) e rejeição (6,72%), amostra EA 0,8% aceitação (73,10%), indiferença (21%) e rejeição (5,88%), EE 0,3% com aceitação (72,41%), indiferença (18,10%) e rejeição (9,48%) e EA 0,3% aceitação (65,54%), indiferença (26,89%) e rejeição (7,56%).

## 6 CONCLUSÃO

Não houve redução no teor de compostos antioxidantes durante o armazenamento por congelamento durante o período de um ano da espécie *Coffea canephora* em comparação com a amostra fresca, sugerindo eficiência do congelamento na manutenção dos compostos antioxidantes.

As análises *in vitro* demonstram impacto dos tratamentos empregados na extração de compostos com capacidade antioxidante dos grãos de *Coffea canephora*, sendo possível sugerir que os teores de compostos bioativos presente nos extratos são dependentes de uma série de fatores, como solvente e método de extração. Dentre as extrações com maior atividade antioxidante foram as extraídas com água e ET 34,2% sob agitação em shaker.

Quanto aos extratos secos o ET 34,2% foi parcialmente superior ao extrato aquoso. O extrato de café aplicado na proporção 3x e 8x a mais que o eritorbato de sódio 0,1%, foi eficiente para retardar a oxidação lipídica em até os 60 dias, sendo a EE 0,8% com os melhores resultados. Embora todas as amostras estejam dentro do considerável aceitável para mg TBARS por kg de amostra em embutido cozido.

Em relação a aceitação sensorial, o impacto da adição do extrato foi positivo, sendo todas as notas superiores a 7,0 ( $p \leq 0,05$ ) indicando viabilidade do emprego do extrato seco de *Coffea canephora* como antioxidante em produto cárneo cozido tipo calabresa, sem descaracterizar o produto e fornecendo uma opção com menos aditivo sintético, podendo ser estendido o uso para outros produtos cárneos cozidos de composição similar. O uso de solventes eutéticos profundos se mostraram promissores, no entanto podem ser explorados em outras composições e condições de extração afim de se obter melhores resultados.

## REFERÊNCIAS

- AASLYNG, M. D.; MEINERT, L. Meat flavour in pork and beef - from animal to meal. **Meat Science**, v.132, p.112-117, 2017.
- AHMAD, I.; SYAKFANAYA, A. M.; AZMINAH, A.; SAPUTRI, F. C.; MUN'IM, A. *et al.* Optimization of betaine-sorbitol natural deep eutectic solvent-based ultrasound-assisted extraction and pancreatic lipase inhibitory activity of chlorogenic acid and caffeine content from robusta green coffee beans. **Heliyon**, v. 7, n. 8, p. e07702, 2021.
- AHMAD, S.; SRIVASTAVA, P.K. Quality and shelf life evaluation of fermented sausages of buffalo meat with different levels of heart and fat. **Meat Science**. v. 75, n. 4, p. 603-609, 2007.
- 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.
- ANUNCIATO, K. M.; PAES, N. L. Panorama da cadeia produtiva da suinocultura no estado de Mato Grosso. **Revista de Estudos Sociais**, v.18, n.36, p.107-140, 2016.
- AOAC – Association of Official Analytical Chemists - International. **Official methods of analysis of the association analytical chemists**. 18 ed. Gaithersburg, Maryland: AOAC, 2005.
- ARELLANO-GONZÁLEZ, M. A.; RAMÍREZ-CORONEL, A.; TORRES-MANCERA, T.; PÉREZ-MORALES, G. G.; SAUCEDO-CASTAÑEDA, G. Antioxidant activity of coffee pulp extracts. **Food Technology and Biotechnology**, v. 49, n. 3, p. 374-378, 2011.
- BABOVA, O.; OCCHIPINTI, A.; MAFFEI, M. E. Chemical partitioning and antioxidant capacity of green coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*) of different geographical origin. **Phytochemistry**, v. 123, p. 33-39, 2016.
- BASTIAN, F.; HUTABARAT, O. S.; DIRPAN, A., NAINU, F.; HARAPAN, H.; EMRAN, T. B.; SIMAL-GANDARA, J. From plantation to cup: changes in bioactive compounds during coffee processing. **Foods**, v. 10, n. 11, p. 2827, 2021.
- BERNARDI, D. M.; BERTOL, T. M.; PFLANZER, S. B.; SGARBIERI, V. C.; POLLONIO, M. A.  $\omega$ -3 in meat products: benefits and effects on lipid oxidative stability. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 8, p. 2620-2634, 2016.
- BERTOL, T. M.; OLIVEIRA, E. A.; SANTOS FILHO, J. I. Composição e aspectos de qualidade da carne suína. In: BERTOL, T. M. (Ed.). **Estratégias nutricionais para melhoria da qualidade da carne suína**. Brasília: Embrapa, 2019. p.12-38.
- BISWAS, A. K.; CHATLI, M. K.; SAHOO, J. Antioxidant potential of curry (*Murraya koenigii* L.) and mint (*Mentha spicata*) leaf extracts and their effect on colour and oxidative stability of raw ground pork meat during refrigeration storage. **Food Chemistry**, v. 133, n. 2, p. 467-472, 2012.

