

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

LETICIA ALINE GONÇALVES

**Extratos de *Opuntia ficus-indica* como alternativas à utilização de aditivos
sintéticos em produtos cárneos**

Pirassununga

2023

LETICIA ALINE GONÇALVES

Extratos de *Opuntia ficus-indica* como alternativas à utilização de aditivos sintéticos em produtos cárneos

Versão Corrigida

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Trindade
Coorientador: Dr. José Manuel Lorenzo

Pirassununga

2023

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pela autora

G635e Gonçalves, Leticia Aline
 Extratos de *Opuntia ficus-indica* como
alternativas à utilização de aditivos sintéticos em
produtos cárneos / Leticia Aline Gonçalves;
orientador Marco Antonio Trindade; coorientador
José Manuel Lorenzo. -- Pirassununga, 2023.
 136 f.

 Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
em Engenharia de Alimentos) -- Faculdade de
Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade
de São Paulo.

 1. Antioxidantes naturais. 2. Antimicrobianos
naturais. 3. Melhora do perfil lipídico. 4. Oxidação
lipídica. 5. Rótulo mais limpo. I. Trindade, Marco
Antonio, orient. II. Lorenzo, José Manuel,
coorient. III. Título.

LETICIA ALINE GONÇALVES

Extratos de *Opuntia ficus-indica* como alternativas à utilização de aditivos sintéticos em produtos cárneos

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Trindade
Coorientador: Dr. José Manuel Lorenzo

Data de Aprovação: 16/02/2023

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marco Antonio Trindade

Instituição: Universidade de São Paulo (USP - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos)

Presidente da Banca Examinadora

Profa. Dra. Camila de Souza Paglarini

Instituição: Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT - Faculdade de Arquitetura e Engenharia) e Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT - Faculdade de Nutrição)

Profa. Dra. Ana Karoline Ferreira Ignácio Câmara

Instituição: Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ)

**Aos meus pais, Celso e Neide, por serem
meu apoio e inspiração.**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida e por ter me guiado durante todos estes anos.

Aos meus pais, Neide e Celso, e irmãos, Marcela e Celso Jr., por serem a base de tudo e sempre me incentivarem a seguir em frente.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marco Antonio Trindade, minha admiração e respeito como profissional e como pessoa. Sou imensamente grata por acreditar em mim durante tantos anos e por todos os ensinamentos, paciência e suporte.

Aos meus avós, Margarida (*in memoriam*), Luzia, Sebastião (*in memoriam*) e João, por me mostrarem desde sempre que a vida vale a pena ser vivida.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, pela oportunidade ímpar.

Às minhas amigas e amigos por tornarem mais leve minha caminhada, em especial à Josi e Natalia por serem essenciais na minha vida.

À toda minha grande família pelo apoio, incentivo e união.

Às minhas companheiras do Laboratório de Qualidade e Estabilidade de Carnes e Produtos Cárneos (LaQuECa), pela amizade e troca de experiências: Heloisa, Synthia, Ingra, Kelly e Leticia; aos demais pós-graduandos e estagiários, e, principalmente, à Luciana pela companhia e ajuda em um momento tão conturbado em plena pandemia.

Aos técnicos de laboratório do Departamento de Engenharia de Alimentos (ZEA) pela disposição em ajudar, em especial ao Marcelo, Camila, Marina, Alan, Fabio e Carla.

Ao meu coorientador, Dr. José M. Lorenzo, pela confiança e ensinamentos.

Ao Centro Tecnológico da Carne de Galícia (Ourense, Espanha) por me proporcionar viver uma experiência incrível repleta de ensinamentos e convivendo com pessoas maravilhosas e competentes, em especial à Bea, Noemí, Márcio, Claudia, Eva, Roberto, Ruben, Adriana, Paulo e Mirian. Minha gratidão por adquirir experiência tanto no âmbito profissional quanto pessoal, em cultura, idioma, gastronomia e história. Ao meu amigo Sergio por também ter sido fundamental durante estes seis meses.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo apoio financeiro através da bolsa de mestrado (Processo 2020/04544-9) e da Bolsa de Estágio de Pesquisa no Exterior (Processo 2021/09467-5).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES; código financeiro 001).

Enfim, a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da concretização de mais um sonho e contribuíram para meu crescimento pessoal e profissional.

Muito obrigada!

GONÇALVES, L. A. **Extratos de *Opuntia ficus-indica* como alternativas à utilização de aditivos sintéticos em produtos cárneos**. 2023. 136 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, 2023.

RESUMO

Há uma demanda tanto dos consumidores quanto das organizações internacionais de saúde por produtos cárneos mais saudáveis, dado a grande preocupação de que o consumo excessivo de produtos tradicionais contribui para a alta ingestão de gorduras saturadas e totais e de substâncias nocivas à saúde, como os aditivos sintéticos. Nesse sentido, o desenvolvimento de produtos cárneos mais saudáveis por meio da substituição de gorduras saturadas por opções insaturadas, bem como o uso de aditivos naturais em substituição aos sintéticos são estratégias promissoras levando os pesquisadores e a indústria a procurar alternativas para atender a demanda do mercado consumidor e cumprir com as recomendações sanitárias. O objetivo dos dois primeiros capítulos deste estudo foi obter extratos naturais de figo da índia por meio da extração sólido-líquido com solventes orgânicos, como a mistura etanol:água, e aplicá-los em hambúrgueres e linguiças frescas de carne de frango (*Pectoralis major*) em substituição ao antioxidante sintético eritorbato de sódio, sendo que os hambúrgueres também foram produzidos com adição de uma emulsão estruturada de óleo de gergelim, rico em ácidos graxos poliinsaturados, para substituir totalmente a gordura animal. Ainda, no terceiro capítulo foi realizado um trabalho de revisão bibliográfica para enfatizar a possibilidade de substituição de antimicrobianos sintéticos por extratos de frutas e de resíduos agroindustriais para o desenvolvimento de produtos cárneos *clean label*. O efeito dos extratos de figo da índia (EFI) em produtos à base de frango foi avaliado durante o processamento e armazenamento refrigerado quanto à estabilidade oxidativa, propriedades físico-químicas, aceitação sensorial e estabilidade microbiológica. A incorporação de 1,88 e 3,75% de EFI em linguiças de frango não causou alteração de pH, composição centesimal e perda de peso por cocção, mas provocou aumento da dureza, redução da luminosidade (L^*) e aumento no índice de amarelo (b^*). Todos os tratamentos foram bem aceitos sensorialmente (próximo ou superior a 7 na escala hedônica de 9 pontos). As amostras de linguiça com EFI tiveram valores de TBARs superiores aos demais tratamentos, provavelmente ocasionado por fatores que conduzem à superestimação das substâncias reativas ao TBA e/ou possível atividade pró-oxidante devido à alta concentração de extrato incorporada. O extrato apresentou vantagem na redução de contagem

de microrganismos psicrotróficos aeróbios. No caso dos hambúrgueres de frango enriquecidos com ácidos graxos insaturados, a utilização de 500 e 750 ppm de EFI causou redução dos índices de oxidação lipídica em comparação com o tratamento controle (sem antioxidantes) e o tratamento com 500 ppm de eritorbato de sódio, bem como melhor estabilidade oxidativa dos pigmentos. Não foram observadas diferenças significativas na composição centesimal, pH, perfil de ácidos graxos e aceitação sensorial. Os hambúrgueres reformulados apresentaram 33,7% de ácidos graxos poliinsaturados, 42,5% de monoinsaturados e 23,8% de saturados. Estudos disponibilizados na literatura, bem como os resultados encontrados no Capítulo 1 deste trabalho apontam uma boa capacidade antimicrobiana da *Opuntia*. Portanto, a utilização de extratos naturais obtidos de figo da índia para substituir aditivos sintéticos pode ser considerada uma boa estratégia para o desenvolvimento de produtos cárneos *clean label*.

Palavras-chave: Hambúrguer, linguiça frescal, antioxidantes naturais, antimicrobianos naturais, melhora do perfil lipídico, oxidação lipídica, rótulo mais limpo.

GONÇALVES, L. A. *Opuntia ficus-indica* extracts as alternatives to the use of synthetic additives in meat products. 2023. 136 p. Dissertation (Master's degree) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Pirassununga, SP, 2023.

ABSTRACT

There is a demand from both consumers and international health organizations for healthier meat products development, given the great concern that excessive consumption of traditional products contributes to the high intake of saturated and total fat and substances considered harmful to health, such as synthetic additives. In this sense, the development of healthier meat products by replacing saturated fats with unsaturated ones, as well as the use of natural additives to replace synthetic, are promising strategies, leading researchers and food industry to seek healthier alternatives to meet market demand and comply with health recommendations. The objective of the first two chapters of this study was to obtain natural extracts of prickly pear through solid-liquid extraction with organic solvents, such as the ethanol:water mixture, and apply them to chicken (*Pectoralis major*) patties and fresh sausages, replacing the synthetic antioxidant sodium erythorbate, and the patties were also produced with the addition of a structured emulsion of sesame oil, rich in polyunsaturated fatty acids, to completely replace animal fat. In the third chapter, a bibliographic review was carried out to emphasize the possibility of replacing synthetic antimicrobials with fruit extracts and agro-industrial residues for the development of clean label meat products. The effect of prickly pear extracts (PPE) on chicken products was evaluated during processing and refrigerated storage for oxidative stability, physicochemical properties, sensory acceptance and microbiological stability. The incorporation of 1.88 and 3.75% of PPE in chicken fresh sausages did not change the pH, proximate composition and cooking losses, but caused an increase in hardness, a reduction in luminosity (L^*) and an increase in the index of yellow (b^*). All treatments were well accepted sensorially (close to or greater than 7 on the 9-point hedonic scale). The samples with PPE had TBARs values higher than the other treatments, probably caused by factors that lead to the overestimation of TBA-reactive substances and/or pro-oxidant activity. The extract showed an advantage in reducing the count of aerobic psychrotrophic microorganisms. For chicken patties, the use of 500 and 750 ppm of PPE caused a reduction in lipid oxidation rates compared to the control treatment (without antioxidants) and treatment with 500 ppm of sodium erythorbate, as well as better oxidative stability of the pigments. No significant differences were observed in proximate composition, pH, fatty acid profile and sensory acceptance. The

reformulated patties had 33.7% of polyunsaturated, 42.5% of monounsaturated and 23.8% of saturated fatty acids. The Review study of Chapter 3, as well as the results found in Chapter 1 of this work, point to a good antimicrobial capacity of *Opuntia* species. Therefore, the use of natural prickly pear extract to replace synthetic additives can be considered a good strategy for the development of clean label meat products.