BOAVENTURA, P. S. M.; ABDALLA, C. C.; ARAÚJO, C. L.; ARAKELIAN, J. S. Cocriação de valor na cadeia do café especial: o movimento da terceira onda do café. **Revista de Administração de Empresas**, v. 58, n. 3, p. 254-266, 2018.

BOEIRA, C. P.; PIOVESAN, N.; FLORES, D.; SOQUETTA, M. B.; LUCAS, B. N.; HECK, R. T.; ALVES, J.; CAMPAGNOL, P.; DOS SANTOS, D.; FLORES, E.; DA ROSA, C. S.; TERRA, N. N. Phytochemical characterization and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* extract for application as natural antioxidant in fresh sausage. **Food Chemistry**, v. 319, 126553, 2020.

BOTSARIS, G.; ORPHANIDES, A.; YIANNAKOU, E.; GEKAS, V.; GOULAS, V. Antioxidant and antimicrobial effects of *Pistacia lentiscus* L. extracts in pork sausages. **Food Technology and Biotechnology**, v.53, n.4, p.472-478, 2015.

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

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 272, de 14 de março de 2019**. Estabelece os aditivos alimentares autorizados para uso em carnes e produtos cárneos. Diário Oficial da União, n.52, Seção 1, p.194, 18 de março, 2019.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/resolucao-rdc-no-12-de-2-de-janeiro-de-2001.pdf/view>. Acesso em: 25 fev. 2022a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Política Agrícola. **Sumário executivo – café**: fevereiro 2022. Brasília: MAPA, 2022b.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº 161, de 1 de julho de 2022**. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. Diário Oficial da União, n.126, Seção 1, p.235, 26 de julho, 2022c.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **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. Disponível em: <https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-sda-4-de-31-03-2000,662.html>. Acesso em: 25 fev. 2022.

BUDRYN, G.; NEBESNY, E. Effect of green and roasted coffee antioxidants on quality and shelf life of cookies and chocolates. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.37, n.5, p.835-845, 2013.

ÇAKMAKÇI, S.; TOPDAŞ, E.F.; KALIN, P.; HAN, H.; ŞEKERCI, P.; KÖSE, L.P.; GÜLÇİN, İ. Antioxidant capacity and functionality of oleaster (*Elaeagnus angustifolia* L.) flour and crust in a new kind of fruity ice cream. **International Journal of Food Science & Technology**, v.50, n.2, p.472-481, 2015.