Key-words: Patties, fresh sausage, natural antioxidants, natural antimicrobials, improvement of lipid profile, lipid oxidation, clean label.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Variedade de <i>Opuntia ficus-indica</i> utilizada no experimento.	42
Figura 2 – Preparação das amostras de figo da índia para posterior extração hidroetanólica.	44
Figura 3 – Concentração dos extratos em evaporador rotativo à vácuo (Fisatom, modelo 802, São Paulo, Brasil).....	44
Figura 4 – Realização da análise de dureza instrumental em texturômetro <i>TA.XTplus</i> (Stable Micro Systems, Surrey, Inglaterra).....	48
Figura 5 – Ficha de avaliação sensorial apresentada aos provadores (N = 120).	51
Figura 6 – Amostras de linguiça frescal de frango no dia 1 de armazenamento refrigerado.	58
Figura 7 – Evolução dos valores de TBARs (mg de malonaldeído/kg de amostra) das linguiças frescas de frango durante o armazenamento refrigerado.	60
Figure 8 – Concentration of the extract in a rotary evaporator (Büchi Labortechnik AG, mod Büchi® Rotavapor R-200, Flawil, Switzerland).....	84
Figure 9 – Lyophilization process (Büchi Lyovapor™ L-300, Flawil, Switzerland) and the lyophilized extract.....	84
Figure 10 – ORAC assay in Synergy H1 Hybrid Multi-Mode Reader (BioTek Instruments, Vermont, USA).....	86
Figure 11 – Chicken patties manufacture steps.	87
Figure 12 – Color (a) and pH (b) measurement of the chicken patties.....	88
Figure 13 – Chicken patties at the beginning (T1) and end (T16) of storage.....	94
Figure 14 – Evaluation of TBARs values (mg MDA/kg of sample) in chicken patties during refrigerated storage.	97

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores de rendimento e determinação de compostos fenólicos totais (CFT) dos extratos de figo da índia obtidos por diferentes metodologias de extração.	52
Tabela 2 – Resultados das análises para a determinação da capacidade antioxidante dos extratos de <i>Opuntia ficus-indica</i> e do antioxidante sintético eritorbato de sódio.....	53
Tabela 3 – Quantidade de extrato a ser incorporada para se obter uma equivalência à atividade antioxidante de 500 ppm (0,05%) de eritorbato de sódio.	53
Tabela 4 – Composição centesimal, perda de peso por cocção (PPC) e análise de textura (dureza) das linguças frescas de frango.	55
Tabela 5 – Parâmetros de cor das linguças frescas de frango durante o armazenamento refrigerado.....	57
Tabela 6 – Avaliação dos valores de pH das linguças frescas de frango durante o armazenamento refrigerado.	59
Tabela 7 – Evolução dos índices de oxidação proteica (nmol de carbonila/mg de proteína) das linguças frescas de frango no início e ao final do armazenamento refrigerado.....	62
Tabela 8 – Resultados do teste de aceitação sensorial com 120 consumidores.....	64
Tabela 9 – Resultados da estabilidade microbiológica durante o armazenamento refrigerado.	66
Table 10 – Evaluation of pH and color parameters of chicken patties during refrigerated storage (it continues).	95
Table 11 – Main fatty acids in the composition of chicken patties.	99
Table 12 – Acceptance scores of sensory analysis of raw (appearance) and cooked (odor, flavor, texture and overall quality) chicken patties.	100
Table 13 – Minimum inhibitory concentration <i>in vitro</i> of Grape Extracts on bacteria.	116
Table 14 – Minimum inhibitory concentration and Minimum Bactericidal concentration <i>in vitro</i> of <i>Opuntia</i> Extract and Sodium Nitrite on bacteria.....	118

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
2 RELAÇÃO ENTRE OS CAPÍTULOS.....	19
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27
4 CAPÍTULO 1: AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE EXTRATO DE FIGO DA ÍNDIA (<i>Opuntia ficus-indica</i>) APLICADO EM LINGUIÇA FRESCAL DE FRANGO.....	34
ABSTRACT.....	37
4.1 INTRODUÇÃO	39
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	41
4.2.1 Preparação dos extratos naturais	41
4.2.2 Cálculo do rendimento	43
4.2.3 Compostos fenólicos totais e avaliação da atividade antioxidante	44
4.2.3.1 Determinação de Compostos fenólicos totais (CFT).....	44
4.2.3.2 Método do Poder de Redução dos Íons do Ferro (FRAP).....	45
4.2.3.3 Ensaio de captura de radicais ABTS	45
4.2.4 Cálculos de equivalência baseados em resultados de atividade antioxidante	46
4.2.5 Elaboração das linguças frescas de frango.....	47
4.2.6 Caracterização físico-química dos embutidos.....	47
4.2.6.1 Composição centesimal	47
4.2.6.2 Perdas de peso por cozimento (PPC)	47
4.2.6.3 Análise da dureza instrumental	48
4.2.7 Estabilidade durante o armazenamento refrigerado.....	48
4.2.7.1 Estabilidade físico-química	49
4.2.7.1.1 Cor objetiva.....	49
4.2.7.1.2 Valor de pH.....	49
4.2.7.1.3 Análise de Oxidação Lipídica (TBARs)	49

4.2.7.1.4 Análise de Oxidação Proteica	49
4.2.7.2 Estabilidade microbiológica.....	50
4.2.8 Aceitação sensorial.....	50
4.2.9 Análise estatística	51
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
4.3.1 Teor de compostos fenólicos totais, análises de capacidade antioxidante e rendimento.....	51
4.3.2 Composição centesimal e caracterização físico-química das linguças frescas de frango	54
4.3.3 Cor objetiva e pH.....	56
4.3.4 Oxidação lipídica.....	58
4.3.5 Oxidação Proteica	61
4.3.6 Análise sensorial.....	63
4.3.7 Estabilidade microbiológica.....	65
4.4 CONCLUSÃO	66
AGRADECIMENTOS	68
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69
5 CHAPTER 2: EFFECT OF <i>OPUNTIA FICUS-INDICA</i> EXTRACT IN PRO-HEALTHY CHICKEN PATTIES: OXIDATIVE STABILITY, PHYSICOCHEMICAL AND SENSORY PROPERTIES	80
ABSTRACT.....	81
5.1 INTRODUCTION	82
5.2 MATERIALS AND METHODS.....	83
5.2.1 Plant material and extract preparation	83
5.2.2 Total phenolic content and antioxidant activity of the prickly pear extract (PPE) 85	
5.2.2.1 Determination of the Total Phenolic Content (TPC).....	85
5.2.2.2 Ferric reducing/Antioxidante power (FRAP)	85
5.2.2.3 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging activity.....	85

5.2.2.4 ABTS radical cation decolorization assay (ABTS)	85
5.2.2.5 Oxygen radical absorbance capacity assay (ORAC).....	86
5.2.3 Chicken patties formulation and manufacture	86
5.2.4 Proximate composition	88
5.2.5 Color parameters and pH	88
5.2.6 Lipid oxidation	89
5.2.7 Fatty acid composition analysis	89
5.2.8 Sensory analysis	89
5.2.9 Statistical analysis	90
5.3 RESULTS AND DISCUSSION	90
5.3.1 Total phenolic content and antioxidant activity of the prickly pear extract (PPE) 90	
5.3.2 Proximate composition of chicken patties	92
5.3.3 Color parameters and pH	93
5.3.4 Lipid oxidation	94
5.3.5 Fatty acid composition of chicken patties.....	98
5.3.6 Sensory analysis	99
5.4 CONCLUSIONS.....	100
ACKNOWLEDGEMENTS	101
REFERENCES	102
6 CHAPTER 3: FRUIT AND AGRO-INDUSTRIAL WASTE EXTRACTS AS POTENTIAL ANTIMICROBIALS IN MEAT PRODUCTS: A BRIEF REVIEW	108
ABSTRACT.....	109
6.1 INTRODUCTION	110
6.1.1 Phenolic Compounds	112
6.1.2 Fruit Extracts with Potential Application in Meat Products.....	113
6.1.2.1 Jabuticaba (<i>Myrciaria cauliflora</i>).....	113
6.1.2.2 Grape (<i>Vitis sp.</i>).....	114
6.1.2.3 Prickly Pear (<i>Opuntia ficus-indica</i>).....	117

6.2 CONCLUSIONS.....	119
ACKNOWLEDGMENTS	120
REFERENCES	121
7 CONCLUSÕES GERAIS.....	128
ANEXOS	130

1 INTRODUÇÃO

Os consumidores estão se tornando cada vez mais exigentes em relação à alimentação de uma forma geral, refletindo na maior conscientização acerca da influência que hábitos alimentares podem acarretar à sua saúde e bem estar. A crescente demanda por alimentos mais saudáveis, livres de aditivos e de alta qualidade nutricional e sensorial tem desafiado a indústria a procurar constantemente melhorias para oferecer produtos que satisfaçam aos anseios deste mercado, que sejam seguros, mais saudáveis e saborosos.

O emprego de aditivos sintéticos por muito tempo tem sido adotado como uma das principais formas de auxílio na preservação de produtos alimentícios para garantir a manutenção das características desejáveis ao longo de todo o período de vida útil. Os aditivos sintéticos têm seu uso regulamentado por legislações específicas, cujos limites e proibições são controversos e podem variar muito entre países. Sendo assim, sua utilização em larga escala tem sido alvo de debates inclusive por renomadas organizações internacionais de saúde, impulsionando a busca por substitutos naturais que sejam tão eficientes quanto os sintéticos.

Algumas das principais classes de aditivos sintéticos criticados são os antioxidantes e antimicrobianos. A utilização destas substâncias é essencial em diversos tipos de alimentos industrializados para manter a qualidade e a segurança durante o *shelf-life*. Os antioxidantes atuam para evitar a propagação de reações de oxidação de lipídios, processo responsável por ocasionar problemas como perda de valor nutricional, geração de compostos tóxicos, formação de radicais livres e alteração sensorial pelo desenvolvimento de aroma desagradável de ranço e consequente rejeição por parte dos consumidores, enquanto os antimicrobianos têm a capacidade de retardar ou inibir a proliferação de microrganismos deteriorantes e causadores de doenças transmitidas por alimentos. Todavia, diversos estudos apontam que o consumo frequente destas substâncias sintetizadas quimicamente pode acarretar problemas de saúde, incluindo efeitos mutagênicos e carcinogênicos em longo prazo.

Neste sentido, a substituição dos aditivos sintéticos por versões naturais passíveis de atuar na preservação de alimentos é uma tendência crescente que tem colocado em evidência diversas fontes de origem vegetal que, além de serem ricas em compostos bioativos com capacidade antioxidante e antimicrobiana, ainda podem trazer benefícios à saúde do consumidor. Uma das fontes que tem despertado a atenção da comunidade científica é o figo da índia (*Opuntia ficus-indica*), que, apesar de estar associado a diversas propriedades de interesse para a indústria alimentícia e farmacêutica, ainda é pouco explorado como substituto de aditivos sintéticos para a conservação de produtos cárneos. Desta forma, o objetivo da

presente dissertação de mestrado foi avaliar a possibilidade de utilização de extratos naturais de figo da índia para substituir antioxidantes e antimicrobianos sintéticos visando o desenvolvimento de produtos cárneos *clean label*.