- CARPENTER, R.; O'GRADY, M. N.; O'CALLAGHAN, Y. C.; O'BRIEN, N. M.; KERRY, J. P. Evaluation of the antioxidant potential of grape seed and bearberry extracts in raw and cooked pork. **Meat Science**, v.76, n.4, p.604-610, 2007.
- CARVALHO, A. C.; CARVALHO, D. F.; FILGUEIRAS, G. C.; ARAÚJO, A. C. S.; CARVALHO, A. V. Panorama e importância econômica do café no mercado internacional de commodities agrícolas: uma análise espectral. **Agroecosistemas**, v.9, n.2, p.223-222, 2017.
- CASTRO, A. C. C. M.; ODA, F. B.; ALMEIDA-CINCOTTO, M. G. J.; DAVANÇO, M. G.; CHIARI-ANDRÉO, B. G.; CICARELLI, R. M. B.; PECCININI, R. G.; ZOCCOLO, G. J.; RIBEIRO, P. R. V.; CORRÊA, M. A.; ISAAC, V. L. B.; SANTOS, A. G. G. Green coffee seed residue: A sustainable source of antioxidant compounds. **Food Chemistry**, v.246, p.48-57, 2018.
- CHANIOTI, S.; KATSOULI, M.; TZIA, C. Novel processes for the extraction of phenolic compounds from olive pomace and their protection by encapsulation. **Molecules**, v.26, n.6, p.1781, 2021.
- CHANIOTI, S.; TZIA, C. Extraction of phenolic compounds from olive pomace by using natural deep eutectic solvents and innovative extraction techniques. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.48, p.228-239, 2018.
- CORSO, M. P.; VIGNOLI, J. A.; BENASSI, M. T. Development of an instant coffee enriched with chlorogenic acids. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, p. 1380-1388, 2016.
- 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. 656-657, 1988.
- CUNHA, S.C.; FERNANDES, J.O. Extraction techniques with deep eutectic solvents. **Trends in Analytical Chemistry**, v.105, p.225-239, 2018.
- DABETIĆ, N.; TODOROVIĆ, V.; PANIĆ, M.; REDOVNIKOVIC, I.R.; ŠOBAJIĆ, S. Impact of deep eutectic solvents on extraction of polyphenols from grape seeds and skin. **Applied Sciences**, v.10, n.14, p.4830, 2020.
- DAI, Y.; VAN SPRONSEN, J.; WITKAMP, G.J.; VERPOORTE, R.; CHOI, Y.H. Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. **Analytica Chimica Acta**, v.766, p.61-68, 2013.
- DE LEON, J.A.D.; BORGES, C.R. Evaluation of oxidative stress in biological samples using the thiobarbituric acid reactive substances assay. **Journal of visualized Experiments**, n. 159, p. e61122, 2020.
- DE OLIVEIRA, V. S.; FERREIRA, F. S.; COPLE, M. C. R.; LABRE, T. D. S.; AUGUSTA, I. M.; GAMALLO, O. D.; SALDANHA, T. Use of natural antioxidants in the inhibition of cholesterol oxidation: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.17, n.6, p.1465-1483, 2018.

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, 2017.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **EMBRAPA suínos e aves**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/estatisticas/suinos/mundo>. Acesso em: 20 fev. 2022.

FACCHIN, I.; PASQUINI, C. Extração líquido-líquido em sistemas de fluxo. **Química Nova**, v.21, n.1, p.60-68, 1998.

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.

FETSCH, V. T. **Obtenção de extrato de café para aplicação como antioxidante natural em linguiça toscana**. 2021. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2021.

FU, X.; WANG, D.; BELWAL, T.; XU, Y.; LI, L.; LUO, Z. Sonication-synergistic natural deep eutectic solvent as a green and efficient approach for extraction of phenolic compounds from peels of *Carya cathayensis* Sarg. **Food Chemistry**, v.355, id.129577, p.1-12, 2021.

GREMSKI, L. A.; COELHO, A. L. K.; SANTOS, J. S.; DAGUER, H.; MOLOGNONI, L.; PRADO-SILVA, L.; SANT'ANA, A. S.; ROCHA, R. S.; DA SILVA, M. C.; CRUZ, A. G.; AZEVEDO, L.; DO CARMO, M.; WEN, M.; ZHANG, L.; GRANATO, D. Antioxidants-rich ice cream containing herbal extracts and fructooligosaccharides: Manufacture, functional and sensory properties. **Food Chemistry**, v.298, p. 125098, 2019.

GULCIN, İ. Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. **Archives of Toxicology**, v.94, n.3, p.651-715, 2020.

HAMMAD, S.F.; ABDALLAH, I.A.; BEDAIR, A.; MANSOUR, F.R. Homogeneous liquid-liquid extraction as an alternative sample preparation technique for biomedical analysis. **Journal of Separation Science**, v.45, n. 1, p.185-209, 2022.

HONORATO, T. C.; BATISTA, E.; NASCIMENTO, K. O.; PIRES, T. Aditivos alimentares: Aplicações e toxicologia. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.8, n.5, p.1-11, 2013.

HU, G. L.; WANG, X.; ZHANG, L.; QIU, M. H. The sources and mechanisms of bioactive ingredients in coffee. **Food & Function**, v.10, n.6, p.3113-3126, 2019.

ITC – International Trade Centre. **The coffee exporter's guide**. 3 ed. Geneva: ITC, 2011. 247 p. Disponível em: [www.intracen.org/workarea/downloadasset.aspx?id=58068](http://www.intracen.org/workarea/downloadasset.aspx?id=58068). Acesso em: 08 ago. 2021.

ITO, M.; GUIMARÃES, D.D.; AMARAL, G.F. Impactos ambientais da suinocultura: desafios e oportunidades. **BNDES Setorial**, n.44, p.125-156, 2016.

JESZKA-SKOWRON, M.; ZGOLA-GRZESKOWIAK, A.; WASKIEWICZ, A.; STEPIEN, L.; STANISZA, E. Positive and negative aspects of green coffee consumption – antioxidant activity versus mycotoxins. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 12, p. 4022-4028, mar. 2017.

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, out. 2019.

KIM, J.H.; AHN, D.U.; EUN, J.B.; MOON, S.H. antioxidant effect of extracts from the coffee residue in raw and cooked meat. **Antioxidants**, v.5, n.3, id.21, jul. 2016.

LEÃO, L. L.; OLIVEIRA, F. S.; SOUZA, R. S.; FARIAS, P. K. S.; FONSECA, F. S. A.; MARTINS, E.R.; SOUZA, R.M. Uso de antioxidantes naturais em carnes e seus subprodutos. **Cadernos de Ciências Agrárias**, v.9, n.1, p.94-100, 2017.

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, 2015.

LORENZO, J. M.; GONZALEZ-RODRIGUEZ, R. M.; SANCHEZ, M.; AMADO, I. R.; FRANCO, D. Effects of natural (grape seed and chestnut extract) and synthetic antioxidants (butylated hydroxytoluene, BHT) on the physical, chemical, microbiological and sensory characteristics of dry cured sausage 'chorizo'. **Food Research International**, v.54, p.611-620, 2013.

LORENZO, J. M.; SINEIRO, J.; AMADO, I. R.; FRANCO, D. Influence of natural extracts on the shelf life of modified atmosphere-packaged pork patties. **Meat Science**, v.96, n.1, p.526-534, 2014.

LUDWIG, I. A.; CLIFFORD, M. N.; LEAN, M. E.; ASHIHARA, H.; CROZIER, A. Coffee: biochemistry and potential impact on health. **Food & Function**, v.5, n.8, p.1695-1717, 2014.

MANSINHOS, I.; GONÇALVES, S.; RODRÍGUEZ-SOLANA, R.; ORDÓÑEZ-DÍAZ, J. L.; MORENO-ROJAS, J. M.; ROMANO, A. Ultrasonic-assisted extraction and natural deep eutectic solvents combination: a green strategy to improve the recovery of phenolic compounds from *Lavandula pedunculata* subsp. lusitanica (Chaytor) Franco. **Antioxidants**, v.10, n.4, id.582, p.1-21, 2021.

MARQUES, A. D. J. M.; TAVARES J. L.; CARVALHO, L. M.; ABREU, T. L.; PEREIRA, D. A.; SANTOS, M. M. F.; MADRUGA, M. S.; MEDEIROS, L. L.; BEZERRA, T. K. A. Oxidative stability of chicken burgers using organic coffee husk extract. **Food Chemistry**, v. 393, p. 133451, 2022.

MARTUSCELLI, M.; ESPOSITO, L.; MASTROCOLA, D. The role of coffee silver skin against oxidative phenomena in newly formulated chicken meat burgers after cooking. **Foods**, v.10, p. 1833, 2021.

MOSTAFA, H.S.; EL AZAB, E.F. Efficacy of green coffee as an antioxidant in beef meatballs compared with ascorbic acid. **Food Chemistry**: **X**, p. 100336, 2022.

NISSEN, L. R.; BYRNE, D. V.; BERTELSEN, G.; SKIBSTED, L. H. 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, 2004.

NUÑEZ DE GONZALEZ, M. T.; BOLEMAN, R. M.; MILLER, R. K.; KEETON, J. T.; RHEE, K. S. Antioxidant properties of dried plum ingredients in raw and precooked pork sausage. **Journal of Food Science**, v.73, n.5, p.63-71, 2008.