2 RELAÇÃO ENTRE OS CAPÍTULOS

Esta dissertação de mestrado foi redigida na forma de capítulos contendo três artigos com temas interligados, sendo um capítulo apresentado em língua portuguesa e dois capítulos em inglês. O primeiro capítulo, intitulado “Avaliação da capacidade antioxidante e antimicrobiana de extrato de figo da índia (*Opuntia ficus-indica*) aplicado em linguiça frescal de frango”, foi desenvolvido na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, *campus* Fernando Costa da Universidade de São Paulo. Este trabalho teve como principal objetivo a obtenção de um extrato natural de figo da índia capaz de promover atividade antioxidante e antimicrobiana quando aplicado a linguiças frescas produzidas com carne de frango (*Pectoralis major*), visando reduzir a utilização de aditivos sintéticos. Para tal, diversas metodologias de extração foram testadas e a melhor versão de extrato foi incorporada nos produtos a fim de se avaliar sua influência em características físico-químicas, sensoriais e a estabilidade oxidativa e microbiológica durante o armazenamento refrigerado (2°C) por 15 dias em embalagem à vácuo. Seguindo no tema de desenvolvimento de produtos cárneos *clean label*, o segundo capítulo foi resultante de uma pesquisa realizada durante um estágio no exterior a partir da Bolsa Estágio de Pesquisa no Exterior da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (BEPE/FAPESP), no Centro Tecnológico da Carne de Galicia, localizado em Ourense (Espanha), sob supervisão do coorientador desta dissertação de mestrado, Dr. José M. Lorenzo. Este trabalho, intitulado “*Effect of Opuntia ficus-indica extract in pro-healthy chicken patties: oxidative stability, physicochemical and sensory properties*”, redigido em língua inglesa, teve como objetivo o desenvolvimento de hambúrgueres de frango com duas estratégias para enfatizar apelos mais saudáveis: a substituição de antioxidante sintético por extrato natural de figo da índia e a reformulação dos produtos a partir da substituição integral da gordura animal por uma emulsão estruturada produzida com óleo rico em ácidos graxos insaturados (óleo de gergelim). Os produtos foram avaliados quanto à estabilidade físico-química ao longo do armazenamento refrigerado (2°C) durante 16 dias em atmosfera modificada (70% N₂, 30% CO₂), além de terem sido feitas as análises de caracterização físico-química e aceitação sensorial. Por fim, para ressaltar a tendência de substituição de aditivos sintéticos por versões naturais em produtos cárneos, foi realizado um trabalho de revisão bibliográfica para compor o terceiro capítulo desta dissertação de mestrado. Este capítulo, já publicado em revista internacional indexada, enfatizou o uso de extratos de frutas e de resíduos agroindustriais como antimicrobianos em produtos cárneos, incluindo informações sobre extratos provenientes da fruta utilizada nos outros dois capítulos deste

trabalho (*Opuntia ficus-indica*). O título do trabalho foi “*Fruit and Agro-Industrial Waste Extracts as Potential Antimicrobials in Meat Products: A Brief Review*”, redigido e apresentado em inglês.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Ao longo dos últimos anos tem se notado uma grande conscientização dos consumidores quanto ao fato de que a dieta é um dos fatores que mais afetam sua saúde e bem estar. Dentre os produtos que mais sofrem questionamentos estão os produtos cárneos, por diversas vezes apontados como alimentos de elevado teor de sódio, gorduras saturadas e aditivos químicos. Desta forma, o setor procura alternativas para tornar estes produtos mais saudáveis, na busca de reduzir a associação que os consumidores fazem entre o consumo de derivados cárneos e possíveis malefícios à saúde em longo prazo (DOMÍNGUEZ et al., 2021). Estratégias como a redução de sódio, melhora do perfil lipídico e substituição de aditivos sintéticos por versões naturais são alguns exemplos mais comuns abordados atualmente (DE CARVALHO et al., 2020; LORENZO et al., 2018).

A carne de frango e seus derivados são amplamente consumidos e produzidos no Brasil e no mundo. Mundialmente, a carne de frango é o tipo de carne mais consumida, com uma média de 14,9 kg/habitante/ano, seguida pelas carnes suína e bovina, que apresentam um consumo per capita de 11,1 e 6,3 kg/habitante/ano, respectivamente (OECD, 2022). O Estudo de Projeções do Agronegócio Brasileiro, elaborado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), revelou que, assim como no restante do mundo, a carne de frango também é o tipo de carne mais consumida no país (10,6 milhões de toneladas no total ou 45,56 kg/hab/ano), sendo seguida pela carne bovina (5,5 mi. toneladas) e suína (3,8 mi. toneladas), além de apresentar a maior taxa de crescimento do consumo prevista para os próximos 10 anos, de 28,0% (BRASIL, 2021). A produção anual do setor é próxima dos 14,3 milhões de toneladas, sendo 67,8% destinados ao mercado interno e 32,2% relacionados à exportação (ABPA, 2022). De fato, em 2021, o Brasil foi certificado como o terceiro maior produtor mundial de carne de frango e o primeiro exportador (ABPA, 2022). Como consequência, tem-se que a carne de frango e seus derivados industrializados são muito importantes neste país e em outras partes do mundo.

Nas últimas décadas, observou-se uma alteração no cenário mundial quanto à forma de consumo da carne de frango. O frango inteiro perdeu espaço no mercado para a comercialização de cortes de frango, e, simultaneamente, o consumo de produtos industrializados de frango foi conquistando cada vez mais destaque, evidenciando a preferência do consumidor para substituir o produto *in natura* por itens de maior praticidade, valor agregado, conveniência e apelo sensorial (LOPES et al., 2007).

A linguiça frescal é um produto elaborado com cortes cárneos moídos, podendo ser proveniente de uma ou mais espécies de animais de açougue, com adição ou não de gorduras e ingredientes, embutido em tripa natural ou artificial, com classificação variável dependendo da composição da matéria prima e da tecnologia empregada no processamento, na qual o padrão de identidade e qualidade permite uma concentração máxima de gordura de até 30% (BRASIL, 2000a). Da mesma forma, os hambúrgueres podem conter em sua formulação um teor de gordura de até 23%, sendo produzidos pela moldagem da carne moída de espécies de animais de açougue, adicionados ou não de ingredientes e aditivos que sejam permitidos pela legislação (BRASIL, 2000b).

Por possuírem alta concentração de ácidos graxos, por seu processo de fabricação, pela ausência de tratamento térmico, além da moagem da carne expor uma maior superfície de contato com o ar ambiente, as linguiças e hambúrgueres frescos são produtos altamente propensos a desenvolver reações de oxidação lipídica que desencadeiam a formação de óxidos de colesterol e liberação de compostos voláteis (ranço), oxidação de proteínas e pigmentos, além de se tornarem mais susceptíveis à proliferação de microrganismos deteriorantes e patogênicos, comprometendo seu *shelf-life* e segurança do alimento (CASAGRANDE, 2014). Diante do exposto, resulta em indispensável a adição de componentes inibidores de processos oxidativos e do crescimento microbiano, denominados, respectivamente, como antioxidantes e antimicrobianos, que são substâncias capazes de auxiliar na manutenção das características de qualidade e segurança durante o período de armazenamento.

Durante muito tempo indústrias do setor de carnes têm incorporado nas suas formulações diferentes antioxidantes e antimicrobianos para reduzir os efeitos negativos causados pela deterioração de produtos cárneos, particularmente a aplicação de substâncias sintetizadas quimicamente que têm o seu uso autorizado por órgãos regulamentadores dentro de um limite de ingestão diária aceitável. No Brasil, a regulamentação sobre aditivos permitidos para uso em carnes e produtos cárneos é feita pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), através da Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 272 (BRASIL, 2019), que autoriza a aplicação de, por exemplo, hidroxitolueno butilado (BHT), hidroxianisol butilado (BHA), galato de propila (PG), eritorbato de sódio e nitrito de sódio, a depender das diferentes categorias dos produtos.

Em contrapartida, o emprego de aditivos químicos para estender a vida útil de alimentos industrializados vai contra a tendência da busca dos consumidores por produtos *clean label*, isto é, formulados apenas com ingredientes e substâncias considerados familiares/naturais e vistos como mais saudáveis (BREWER, 2011). Além disso, apesar de

serem permitidos pela legislação, há controvérsias acerca do consumo excessivo de muitos destes aditivos sintéticos e uma possível associação com o desenvolvimento de implicações negativas à saúde, que podem ser causadas pela geração de seus subprodutos, tais quais tri-halometanos, ácidos haloacéticos e cloraminas, que estão associados a potenciais mutagênicos e geração de compostos tóxicos e carcinogênicos, reforçando o receio por parte dos consumidores quanto à ingestão de produtos que contenham diversos aditivos sintéticos em sua formulação e consequente aumento na procura por produtos *clean label* (GIL et al., 2016; ITO et al., 1986; KOŁODZIEJSKA; SKONIECZNY; RUBIN, 1990; NAVEENA et al., 2008).

O eritorbato de sódio ($C_6H_7NaO_6$), também denominado D-isoascorbato de sódio, é uma variante química do ácido ascórbico (vitamina C) e é um dos principais antioxidantes sintéticos utilizados para a conservação de alimentos que, além de desativar a formação de radicais livres e assim prevenir os processos da peroxidação lipídica, também pode atuar sobre a estabilização da cor dos produtos (DELGADO-PANDO et al., 2021; GRAY; PEARSON, 1987). É um aditivo classificado na categoria GRAS/FS (*Generally Recognized as Safe* ou “geralmente reconhecidos como seguros”) pela *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos, o que implica em sua limitação de uso para algumas classes de alimentos (USFDA, 2022). No Brasil, a RDC nº 272 (BRASIL, 2019) é responsável por estabelecer seu uso em produtos cárneos. Sua segurança tem sido questionada e são controversos seus efeitos adversos à saúde, pois enquanto alguns resultados apontam que sua administração promoveu carcinogênese na bexiga urinária, aumentando a incidência de lesões pré-neoplásicas e papiloma (FUKUSHIMA et al., 1984), outros estudos não observaram a formação de tumores cancerígenos associados ao consumo do eritorbato de sódio nas condições avaliadas (ABE et al., 1984).

De qualquer maneira, embora os compostos químicos do eritorbato de sódio sejam na verdade similares aos de muitos antioxidantes de origem natural, sua ocorrência na formulação de alimentos pode ser indesejável por parte dos consumidores por ser tratar da rotulagem de uma substância sintética, enquanto que o emprego de ingredientes com denominação “natural” está associada a algo “bom” e “saudável” (DELGADO-PANDO et al., 2021; POKORNÝ, 2007). Em função disto, tem havido um crescente interesse por parte dos pesquisadores e da indústria, evidenciando várias pesquisas que têm sido conduzidas com a finalidade de antepor o uso excessivo dos antioxidantes sintéticos, permitindo a possibilidade de sua substituição por versões naturais, como opções alternativas provenientes de óleos essenciais e extratos vegetais, por exemplo obtidos de diferentes ervas aromáticas, sementes, frutas, folhas e resíduos de indústrias processadoras de produtos de origem vegetal, demonstrando que os antioxidantes

naturais podem ser tão ou mais eficazes que os sintéticos (AQUILANI et al., 2018; FERNANDES et al., 2017; SHARMA et al., 2017).

Opuntia ficus-indica, popularmente denominado como figo da índia, nopal ou tuna, é o fruto de uma das principais espécies de cacto da família *Cactaceae*, originalmente nativo das regiões tropicais e subtropicais das Américas, sendo hoje em dia amplamente cultivado também em outras partes do mundo, como na Europa, África e Austrália, apresentando uma impressionante diversidade genética com aproximadamente 1500 espécies da família *Cactaceae* catalogadas e diversas variedades conhecidas de *Opuntia* (KAUR; KAUR; SHARMA, 2012; ODOUX; DOMÍNGUEZ-LÓPEZ, 1996; ZAKYNTHINOS; VARZAKAS, 2016). As informações disponibilizadas na literatura científica abrangem diversos fatores relacionados à composição química de sua polpa, sementes e casca, bem como são apontadas várias propriedades nutraceuticas que podem ser interessantes tanto para a indústria farmacêutica como alimentícia por ser considerada uma fonte natural rica em compostos bioativos (KAUR; KAUR; SHARMA, 2012). De fato, derivados de *Opuntia ficus-indica* já são encontrados em algumas formulações de loções corporais, shampoos, chás, geleias, cremes e outros cosméticos (PAREEK; SINGH; VASHISHTHA, 2003).

Os cladódios, flores e frutos do cacto nopal se destacam por sua composição rica em complexos de polissacarídeos de pectina e fibras, além de uma infinidade de moléculas bioativas e com propriedades antioxidantes e antimicrobianas (EL MOSTAFA et al., 2014). Na fruta em si, sobressaem-se quantidades abundantes de ácido ascórbico, vitamina E, carotenoides, fibras, aminoácidos e fitoquímicos antioxidantes, notavelmente os compostos da família dos polifenóis, como ácidos fenólicos, taninos e flavonoides, fitoesteróis, betalaínas, betaxantina e betacianina, já as flores são consideradas fontes principalmente de ácido gálico e flavonóides (isorhamnetina, kaempferol e quercetina) e os cladódios ricos em ácidos gálico, cumárico e ferrúlico, vitaminas e isoquercetina (BELHADJ SLIMEN; NAJAR; ABDERRABBA, 2021; EL-MOSTAFA et al., 2014; TAHIR et al., 2019).

Ao longo dos últimos anos a comunidade científica tem enfatizado uma relevância quanto à correlação entre o consumo regular de frutas do gênero botânico *Opuntia* e sua influência no tratamento e prevenção de uma série de doenças crônicas associadas a consequências do estresse oxidativo (OSUNA-MARTÍNEZ; REYES-ESPARZA; RODRÍGUEZ-FRAGOSO, 2014; SABBAIN et al., 2021; STINTZING et al., 2005). Efeitos antidiabéticos e hipoglicemiantes (BUTTERWECK et al., 2010), redução de triglicerídeos e colesterol total da corrente sanguínea (PALUMBO et al., 2003), efeitos neuroprotetores (DOKGO et al., 2003), atividade anti-inflamatória (PARK et al., 2001; PARK; KAHNG; PAEK,

1998), redução de disfunções renais (SREEKANTH et al., 2007), além de benefícios ao tratamento de diabetes, queimaduras, e indigestão (KIM et al., 2006) são algumas das evidências clínicas e/ou experimentais que são atribuídas ao consumo de variedades de *Opuntia*. Outros autores também verificaram que extratos obtidos da fruta inteira ou de partes dela carregam uma quantidade considerável de ácidos graxos insaturados (CHOUGUI et al., 2013), apresentam boa atividade antioxidante (BUTERA et al., 2002; DU TOIT et al., 2018; LOBO et al., 2010), promovem atuação contra o desenvolvimento desordenado de tumores cancerígenos (ABOU-ELELLA; ALI, 2014; CHAVEZ-SANTOSCOY; GUTIERREZ-URIBE; SERNA-SALDÍVAR, 2009) e efeitos cardioprotetor, antitrombótico, anti-inflamatório e antidiabético (BERRAAOUAN et al., 2014; MOBRATEN et al., 2013).

Comportando uma área de plantio de cerca de 500.000 hectares, o Brasil é apontado como o país com o maior sistema de cultivo de *O. ficus-indica* do continente americano, cuja principal área de produção é atribuída a pequenos produtores da região nordeste, que destinam a maior parte do cultivo do cacto à forragem animal, popularmente conhecido como palma forrageira ou palma de gado (OCHOA; BARBERA, 2017). Recentemente o cultivo foi estendido também a outros estados do país. Por exemplo, nas redondezas de Valinhos, município localizado na região metropolitana de Campinas no interior do estado de São Paulo, concentra-se a principal produção de *Opuntia* destinada efetivamente à geração de frutos para o consumo, cuja produção é em geral exportada para países da Europa ou comercializada no mercado interno (MAIORANO, 2016). Segundo os dados mais recentes disponibilizados pela Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP), cerca de 15 atacadistas foram responsáveis pelo abastecimento do comércio com 18 toneladas das variedades verde, amarela, laranja e roxa de figo da índia, classificando-o na 326ª posição entre os produtos comercializados pela companhia (CEAGESP, 2018).

Embora o figo da índia não seja bem valorizado no país e em outras partes do mundo por ser ainda pouco explorado e pouco conhecido, de acordo com a literatura seu excelente perfil de compostos bioativos é apontado por diversos estudos como benéfico ao tratamento e prevenção de doenças não-comunicáveis (SABTAIN et al., 2021; STINTZING et al., 2005). Todavia, são escassos os relatos sobre sua utilização em produtos cárneos com a finalidade antioxidante e antimicrobiana, sendo necessária a condução de estudos mais específicos sobre sua aplicação. Portanto, o presente estudo visou obter extratos de figo da índia e analisar sua eficácia para evitar a deterioração em linguças frescas e hambúrgueres preparados à base de carne de frango (*Pectoralis major*), ambos resfriados, estudando os efeitos da adição de diferentes níveis do extrato natural sobre as características de estabilidade e qualidade dos

produtos durante o armazenamento refrigerado, bem como a influência em parâmetros de aceitação sensorial e caracterização físico-química. Além da ênfase na capacidade antioxidante abordada nos Capítulos 1 e 2, foi realizado um trabalho de revisão bibliográfica (Capítulo 3) para verificar a possibilidade de utilização da referida fruta também como antimicrobiano natural para a substituição de aditivos nas versões sintéticas e proporcionar o desenvolvimento de produtos cárneos *clean label*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, I. et al. Sodium erythorbate is not carcinogenic in F344 rats. **Experimental and Molecular Pathology**, v. 41, n. 1, p. 35–43, 1984.

ABOU-ELELLA, F. M.; ALI, R. F. M. Antioxidant and Anticancer Activities of Different Constituents Extracted from Egyptian Prickly Pear Cactus (*Opuntia ficus-indica*) Peel. **Biochemistry & Analytical Biochemistry**, v. 3, n. 2, p. 1–9, 2014.

ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual – 2022**. 2022, 144p. Disponível em: <<http://abpa-br.org/mercados/>>. Acesso em: 15 dez. 2022.

AQUILANI, C. et al. Effect of natural antioxidants from grape seed and chestnut in combination with hydroxytyrosol, as sodium nitrite substitutes in Cinta Senese dry-fermented sausages. **Meat Science**, v. 145, p. 389–398, 2018.

BELHADJ SLIMEN, I.; NAJAR, T.; ABDERRABBA, M. Bioactive Compounds of Prickly Pear [*Opuntia Ficus-Indica* (L.) Mill.]. Em: MURTHY, H. N.; PAEK, K. Y. (Eds.). **Bioactive Compounds in Underutilized Vegetables and Legumes**. Reference Series in Phytochemistry. Cham.: Springer International Publishing, 2021. p. 1–40.

BERRAAOUAN, A. et al. Evaluation of antidiabetic properties of cactus pear seed oil in rats. **Pharmaceutical Biology**, v. 52, n. 10, p. 1286–1290, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de carne mecanicamente separada, de mortadela, de linguiça e de salsicha. Instrução Normativa SDA nº 4, de 31 de março de 2000, Anexo III. Brasília, DF: **Diário Oficial da União**, 2000a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Almôndega, de Apresuntado, de Fiambre, de

Hambúrguer, de Kibe, de Presunto Cozido e de Presunto. Instrução Normativa SDA nº 20, de 31 de julho de 2000. Brasília, DF: **Diário Oficial da União**, 2000b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC no 272, de 14 de março de 2019. Órgão: Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Diretoria Colegiada. Dispõe sobre os aditivos alimentares autorizados para uso em carnes e produtos cárneos. Brasília DF: **Diário Oficial da União**. Edição: 52, Seção: 1, 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Política Agrícola. **Projeções do Agronegócio: Brasil (2020/21 a 2030/31) - Projeções de Longo Prazo**. Brasília, DF: MAPA/ACE, 2021. 102 p.

BREWER, M. S. Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 10, n. 4, 2011.

BUTERA, D. et al. Antioxidant Activities of Sicilian Prickly Pear (*Opuntia ficus indica*) Fruit Extracts and Reducing Properties of Its Betalains: Betanin and Indicaxanthin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 23, p. 6895–6901, 2002.

BUTTERWECK, V. et al. Comparative evaluation of two different *Opuntia ficus-indica* extracts for blood sugar lowering effects in rats. **Phytotherapy research: PTR**, v. 25, n. 3, p. 370–375, 2011.

CASAGRANDE, M. **Avaliação do potencial antioxidante de coprodutos de indústrias de suco de uva e de vinho visando sua aplicação em linguiça de frango**. Dissertação (mestrado) — Pato Branco, PR: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2014. 121p.

CEAGESP. COMPANHIA DE ENTREPOSTOS E ARMAZÉNS GERAIS DE SÃO PAULO. **Guia CEAGESP: Figo da Índia**. 2018. Disponível em: <<http://www.ceagesp.gov.br/guia-ceagesp/figo-da-india/>>. Acesso em: 2 mar. 2020.

CHAVEZ-SANTOSCOY, R. A.; GUTIERREZ-URIBE, J. A.; SERNA-SALDÍVAR, S. O. Phenolic Composition, Antioxidant Capacity and In Vitro Cancer Cell Cytotoxicity of Nine

Prickly Pear (*Opuntia* spp.) Juices. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 64, n. 2, p. 146–152, 2009.

CHOUGUI, N. et al. Oil composition and characterisation of phenolic compounds of *Opuntia ficus-indica* seeds. **Food Chemistry**, v. 139, n. 1–4, p. 796–803, 2013.

DE CARVALHO, F. A. L. et al. Effect of replacing backfat with vegetable oils during the shelf-life of cooked lamb sausages. **LWT – Food Science and Technology**, v. 122, p. 109052, 2020.

DELGADO-PANDO, G. et al. Clean Label Alternatives in Meat Products. **Foods**, v. 10, n. 7, p. 1615, 2021.

DOK-GO, H. et al. Neuroprotective effects of antioxidative flavonoids, quercetin, (+)-dihydroquercetin and quercetin 3-methyl ether, isolated from *Opuntia ficus-indica* var. saboten. **Brain Research**, v. 965, n. 1–2, p. 130–136, 2003.

DOMÍNGUEZ, R. et al. Immobilization of oils using hydrogels as strategy to replace animal fats and improve the healthiness of meat products. **Current Opinion in Food Science**, v. 37, p. 135–144, 2021.

DU TOIT, A. et al. Relationship and correlation between antioxidant content and capacity, processing method and fruit colour of cactus pear fruit. **Food and Bioprocess Technology**, v. 11, n. 8, p. 1527–1535, 2018.

EL MOSTAFA, K. et al. Nopal Cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a Source of Bioactive Compounds for Nutrition, Health and Disease. **Molecules**, v. 19, n. 9, p. 14879–14901, 2014.

FERNANDES, R. P. P. et al. Evaluation of oxidative stability of lamb burger with *Origanum vulgare* extract. **Food Chemistry**, v. 233, p. 101–109, 2017.

FUKUSHIMA, S. et al. Promotion by ascorbic acid, sodium erythorbate and ethoxyquin of neoplastic lesions in rats initiated with N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine. **Cancer Letters**, v. 23, n. 1, p. 29–37, 1984.

GIL, M. I. et al. Should chlorate residues be of concern in fresh-cut salads? **Food Control**, v. 60, p. 416–421, 2016.

GRAY, J. I.; PEARSON, A. M. Rancidity and warmed-over flavor. **Advances in meat research (USA)**, v. 3, p. 221–269, 1987.

ITO, N. et al. Studies on antioxidants: Their carcinogenic and modifying effects on chemical carcinogenesis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 24, n. 10–11, p. 1071–1082, 1986.

KAUR, M.; KAUR, A.; SHARMA, R. Pharmacological actions of *Opuntia ficus indica*: A Review. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 2, n. 7, p. 15–18, 2012.

KIM, J. H. et al. *Opuntia ficus-indica* attenuates neuronal injury in in vitro and in vivo models of cerebral ischemia. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 104, n. 1–2, p. 257–262, 2006.

KOŁODZIEJSKA, I.; SKONIECZNY, S.; RUBIN, L. J. Malondialdehyde-Nitrite Interactions in Meat and Model Systems. **Journal of Food Science**, v. 55, n. 4, p. 926–928, 1990.

LOBO, V. et al. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacognosy Reviews**, v. 4, n. 8, p. 118, 2010.

LOPES, M. M. et al. Bacteriological and physical-chemistry aspects of poultry sausage elaborated with different concentration of sodium polyphosphate. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias (RPCV 102)**, p. 331–338, 2007.

LORENZO, J. M. et al. Main characteristics of peanut skin and its role for the preservation of meat products. **Trends in Food Science and Technology**, v. 77, p. 1–10, 2018.

MAIORANO, J. A. **Figo da Índia - Ficha Técnica. 2016**. Disponível em: <<https://www.todafruta.com.br/figo-da-india/>>. Acesso em: 2 mar. 2020.