OECD/FAO - Organisation de Coopération et de Développement Économiques / Food and Agriculture Organization. Meat. In: **OECD-FAO agricultural outlook 2019-2028**. OECD-FAO, 2019. Cap.6, p.166-179. Disponível em: <http://www.fao.org/3/ca4076en/ca4076en.pdf>. Acesso em: 30 nov. 2020.

OIC – Organização Internacional do Café. **Relatório sobre o mercado de café, janeiro de 2022**. OIC, 2022.

OPITZ, S. E. W.; GOODMAN, B. A.; KELLER, M.; SMRKE, S.; WELLINGER, M.; SCHENKER, S.; YERETZIANA, C. Understanding the effects of roasting on antioxidant components of coffee brews by coupling on-line ABTS Assay to high performance size exclusion chromatography. **Phytochemical Analysis**, v.28, n.2, p.106-114, 2017.

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

PAIVA, A.; RANOCCHIA, K.; MARQUES, M.; DA SILVA, M. M.; COELHO, I.; SIMÕES, P. Evaluation of the quality of coffee extracts concentrated by osmotic evaporation. **Journal of Food Engineering**, v.222, p.178-184, 2018.

PARK, S. Y.; CHIN, K. B. Evaluation of pre-heating and extraction solvents in antioxidant and antimicrobial activities of garlic, and their application in fresh pork patties. **International Journal of Food Science & Technology**, v.45, n.2, p.365-373, jan. 2010.

PDG. Perfect Daily Grind. Can you freeze green coffee? Disponível em: <https://perfectdailygrind.com/2021/10/can-you-freeze-green-coffee/#:~:text=These%20experiments%20suggest%20that%20frozen,the%20shelves%2C%E2%80%9D%20Juliet%20says>. Acesso em: 26 nov. 2022.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**, v.39, n.7, p.791-800, 2006.

PERUZZOLO, M. C.; CRUZ, B. C. F.; RONQUI, L. Polinização e produtividade do café no Brasil. **PUBVET**, v.13, n.4, a317, p.1-6, abr. 2019.

PIRES, M. A. *et al.* Effect of replacing pork backfat with Echium oil on technological and sensory characteristics of bologna sausages with reduced sodium content. **LWT**, v. 109, p. 47-54, 2019.

POLJSAK, B.; KOVAČ, V.; MILISAV, I. Food processing and health: Antioxidants, **Antioxidants**, v.10, n.3, p.433, 2021.

PRETE, R. O.; SERAFIM, R. A.; SOUZA, D. F. M.; SAKANAKA, L. S.; YAMAGUCHI, M. M. Caracterização e aplicação de óleo de orégano como antioxidante natural em linguiça suína frescal. **Brazilian Journal of Development**, v.6, n.7, p.44109-44118, 2020.

PUOLANNE, E. J.; RUUSUNEN, M. H.; VAINIONPÄÄ, J. I. Combined effects of NaCl and raw meat pH on water-holding in cooked sausage with and without added phosphate. **Meat Science**, v. 58, n. 1, p. 1-7, 2001.

ROJAS, M. C.; BREWER, M. S. Effect of natural antioxidants on oxidative stability of cooked, refrigerated beef and pork. **Journal of Food Science**, v.72, n.4, p.282-288, 2007.

RUFINO, M. S. N. ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ - JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Comunicado Técnico**, n.127. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007.

SANTOS, E. **Avaliação das propriedades tecnológicas de tripas naturais submetidas ao tratamento com soluções emulsificantes**. 2006. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

SAVOLDI, D. C.; MENDONÇA, F. J.; VICENZI, B. G.; MARCHI, D. F.; MARCHI, J. F.; TONIAL, I. B.; SOARES, A. L. Evaluation of traditional Brazilian sausage (linguiça calabresa) elaborated with oregano and basil extracts as natural antioxidants. **Semina: Ciências Agrárias**, v.42, n.6, suplemento 2, p.3757-3776, 2021.

SCHOUTEN, M. A.; TAPPI, S.; ANGELONI, S.; CORTESE, M.; CAPRIOLI, G.; VITTORI, S.; ROMANI, S. Acrylamide formation and antioxidant activity in coffee during roasting—A systematic study. **Food Chemistry**, v.343, 128514, 2021.

SCHWERT, R. **Uso de fumaça líquida em linguiça tipo calabresa cozida e defumada**. 2009. Dissertação (Mestrado submetida ao Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos) – Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2009.