MOBRATEN, K. et al. Omega-3 and omega-6 PUFAs induce the same GPR120-mediated signalling events, but with different kinetics and intensity in Caco-2 cells. **Lipids in Health and Disease**, v. 12, n. 101, p. 1–7, 2013.

NAVEENA, B. M. et al. Comparative efficacy of pomegranate juice, pomegranate rind powder extract and BHT as antioxidants in cooked chicken patties. **Meat Science**, v. 80, n. 4, p. 1304–1308, 2008.

OCHOA, M. J.; BARBERA, G. History, economic and agro-ecological importance. Em: INGLESE, P. et al. (Eds.) **Crop ecology, cultivation and uses of cactus pear**. Roma, Itália: Food and Agriculture Organization of the United Nations and the International Center for Agricultural Research in the Dry Areas, 2017. cap. 1, p. 1-11.

ODOUX, E.; DOMÍNGUEZ-LÓPEZ, A. Le figuier de Barbarie · une source industrielle de bétalaïnes? **Fruits**, v. 51, n. 1, p. 61–78, 1996.

OECD. Organisation for Economic Co-operation and Development. **Meat consumption (indicator)**. Paris: França, 2022. Disponível em: <<https://data.oecd.org/agroutput/meat-consumption.htm>>. Acesso em: 13 dez. 2022.

OSUNA-MARTÍNEZ, U.; REYES-ESPARZA, J.; RODRÍGUEZ-FRAGOSO, L. Cactus (*Opuntia ficus-indica*): A Review on its Antioxidants Properties and Potential Pharmacological Use in Chronic Diseases. **Natural Products Chemistry & Research**, v. 2, n. 6, p. 1–8, 2014.

PALUMBO, B. et al. Prickly pear induces upregulation of liver LDL binding in familial heterozygous hypercholesterolemia. **Nuclear Medicine Review**, v. 6, n. 1, p. 35–39, 2003.

PAREEK, O. P.; SINGH, R. S.; VASHISHTHA, B. B. Performance of Cactus Pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] Clones in Hot Arid Region of India. **Journal of the Professional Association for Cactus Development**, v. 5, p. 121–130, 2003.

PARK, E. H. et al. An anti-inflammatory principle from cactus. **Fitoterapia**, v. 72, n. 3, p. 288–290, 2001.

PARK, E. H.; KAHNG, J. H.; PAEK, E. A. Studies on the pharmacological actions of cactus: Identification of its anti-inflammatory effect. **Archives of Pharmacal Research**, v. 21, n. 1, p. 30–34, 1998.

POKORNÝ, J. Are natural antioxidants better – and safer – than synthetic antioxidants? **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, n. 6, p. 629–642, 2007.

SABTAIN, B. et al. A Narrative Review on the Phytochemistry, Nutritional Profile and Properties of Prickly Pear Fruit. **Open Access Journal of Biogeneric Science and Research**, v. 7, n. 2, 2021.

SHARMA, H. et al. Evaluation of anti-oxidant and anti-microbial activity of various essential oils in fresh chicken sausages. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 2, p. 279–292, 2017.

SREEKANTH, D. et al. Betanin a betacyanin pigment purified from fruits of *Opuntia ficus-indica* induces apoptosis in human chronic myeloid leukemia Cell line-K562. **Phytomedicine**, v. 14, n. 11, p. 739–746, 2007.

STINTZING, F. C. et al. Color, Betalain Pattern, and Antioxidant Properties of Cactus Pear (*Opuntia* spp.) Clones. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 2, p. 442–451, 2005.

TAHIR, H. E. et al. Nopal Cactus (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill) as a Source of Bioactive Compounds. Em: **Wild Fruits: Composition, Nutritional Value and Products**. Cham: Springer International Publishing, 2019. p. 333–358.

USFDA. United States Food and Drug Administration. **Food Additive Status List**.

Maryland, Silver Spring, EUA: U.S. Food and Drug Administration, 25 ago. 2022.

Disponível em: <<https://www.fda.gov/food/food-additives-petitions/food-additive-status-list#ftnS>>. Acesso em: 3 abr. 2023.

ZAKYNTHINOS, G.; VARZAKAS, T. Lipid Profile And Antioxidant Properties of Selected Pear Cactus (*Opuntia ficus-indica*) Ecotypes From Southern Greece. **Current Research in Nutrition and Food Science Journal**, v. 4, n. 1, p. 54–57, 2016.

4 CAPÍTULO 1: AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE EXTRATO DE FIGO DA ÍNDIA (*OPUNTIA FICUS- INDICA*) APLICADO EM LINGUIÇA FRESAL DE FRANGO

Leticia Aline GONÇALVES¹; Luciana Ruggeri Menezes GOTARDO¹, Ingra Giovanna
Soares PEREZ¹, José Manuel LORENZO^{2,3}; Marco Antonio TRINDADE¹

¹ Universidade de São Paulo. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Av. Duque
de Caxias Norte, 13635-900, Pirassununga, São Paulo, Brasil;

² Centro Tecnológico de la Carne de Galicia, Rúa Galicia N-4, Parque Tecnológico de
Galicia, San Cibrao das Viñas, 32900 Ourense, Espanha;

³ Área de Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ciencias de Ourense, Universidad de
Vigo, 32004 Ourense, Espanha

RESUMO

Linguiça frescal é um dos produtos cárneos mais populares devido à praticidade, apelo sensorial e custo relativamente inferior quando comparado à carne fresca. Entretanto, as matérias primas utilizadas, bem como seus processos de fabricação, são fatores que contribuem com propriedades desencadeadoras de processos oxidativos e deterioração por microrganismos, que levam à redução da estabilidade durante o *shelf-life*. Para retardar ou reduzir estes problemas, é possível empregar extratos naturais, como o de *Opuntia ficus-indica*, que demonstra capacidade para atuar como antioxidante e antimicrobiano, mas que apesar de conter quantidades apreciáveis de compostos bioativos, ainda é escassa sua aplicação em produtos cárneos. O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito do extrato de figo da índia (EFI) sobre as características de estabilidade e qualidade de linguiça frescal de frango. Extratos obtidos por diferentes metodologias, principalmente por meio de extração sólido-líquido com solventes orgânicos (etanol:água), foram analisados quanto à capacidade antioxidante para a escolha do melhor extrato a ser incorporado no produto. A seguir, foram fabricados embutidos dos seguintes tratamentos: CON (tratamento controle, sem antioxidantes), ERI500 (eritorbato de sódio a 500 ppm) e duas diferentes concentrações de extrato (EFI1,88 e 3,75%; %m/m). Os produtos foram submetidos a uma série de análises para avaliar os efeitos sobre a estabilidade físico-química (pH, cor, oxidação lipídica e proteica) e microbiológica (psicrótroficos aeróbios, *Escherichia coli*, coliformes totais e *Salmonella*) durante o armazenamento refrigerado por 15 dias e sobre as propriedades físico-químicas (composição centesimal, dureza e perdas por cocção) e a aceitação sensorial. A incorporação do extrato obtido por extração hidroetanólica em linguiças de frango, nas duas diferentes concentrações avaliadas, não causou alteração de pH, composição centesimal e perda de peso por cocção, mas provocou aumento da dureza, redução da luminosidade (L^*) e aumento no índice de amarelo (b^*). Todos os tratamentos foram bem aceitos sensorialmente (próximo ou superior a 7 na escala hedônica de 9 pontos). As amostras com EFI tiveram valores de TBARs superiores aos demais tratamentos, provavelmente ocasionado por fatores que conduzem à superestimação das substâncias reativas ao TBA e/ou por atividade pró-oxidante pela alta dosagem de extrato. Os resultados da análise de oxidação proteica reforçam esta possibilidade de ocorrência, uma vez que os tratamentos formulados com antioxidantes, tanto natural quanto sintético, apresentaram valores inferiores ao tratamento controle no fim da vida útil, e diversos autores apontam que os dois mecanismos (oxidação proteica e lipídica) estão interligados, ou seja, um processo catalisa a propagação do outro. O extrato apresentou vantagem na redução de contagem de microrganismos

psicrotróficos aeróbios. Portanto, a utilização de extrato natural de figo da índia para substituir aditivos sintéticos ainda pode ser considerada uma boa estratégia com apelo para o desenvolvimento de produtos cárneos *clean label*, sendo necessários estudos mais aprofundados para verificar as prováveis causas para os resultados de TBARs encontrados neste estudo.

Palavras-chave: antioxidante natural, estabilidade microbiológica, estabilidade físico-química, *clean label*, produtos cárneos mais saudáveis.

ABSTRACT

Fresh sausage is one of the most popular meat products due to its practicality, sensory appeal and relatively lower cost when compared to fresh meat. However, the raw materials used, as well as the manufacturing processes, are factors that contribute to properties that trigger oxidative processes and deterioration by microorganisms, which lead to reduced stability during the shelf-life. To delay or reduce these problems, it is possible to use natural extracts, such as *Opuntia ficus-indica* ones, which demonstrate the ability to act as an antioxidant and antimicrobial, but which despite containing appreciable amounts of bioactive compounds, its application in meat products is still scarce. The objective of this work was to study the effect of prickly pear extract (EFI) on the stability and quality characteristics of fresh chicken sausage. Extracts obtained by different methodologies, mainly through solid-liquid extraction with organic solvents (water:ethanol), were analyzed for their antioxidant capacity in order to choose the best extract to be incorporated into the product. Then, sausages were manufactured from the following treatments: CON (control treatment, without antioxidants), ERI500 (sodium erythorbate at 500 ppm) and two different concentrations of extract (EFI1.88 and 3.75%). The products were submitted to various analyzes to evaluate the effects on physicochemical stability (pH, color, lipid and protein oxidation) and microbiological stability (count of aerobic psychrotrophs, *Escherichia coli*, total coliforms and *Salmonella*) during refrigerated storage for 15 days and on the physical-chemical properties (proximate composition and hardness) and sensory acceptance. The incorporation of the extract obtained by hydroethanolic extraction in chicken fresh sausages, in both concentrations evaluated, did not cause changes on pH, proximate composition and weight loss due to cooking, but caused an increase in hardness, a reduction in luminosity (L^*) and an increase in yellow index (b^*). All treatments were well accepted sensorially (close to or greater than 7 on the 9-point hedonic scale). Samples with EFI had TBARs values higher than the other treatments, probably caused by factors that lead to overestimation of TBA-reactive substances and/or by pro-oxidant activity due to the high concentration of incorporated extract. The results of the analysis of protein oxidation reinforce this possibility of occurrence, since treatments formulated with antioxidants, both natural and synthetic, showed lower values than the control treatment at the end of shelf life, and several authors point out that the two mechanisms (protein oxidation and lipid) are interconnected, that is, one process catalyzes the propagation of the other. The extract showed an advantage in reducing the count of aerobic psychrotrophic microorganisms. Therefore, the use of natural

prickly pear extract to replace synthetic additives can still be considered a good strategy with appeal for the development of clean label meat products, requiring further studies to verify the probable causes for the results of TBARs found in this study. study.

Keywords: natural antioxidant, microbiological stability, physical-chemical stability, clean label, healthier meat products.

4.1 INTRODUÇÃO

As linguiças frescas se tornaram produtos cárneos muito populares e consumidos em diversos países principalmente por apresentar um maior apelo sensorial, bem como por seu custo relativamente mais acessível em comparação à carne *in natura*. As linguiças frescas elaboradas com carne de frango, por exemplo, são apreciadas por seu sabor diferenciado, além de ser uma fonte rica em diversos nutrientes, como proteínas de alto valor biológico, aminoácidos e ácidos graxos de boa qualidade nutricional, vitaminas e minerais (MOAWAD; MOHAMED; ABDELMAGUID, 2020).

Devido à natureza das matérias primas usadas na sua fabricação e por serem geralmente produzidas com alto teor de gordura, além de não serem submetidas a nenhum tipo de tratamento térmico, as linguiças frescas são altamente susceptíveis à deterioração (PEREIRA et al., 2019). Adicionalmente, a principal matéria prima para a produção de linguiças é a carne moída, que pode ser proveniente de diferentes animais de açougue dependendo da classificação do produto. O processo de moagem da carne expõe uma extensa superfície de contato com o ambiente e a liberação de fluidos dos tecidos, que representam fatores favoráveis à proliferação de microrganismos, além da diminuição progressiva dos parâmetros de qualidade causada pela aceleração na velocidade das reações de oxidação de lipídios, proteínas e pigmentos, refletindo em alterações sensoriais indesejáveis (DJORDJEVIĆ et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2013). Por consequência, o produto torna-se altamente perecível, sendo indispensável o uso de substâncias capazes de conservar as propriedades e segurança do alimento durante o tempo de vida útil.

Uma das principais estratégias adotadas pela indústria para estender o *shelf-life* desta classe de produtos é a adição de substâncias sintéticas com atividades antioxidante e antimicrobiana capazes de retardar ou inibir o processo oxidativo e o crescimento de microrganismos (MARTÍNEZ et al., 2019). Em contrapartida, o uso destas substâncias está sendo questionado há algum tempo, pois nota-se cada vez mais a preocupação dos consumidores acerca dos ingredientes e da quantidade de aditivos sintéticos encontrados nos alimentos industrializados, evidenciando uma maior procura por produtos *clean label*, isto é, que levem em consideração uma lista curta de ingredientes, salubridade da formulação e a familiaridade dos consumidores para com os ingredientes utilizados, bem como com o menor uso de substâncias sintéticas (DELGADO-PANDO et al., 2021; HINTZ; MATTHEWS; DI, 2015).

Devido às limitações de uso e ao apelo dos consumidores por produtos *clean label*, a busca por versões naturais para substituir os aditivos sintéticos vem sendo amplamente pesquisada e evidências científicas já proporcionaram uma gama de possibilidades obtidas de fontes de origem vegetal com boas atividades protetivas, passíveis de atuar na preservação dos alimentos tanto nas características físico-químicas quanto microbiológicas, além de serem ricos em compostos bioativos que ainda podem trazer benefícios à saúde do consumidor (FERNANDES et al., 2018; FRANCO et al., 2018). Neste sentido, derivados de especiarias e ervas aromáticas demonstraram serem eficientes contra os danos relacionados ao estresse oxidativo e o desenvolvimento de microrganismos deteriorantes e patogênicos, porém têm seu uso limitado devido à influência nas características sensoriais dos produtos, principalmente por seu aroma e sabor muito pronunciados (GOTTARDI et al., 2016; ZAOUALI; BOUZAINE; BOUSSAID, 2010). Outra alternativa é a obtenção de extratos de frutas ricas em compostos com atividades antioxidantes e antimicrobianas naturais, que apresentam benefícios inclusive em termos de custos, por serem considerados simples de produzir, podendo-se utilizar matérias primas relativamente baratas, incluindo resíduos da agroindústria, sementes, cascas e polpas (ADOM; LIU, 2002; PALMERI et al., 2018).

O figo da índia (*Opuntia ficus-indica*), originalmente cultivado nas Américas, tem sido amplamente reconhecido por suas propriedades nutricionais e medicinais, como diversos efeitos antiúlcera, antiinflamatório, diurético e antidiabético (EL MOSTAFA et al., 2014; FEUGANG, 2006; HALMI et al., 2013). Seu plantio é muito comum em regiões áridas e semiáridas, por ser resistente a longos períodos de seca, requerer um clima quente e alta exposição ao sol (BENATTIA; ARRAR, 2018). Além de seu consumo na alimentação humana em algumas partes do mundo, outras importantes finalidades do figo da índia são a forragem animal e a hospedagem de fêmeas do inseto cochonilha (*Dactylopius coccus*), cujo organismo produz o ácido carmínico, utilizado como matéria prima para a produção do corante alimentício carmim de cochonilha, largamente empregado em diversos tipos de produtos (SHETTY; RANA; PREETHAM, 2012; STINTZING; SCHIEBER; CARLE, 2001). Vários estudos destacam que as frutas do gênero *Opuntia* são ricas em componentes nutricionais como aminoácidos, ácido ascórbico, magnésio, cálcio, vitaminas, carotenoides, betalaínas, betaxantinas e compostos fenólicos, e, por conseguinte, são capazes de promover uma boa capacidade de atuar como antioxidante e antimicrobiano natural (ALBANO et al., 2015; BUTERA et al., 2002; PARAFATI et al., 2021).

A crescente busca por aditivos mais naturais tem aumentado consideravelmente as estratégias para o desenvolvimento de metodologias para a extração, identificação e

quantificação de compostos bioativos de diferentes matrizes vegetais. Diversas tecnologias emergentes vêm sendo recomendadas, como o uso de campo elétrico pulsado, ultrassom e extração com fluido supercrítico (ZAFRA-ROJAS et al., 2013). Todavia, ainda se emprega em muitos casos a metodologia convencional através da extração sólido-líquido com solventes orgânicos, como a mistura de etanol e água em várias proporções, que têm seu uso permitido para fins alimentícios por serem classificados como “geralmente reconhecidos como seguros” (GRAS - *Generally Recognized as Safe*), seguido por sua evaporação para a concentração dos compostos bioativos no extrato natural (MELGAR et al., 2017; RASOULPOUR et al., 2017).

As características e composição da matriz investigada afetam diretamente os rendimentos de extração e as propriedades dos compostos que serão recuperados, por isso as condições do processo de extração, bem como a escolha do solvente adequado, devem ser cuidadosamente estabelecidas visando possibilitar a preservação dos compostos bioativos e maximizar o rendimento do processo (EL MANNOUBI, 2021; ZUORRO; IANNONE; LAVECCHIA, 2019).

Neste contexto, considerando-se que a demanda por produtos “mais naturais” tende a seguir ascendente nos próximos anos, o objetivo do presente estudo foi comparar diferentes metodologias de extração disponibilizadas na literatura científica para a obtenção de extratos de figo da índia, avaliando-se o rendimento, teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante a fim de se obter um extrato natural com propriedades desejáveis para substituir antioxidantes sintéticos. Em seguida, avaliar o efeito da adição de diferentes concentrações do referido extrato em linguça frescal de frango sobre a estabilidade oxidativa durante o armazenamento refrigerado, sobre as propriedades físico-químicas e a aceitação sensorial, assim como avaliar sua capacidade de atuar contra a proliferação de microrganismos.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Preparação dos extratos naturais

As frutas foram adquiridas em um único lote em um mercado local na região de Campinas (São Paulo, Brasil) e o experimento realizado nas dependências do Departamento de Engenharia de Alimentos (ZEA) do *campus* Fernando Costa da Universidade de São Paulo (USP FZEA), localizado na cidade de Pirassununga (São Paulo, Brasil). Foi utilizada a variedade alaranjada de *Opuntia ficus-indica* (Figura 1). Após o recebimento das frutas, foi

feita a seleção e armazenamento sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$) para posterior uso. Os figos foram lavados em água corrente e sanitizados com álcool etílico 70% (v/v).

Figura 1 – Variedade de *Opuntia ficus-indica* utilizada no experimento.



Fonte: Própria autoria.

Buscando-se a otimização da capacidade antioxidante, foram testadas seis diferentes metodologias de extração para comparação, permitindo a escolha do melhor extrato a ser incorporado nos produtos cárneos nas etapas seguintes do projeto. Foram utilizadas como matéria prima para a extração tanto a fruta inteira quanto sua polpa e casca separadamente. Para a obtenção da polpa, foi feito o descascamento manual das frutas e despulpamento em liquidificador, seguido pelo peneiramento para a separação das sementes. As cascas e a polpa foram embaladas em embalagem à vácuo e congeladas a -18°C para extração. Os extratos foram obtidos de acordo com diferentes metodologias da literatura científica, sendo elas:

- A. Metodologia de Sáenz et al. (2009) com modificações: polpa líquida de figo da Índia foi misturada com etanol P.A. na proporção 1:2 e homogeneizada em *shaker* a 120 rpm e 24°C durante 24 horas. Após, a mistura foi centrifugada por 20 minutos a 2.500 rpm. O sobrenadante foi coletado e o precipitado foi novamente extraído com etanol por 12 horas em *shaker* (120 rpm, 24°C), repetindo-se, depois, a centrifugação e nova extração do sólido precipitado nas mesmas condições descritas anteriormente. Misturou-se o sobrenadante coletado das três extrações e prosseguiu-se para a concentração.
- B. Extrato baseado na metodologia de Lourith e Kanlayavattanakul (2013) adaptada: as cascas foram cortadas em pedaços de 2x2 mm, secas em estufa a 50°C durante 24 horas e posteriormente trituradas até a obtenção de um pó fino. O material seco foi adicionado de etanol 80% (v/v) na proporção 1:5, homogeneizado em *shaker* por 60 minutos e filtrado em papel filtro Whatman nº 1.

- C. Metodologia de Wu et al. (2006), com modificações: 50 g de polpa foram extraídos com 200 mL de etanol 80% (v/v) em equipamento ultra-turrax (TE 102, Tecnal, Brasil) durante 10 minutos. A mistura foi filtrada em papel nº 1 e o sólido retido foi novamente extraído com 100 mL de solvente por 5 minutos, prosseguindo-se à nova filtração.
- D. Metodologia de Cunha et al. (2018), com algumas modificações: as cascas cortadas em pequenos pedaços foram secas em estufa a 50°C por 24 horas e trituradas por 2 minutos em triturador. 15 g deste pó foram misturados com um solvente etanol:água (40:60, v/v) e transferidos para um forno micro-ondas na potência de 400 W por 30 segundos. A mistura foi centrifugada a $2000 \times g$ durante 15 minutos e o sobrenadante foi recolhido para um frasco âmbar, enquanto o sólido foi novamente extraído com 20 mL do solvente nas mesmas condições descritas. Após nova centrifugação, juntaram-se os sobrenadantes e prosseguiu-se à concentração.
- E. Extrato obtido pela filtração da polpa em papel filtro Whatman nº 1.
- F. Metodologia de Aruwa, Amoo e Kudanga (2019) com modificações: os figos inteiros foram fatiados e secos em estufa a 50°C por 96 horas (Figura 2a e 2b). Em seguida o material foi triturado até a obtenção de um pó fino (Figura 2c). Para a extração, o pó foi solubilizado em etanol 80% (v/v) na proporção 1:10, seguindo-se para a homogeneização em *shaker* por 24 horas a 120 rpm e 24°C e filtração em papel filtro Whatman nº 1.

Em seguida, todos os extratos obtidos nas metodologias de A a F foram concentrados em evaporador rotativo a vácuo (Fisatom, modelo 802, São Paulo, Brasil) a 60 rpm, iniciando-se o processo a 40°C para a remoção da porção etanólica e com subida gradativa da temperatura até 60°C para a evaporação de parte da água dos extratos (Figura 3). Os extratos foram armazenados congelados em frasco âmbar a -18°C até a realização das análises.

4.2.2 Cálculo do rendimento

Os rendimentos foram calculados em porcentagem (%v/m), considerando-se a quantidade de fruta que foi necessária para a obtenção do extrato, de acordo com a eq.(1).

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Volume de extrato obtido (mL)}}{\text{Massa de fruta inicial necessária (g)}} \times 100 \quad (1)$$

Figura 2 – Preparação das amostras de figo da índia para posterior extração hidroetanólica.



(a) Figos fatiados (incluindo casca, polpa e sementes); (b) Figos após secagem em estufa; (c) Pó obtido após trituração das amostras secas. Fonte: Própria autoria.

Figura 3 – Concentração dos extratos em evaporador rotativo à vácuo (Fisatom, modelo 802, São Paulo, Brasil).