SEVERINI, C.; DEROSI, A.; FIORE, A. G. Ultrasound-assisted extraction to improve the recovery of phenols and antioxidants from spent espresso coffee ground: a study by response surface methodology and desirability approach. **European Food Research and Technology**, v.243, n.5, p.835-847, 2017.

- 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.
- SHANG, X.; ZHOU, Z.; JIANG, S.; GUO, H.; LU, Y. Interrelationship between myoglobin oxidation and lipid oxidation during the processing of Cantonese sausage with d-sodium erythorbate. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.100, n.3, p.1022-1029, 2020.
- 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.
- SINDHI, V.; GUPTA, V.; SHARMA, K.; BHATNAGAR, S.; KUMARI, R.; DHAKA, N. Potential applications of antioxidant - a review. **Journal of Pharmacy Research**, v.7, n.9, p.828-835, 2013.
- SIQUEIRA, T. V. **A cultura do café 1961-2005**. Brasília: BNDES, 2005.
- SUCUPIRA, N.R.; SILVA, A.B.; PEREIRA, G.; COSTA, J.N. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. **UNOPAR Científica. Ciências Biológicas e da Saúde**, v.14, n.4, p.263-269, 2012.
- 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.
- TOBISZEWSKI, M.; MECHLIŃSKA, A.; NAMIEŚNIK, J. Green analytical chemistry-theory and practice. **Chemical Society Reviews**, v.39, n.8, p.2869-2878, 2010.
- TOMOVIĆ, V.; JOKANOVIĆ, M.; ŠOJIĆ, B.; ŠKALJAC, S.; IVIĆ, M. Plants as natural antioxidants for meat products. In: PROCEEDINGS OF THE IOP CONFERENCE SERIES: EARTH AND ENVIRONMENTAL SCIENCE, 85., 2017, Bristol – UK. **Anais [...]**. Bristol: IOP Publishing, 2017.
- TRIPETCH, P.; BOROMPICHAICHARTKUL, C. Effect of packaging materials and storage time on changes of colour, phenolic content, chlorogenic acid and antioxidant activity in Arabica green coffee beans (*Coffea arabica* L. cv. Catimor (*Coffea arabica* L. cv. Catimor)). **Journal of Stored Products Research**, v. 84, p. 101510, 2019.
- UGWUONA, F. U. Effect of piper extracts on pork stability. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.34, n.2, p.235-246, 2010.
- USDA, FAS et al. Livestock and poultry: world markets and trade. **United States Department of Agriculture**, Foreign Agricultural Service, 2023.
- USDA. Department of Agriculture. **United States USDA national nutrient database for standard reference**. Release 28. Washington, DC: USDA, 2018.

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. T. Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. **Food Chemistry**, Oxford, v. 124, n. 3, p. 863-868, fev. 2011.

VIGNOLI, J. A.; BASSOLI, D. G.; BENASSI, M. T. Antioxidant activity of roasted and instant coffees: standardization and validation of methodologies. **Coffee Science**, v.7, p.68-75, 2012.

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

YANG, R.F.; GENG, L.L.; LU, H.Q.; FAN, X.D. Ultrasound-synergized electrostatic field extraction of total flavonoids from *Hemerocallis citrina baroni*. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.34, p.571-579, 2017.

ZHANG, W.; XIAO, S.; AHN, D. U. Protein oxidation: basic principles and implications for meat quality. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.53, n.11, p.1191-1201, 2013.

**APÊNDICE A – Ficha utilizada na análise sensorial da linguiça tipo calabresa**

## TESTE DE ESCALA HEDONICA – LINGUIÇA TIPO CALABRESA

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

Amostra: \_\_\_\_\_

Você está recebendo a Linguiça tipo calabresa. Por favor, deguste-a e use a escala abaixo para demonstrar o quanto você gostou ou não do produto.

9 – gostei muitíssimo	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 muitíssimo		

Assinale com (X) qual sua intenção de compra em relação a este produto.

- eu certamente compraria este produto
- eu provavelmente compraria este produto
- tenho dúvidas se compraria ou não este produto
- eu provavelmente não compraria este produto
- eu certamente não compraria este produto

Comentários: \_\_\_\_\_

Fonte: Autoria própria (2023)