Fonte: Própria autoria.

4.2.3 Compostos fenólicos totais e avaliação da atividade antioxidante

4.2.3.1 Determinação de Compostos fenólicos totais (CFT)

A determinação de compostos fenólicos totais (CFT) foi feita pelo método de Folin-Ciocalteu de acordo com Singleton e Rossi Jr. (1965) para todos os extratos. Em um tubo de ensaio, misturou-se 0,5 mL de amostra diluída em água destilada e 2,5 mL da solução de Folin-Ciocalteu 10% (diluição 1:10 com água destilada). Após 6 minutos foram adicionados 2,0 mL

de carbonato de sódio 7,5% (m/v), prosseguindo-se à homogeneização em vórtex. As amostras, preparadas em triplicata, foram armazenadas ao abrigo de luz por 2 horas. Em seguida realizou-se a leitura da absorbância a 760 nm em espectrofotômetro UV/visível. Os valores de CFT foram obtidos através de uma curva de calibração preparada utilizando-se o ácido gálico como padrão, com concentrações variando de 0 a 0,1048 mg de ácido gálico/mL ($y = 10,148x + 0,026$; $R^2 = 0,9968$). Os resultados foram expressos em mg de Equivalente Ácido Gálico (EAG).g⁻¹ amostra. Após a realização dos testes preliminares, os extratos com maior concentração de compostos fenólicos totais foram selecionados para serem feitos os demais testes de determinação de capacidade antioxidante (FRAP e ABTS).

4.2.3.2 Método do Poder de Redução dos Íons do Ferro (FRAP)

O teste de poder de redução dos íons do ferro (FRAP – *Ferric Reducing Antioxidant Power*) foi realizado de acordo com a metodologia proposta por Benzie e Strain (1999) com modificações. Primeiramente foi preparado o reagente FRAP a partir da mistura das seguintes soluções na proporção 1:1:10 (v:v:v): solução de TPTZ 10 mM (2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina), solução de cloreto férrico 20 mM (FeCl₃ x 6 H₂O) e tampão acetato de sódio 0,3 M (300 mM) pH 3,6 (CH₃COONa). Após preparação das diluições adequadas dos extratos e soluções, adicionou-se aos tubos de ensaio 100 µL de amostra e 3 mL do reagente FRAP. Os tubos foram incubados a 37°C durante 30 minutos, protegidos da luz. Realizou-se a leitura das absorbâncias em espectrofotômetro UV/vis a 593 nm e calculou-se o resultado por uma curva de regressão linear do padrão Trolox (ácido-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-ácido-2-carboxílico) relacionando a concentração do padrão (variando entre 0 e 0,8502 µmol.mL⁻¹) no eixo X e os valores de absorbância no eixo Y, obtendo-se a equação da reta e o R² ($y = 1,3508x + 0,0543$; $R^2 = 0,9962$). Os resultados foram expressos através da concentração de equivalentes de Trolox (µmol Eq. Trolox (ET).g⁻¹ extrato).

4.2.3.3 Ensaio de captura de radicais ABTS

O método de descoloração do cátion radical ABTS (ácido 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)) é um dos mais utilizados para se estimar a atividade antioxidante total de compostos de natureza lipofílica e hidrofílica, aplicado de acordo com a metodologia de Re et al. (1999). A princípio foi preparada uma solução estoque de ABTS 7 mM, posteriormente adicionada de uma solução aquosa de persulfato de potássio 140 mM. Esta

mistura foi armazenada em temperatura ambiente durante 12-16 horas ao abrigo de luz. Decorrido o tempo, diluiu-se a solução em álcool etílico P.A. até a obtenção de uma absorbância $0,7 \pm 0,05$ (aproximadamente 1 mL da solução ABTS em 100 mL de etanol), lida em espectrofotômetro UV/visível a 734 nm. Para a análise das amostras, 30 μ L de uma diluição adequada foram reagidos com 3 mL do radical ABTS previamente preparado, homogeneizados em vórtex e mantidos durante 6 minutos no escuro antes da leitura das absorbâncias a 734 nm. Uma curva de calibração com Trolox (6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico) foi preparada nas concentrações variando de 0 a 2,0057 μ mol/mL ($y = 39,187x + 2,6885$; $R^2 = 0,9948$) e os resultados expressos em μ mol Equivalente Trolox (ET).g⁻¹ extrato, calculados em função da porcentagem de inibição do radical ABTS como demonstrado na eq.(2).

$$\% \text{ Inibição} = \frac{\text{Absorbância}_{\text{branco}} - \text{Absorbância}_{\text{amostra}}}{\text{Absorbância}_{\text{branco}}} \times 100 \quad (2)$$

4.2.4 Cálculos de equivalência baseados em resultados de atividade antioxidante

Para efeitos de cálculo da concentração de extrato necessária a ser adicionada às linguiças, visando-se obter uma concentração com atividade antioxidante equivalente à atividade antioxidante do aditivo sintético empregado, as mesmas análises do item 4.2.3 foram aplicadas ao eritorbato de sódio. Desta forma, a partir dos resultados das três análises de capacidade antioxidante dos extratos e do eritorbato de sódio, por meio da eq.(3) foi possível realizar os cálculos para se estimar a quantidade de extrato natural de figo da índia que deveria ser incorporada aos produtos cárneos buscando-se equivaler à atividade antioxidante de 500 ppm (0,05%) do aditivo sintético, concentração usualmente aplicada deste aditivo nesta classe de produto. A eq.(3) foi aplicada separadamente para os resultados de cada uma das três análises (CFT, FRAP e ABTS) e, após, foi calculada a média destes três resultados a fim de se obter a concentração equivalente do extrato em relação a 500 ppm de eritorbato de sódio, concentração representada pelo valor 0,05 na eq.(3). Este cálculo, juntamente com os dados de rendimento (item 4.2.2), serviu como base para selecionar o melhor extrato, bem como definir os quatro tratamentos de linguiça frescal de frango avaliados neste estudo.

$$\text{Concentração de extrato (\%)} = \frac{\text{Atividade antioxidante do eritorbato de sódio}}{\text{Atividade antioxidante do extrato}} \times 0,05 \quad (3)$$

4.2.5 Elaboração das linguças frescas de frango

Quatro tratamentos de linguça fresca de frango foram produzidos, sendo eles: CON (tratamento controle, sem adição de antioxidantes), ERI500 (adicionado de 500 mg.kg⁻¹ de eritorbato de sódio), EFI1,88 e EFI3,75 (adicionados de 1,88% e 3,75% de extrato de figo da Índia, respectivamente). Todos os tratamentos foram produzidos com os seguintes ingredientes em comum: filé de peito de frango (80,0%), pele de frango (14,0%), cloreto de sódio (1,8%), cebola em pó (0,30%), alho em pó (0,15%), pimenta branca em pó (0,05%) e nitrito de sódio (150 ppm). Água gelada foi incorporada para completar 100% da formulação, concentração a qual variou conforme o tratamento fabricado. Para a produção, peito e pele de frango foram moídos em discos de 6 e 4 mm, respectivamente, e misturados com os demais ingredientes, mantendo-se a massa refrigerada ($0\pm 1^{\circ}\text{C}$) por 30 minutos para melhor fixação dos condimentos. Em seguida, prosseguiu-se o processo de embutimento em tripa natural de suíno, embalagem em sacos de polietileno à vácuo e armazenamento refrigerado a $2\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 15 dias para a realização das análises definidas nos itens a seguir. O experimento completo foi repetido por três partidas independentes no Laboratório de Qualidade e Estabilidade de Carnes e Produtos Cárneos da FZEA/USP, utilizando-se as mesmas formulações e análises e com um intervalo de 1 mês entre as repetições.

4.2.6 Caracterização físico-química dos embutidos

4.2.6.1 Composição centesimal

A análise de composição centesimal foi realizada de acordo com as metodologias oficiais estabelecidas pela *Association of Analytical Chemists* (AOAC) para determinação de proteínas (981.10), umidade (950.46) e cinzas (920.153) (AOAC, 1997) em triplicata, enquanto que o teor de lipídios foi obtido pelo método de Bligh e Dyer (1959) em quadruplicata.

4.2.6.2 Perdas de peso por cozimento (PPC)

As linguças de frango, em triplicata, foram pesadas e posteriormente assadas em um forno elétrico pré-aquecido a 180°C até atingirem uma temperatura interna, no centro geométrico, de 72°C , monitorada com auxílio de termopar. As amostras foram então retiradas do forno e deixadas à temperatura ambiente até atingir aproximadamente 24°C , sendo

novamente pesadas, permitindo a determinação da perda de peso por cocção expressa em porcentagem de acordo com a eq.(4).

$$\text{PPC (\%)} = \frac{\text{massa}_{\text{inicial}} - \text{massa}_{\text{final}}}{\text{massa}_{\text{inicial}}} \times 100 \quad (4)$$

4.2.6.3 Análise da dureza instrumental

A textura instrumental (dureza) foi determinada utilizando-se texturômetro modelo *TA.XTplus* (Stable Micro Systems, Surrey, Inglaterra). Fatias de 20 mm foram cortadas após o cozimento das linguças e comprimidas a 50% da sua altura original com a probe P-35. Uma célula de carga de 30 kg foi usada a uma velocidade de teste de 1 mm.s^{-1} . A análise foi realizada em quintuplicata com as amostras em temperatura ambiente (Figura 4). Os valores de dureza foram obtidos por meio do *software Texture Exponent 32* (versão 1.0.0.68, *StableMicro Systems*, Vienna Court, Inglaterra).

Figura 4 – Realização da análise de dureza instrumental em texturômetro *TA.XTplus* (Stable Micro Systems, Surrey, Inglaterra).



Fonte: Própria autoria.

4.2.7 Estabilidade durante o armazenamento refrigerado

A estabilidade físico-química e microbiológica foi avaliada ao longo do armazenamento refrigerado nos dias 0, 5, 10 e 15.

4.2.7.1 Estabilidade físico-química

4.2.7.1.1 Cor objetiva

As amostras foram cortadas longitudinalmente para a leitura da cor interna. Para a análise, utilizou-se um colorímetro portátil (HunterLab, modelo MiniScan XE, Virginia, Estados Unidos), através dos parâmetros L^* (luminosidade), a^* (coloração vermelha), b^* (coloração amarela) e ΔE^* (eq.(5)) do sistema CIE Lab, com o iluminante D₆₅, ângulo de observação de 10° e abertura de célula com 30 mm, obtendo-se a média de cinco medidas retiradas de posições aleatórias.

$$\Delta E^* = [(L_{5-15}^* - L_0^*)^2 + (a_{5-15}^* - a_0^*)^2 + (b_{5-15}^* - b_0^*)^2]^{1/2} \quad (5)$$

4.2.7.1.2 Valor de pH

O pH foi determinado por pHmetro digital (Hanna Instruments S.R.L., modelo HI 99163, Estados Unidos) equipado com eletrodo combinado para leitura, perfurando-se 3 pontos de cada amostra. O pHmetro foi previamente calibrado com soluções de pH 4,01 e 7,01 em temperatura ambiente.

4.2.7.1.3 Análise de Oxidação Lipídica (TBARs)

A oxidação lipídica foi avaliada pelo índice de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARs) em triplicata, de acordo com Vyncke (1975). Os valores foram calculados através de uma curva de calibração com TEP (1,1,3,3-tetraethoxypropane), expressando-se os resultados em mg de malonaldeído (MDA).kg⁻¹ de amostra.

4.2.7.1.4 Análise de Oxidação Proteica

A oxidação proteica será quantificada pela metodologia definida por Oliver et al. (1987) com modificações (VUORELA et al., 2005), sendo realizadas duas medições: quantificação de carbonila e de proteína. Os teores serão determinados espectrofotometricamente a 370 e 280 nm, respectivamente. O cálculo será feito utilizando-se

como base uma curva de calibração preparada com o padrão albumina sérica bovina (BSA) e o resultado dado em nmol/mg.

4.2.7.2 Estabilidade microbiológica

As análises microbiológicas de agentes patogênicos foram realizadas como preconiza a Instrução Normativa nº 60 de 23 de dezembro de 2019, que determina os critérios e padrões microbiológicos para alimentos e, para o Grupo 5 (carne de aves), tem-se a categoria específica (b) que define os padrões para as linguças frescas (BRASIL, 2019). Neste caso, determina-se a pesquisa de *Salmonella* e *Escherichia coli*. A verificação de microrganismos deteriorantes foi pela contagem de psicrotróficos aeróbios.

Escherichia coli foi determinada por contagem em placas “Compact Dry EC” (Nissui Pharmaceutical Co. Ltd., Tóquio, Japão), que permite a contagem de *E. coli* e de coliformes totais após incubação invertida por 24 horas a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$. Na pesquisa do gênero *Salmonella* foi usada a placa “Compact Dry SL” (Nissui Pharmaceutical Co. Ltd., Tóquio, Japão), com a incubação das placas invertidas a $41\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas após o plaqueamento da amostra pré-enriquecida em caldo para enterobactérias EE Broth Mossel (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, Índia). Psicrotróficos aeróbios foram determinados como descrito pela metodologia padrão APHA 13.61:2015 (VASAVADA; CRITZER, 2015), por semeadura em superfície em placa de Petri contendo ágar de contagem padrão (PCA) (Merck, Hesse, Alemanha), e a incubação feita de forma invertida a $17\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 16 horas, seguida por mais 72 horas a $7\pm 1^{\circ}\text{C}$ para posterior contagem.

4.2.8 Aceitação sensorial

Para a avaliação sensorial dos embutidos foi utilizado o teste afetivo de aceitação sensorial com escala hedônica de nove pontos (variando de 1 - Desgostei extremamente a 9 - Gostei extremamente) para os atributos aparência, aroma, textura, sabor e qualidade global (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 2007). Foram recrutados 120 consumidores habituais de frango, entre alunos e funcionários da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA/USP). As linguças foram cozidas em forno elétrico a 180°C até atingirem 72°C no centro geométrico e cortadas em pedaços de 2 cm. As amostras foram apresentadas de forma monádica em blocos completamente casualizados, sendo que cada consumidor avaliou todos os tratamentos de acordo com a ficha de avaliação da Figura 5. Os testes foram submetidos ao

Comitê de Ética em Pesquisa local, sendo aprovados com número de parecer 4.254.749 (ANEXO A).

Figura 5 – Ficha de avaliação sensorial apresentada aos provadores (N = 120).

Nome: _____		Data: ____/____/____		Avaliador nº: ____	
Você está recebendo uma amostra de Linguiça Frescal de Frango . Por favor, avalie o produto e marque na escala o quanto você gostou ou desgostou das seguintes características:					
		Nº da amostra: _____			
ESCALA: 1 - Desgostei extremamente 2 - Desgostei muito 3 - Desgostei moderadamente 4 - Desgostei ligeiramente 5 - Nem gostei/nem desgostei 6 - Gostei ligeiramente 7 - Gostei moderadamente 8 - Gostei muito 9 - Gostei extremamente	Atributo	Nota			
	Aparência		Comentários:		
	Aroma		Comentários:		
	Textura		Comentários:		
	Sabor		Comentários:		
	Qualidade global		Comentários:		

Fonte: Própria autoria.

4.2.9 Análise estatística

Os resultados das análises físico-químicas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey a 5% de significância. Para fins estatísticos, cada uma das três repetições, conduzidas de forma independente, foi considerada um bloco. Para a ANOVA do teste de aceitação sensorial por escala hedônica, foram considerados os tratamentos como fatores de efeito fixo (variável independente) e os provadores como fatores de efeito aleatório (variável dependente), para cada atributo da amostra (PIMENTEL GOMES, 1982), aplicando-se o teste de comparação entre as médias de Tukey no nível de significância de 5%. Utilizou-se o *software* Statistica™ versão 13.5.0.17 (TIBCO Software Inc., Califórnia, Estados Unidos) para a condução da análise dos dados.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Teor de compostos fenólicos totais, análises de capacidade antioxidante e rendimento

Os resultados da análise de teor de compostos fenólicos totais (CFT) dos extratos de *Opuntia ficus-indica* obtidos por diferentes metodologias de extração estão apresentados na

Tabela 1, que também mostra os rendimentos em porcentagem (% v/m), considerando-se a quantidade de fruta que foi necessária para a obtenção do extrato.

Após a realização dos testes preliminares, os extratos com maior concentração de compostos fenólicos totais foram selecionados para serem feitos os demais testes de determinação de capacidade antioxidante, os quais foram: Extrato “B”, obtido a partir da casca ($18,96 \pm 0,44$ mg EAG/g de extrato), e Extrato “F” ($13,62 \pm 0,06$ mg EAG/g de extrato), obtido da fruta inteira de *Opuntia ficus-indica*. Os resultados indicam uma concentração de compostos fenólicos muito maior do que aqueles obtidos por outros autores, como, por exemplo, Chaalal, Touati e Louaileche (2012) que analisaram o extrato hidroetanólico (50% v/v) de sementes de figo da índia, obtendo valores na faixa de 2,30 mg EAG/g e Ortega-Hernández; Welte-Chanes e Jacobo-Velázquez (2018) apresentaram valores para polpa e casca da variedade vermelha como sendo, respectivamente, 4,00 e 13,00 mg EAG/g. A extração de compostos fenólicos da polpa e da casca com etanol por Aruwa, Amoo e Kudanga (2019) resultou em valores concordantes com o presente estudo, de 14,39 e 17,59 mg EAG/g, respectivamente.

Tabela 1 – Valores de rendimento e determinação de compostos fenólicos totais (CFT) dos extratos de figo da índia obtidos por diferentes metodologias de extração.

Extrato	Rendimento (%)	CFT (mg EAG/g de extrato)
A	**	$3,23 \pm 0,57^b$
B	0,54	$18,96 \pm 0,44^d$
C	12,91	$1,51 \pm 0,12^a$
D	17,06	$1,16 \pm 0,04^a$
E	7,87	$3,69 \pm 0,13^b$
F	9,36	$13,66 \pm 0,06^c$
Sig.	-	*

**resultado descartado. Sig.: Significância; n.s.: não há diferença significativa ($P > 0,05$); *letras minúsculas diferentes na mesma coluna (diferentes metodologias de extração): valores diferem estatisticamente entre si ($P < 0,05$). CFT: compostos fenólicos totais. EAG: equivalentes de ácido gálico. Fonte: Própria autoria.

Aplicou-se o teste de determinação da atividade antioxidante pelo Método do Poder de Redução dos Íons do Ferro (FRAP), cujos resultados, que podem ser vistos na Tabela 2, se mostraram superiores àqueles encontrados para extratos metanólicos de polpa das variedades vermelha, laranja e amarela, que foram, respectivamente, 2,98, 3,47 e 2,06 $\mu\text{mol ET/g}$, e para os extratos obtidos da casca da fruta, com valores de 11,47 (amarela), 19,54 (vermelha) e 21,86 $\mu\text{mol ET/g}$ (laranja) (SMERIGLIO et al., 2019).

Tabela 2 – Resultados das análises para a determinação da capacidade antioxidante dos extratos de *Opuntia ficus-indica* e do antioxidante sintético eritorbato de sódio.

Amostra	CFT (mg EAG/g de amostra)	FRAP (μmol ET/g de amostra)	ABTS (μmol ET/g de amostra)
Extrato B	18,96±0,44 ^b	44,21±0,50 ^b	45,09±1,82 ^a
Extrato F	13,66±0,06 ^a	37,42±1,30 ^a	45,01±2,02 ^a
Eritorbato de sódio	633,39±10,80 ^c	3700,90±29,43 ^c	3663,68±402,39 ^b
Sig.	*	*	*

Sig.: Significância; n.s.: não há diferença significativa ($P>0,05$); *letras minúsculas diferentes na mesma coluna (diferentes extratos): valores diferem estatisticamente entre si ($P<0,05$). CFT: compostos fenólicos totais. EAG: equivalentes de ácido gálico. ET: Equivalentes de Trolox. Fonte: Própria autoria.

Outro método utilizado para medir a atividade antioxidante foi através do teste de captura do radical ABTS, com os resultados calculados em função da porcentagem de inibição do radical, preparando-se uma curva de calibração utilizando-se o Trolox como padrão. A atividade antioxidante medida por ABTS^{•+} apresentou-se superior ao obtido por outros autores para extratos metanólicos de três variedades da fruta (amarela, branca e vermelha), cujos valores se encontravam na faixa de 4,20 a 5,30 μmol ET/g (BUTERA et al., 2002).

Para o cálculo da concentração de extrato a ser adicionada aos embutidos, visando-se equivaler à atividade antioxidante do aditivo sintético, as mesmas análises foram aplicadas ao eritorbato de sódio, obtendo-se os resultados encontrados na Tabela 2. A partir destes resultados, foi possível estimar a quantidade de extrato natural de figo da Índia necessária para equivaler à atividade antioxidante de 500 ppm (0,05%) do aditivo sintético, concentração usualmente aplicada nesta classe de produto, com os dados apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Quantidade de extrato a ser incorporada para se obter uma equivalência à atividade antioxidante de 500 ppm (0,05%) de eritorbato de sódio.

Análise	Extrato B	Extrato F
CFT	1,67 ^a	2,32 ^b
FRAP	4,19 ^a	4,94 ^b
ABTS	4,06 ^a	4,00 ^a
Média	3,30	3,75

Sig.: Significância; n.s.: não há diferença significativa ($P>0,05$); *letras minúsculas diferentes na mesma linha (diferentes extratos): valores diferem estatisticamente entre si ($P<0,05$). CFT: compostos fenólicos totais. Fonte: Própria autoria.

Verificou-se que a atividade antioxidante do eritorbato de sódio é muito maior do que aquela dos extratos naturais, isto porque o antioxidante sintético é basicamente um componente puro, enquanto que os extratos obtidos do figo da índia têm em sua composição apenas uma pequena parte de compostos antioxidantes por grama de matéria (FERNANDES et al., 2017).

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 3, a concentração do Extrato “B” (obtido da casca de *Opuntia ficus-indica*) que deveria ser adicionada aos produtos cárneos para equivaler à atividade antioxidante de 500 ppm do eritorbato de sódio é ligeiramente menor que a concentração de Extrato “F” (da fruta inteira) necessária. Todavia, levando-se em consideração também os dados de rendimento na obtenção do extrato, da Tabela 1, assume-se que a melhor opção de extrato a ser incorporado torna-se o extrato obtido da fruta inteira, uma vez que o rendimento do extrato somente da casca é de apenas 0,54%, o que implica na necessidade de utilização de uma enorme quantidade de fruta, tornando-se praticamente inviável a condução do experimento. Finalmente, foram definidos os quatro tratamentos de embutidos que foram fabricados e analisados na etapa seguinte do projeto, sendo eles:

- Tratamento controle (CON): sem adição de antioxidante de fonte natural nem sintética;
- Tratamento com antioxidante sintético (ERI500): formulado com a adição de 500 ppm de eritorbato de sódio;
- Tratamento com adição de extrato natural (EFI1,88): adicionado de 1,88% de extrato de figo da índia, o que representa 50% da quantidade necessária para equivaler à atividade antioxidante de 500 ppm de eritorbato de sódio;
- Tratamento com adição de extrato natural (EFI3,75): adicionado de 3,75% de extrato de figo da índia, concentração calculada para equivaler à capacidade antioxidante do eritorbato de sódio adicionado.

4.3.2 Composição centesimal e caracterização físico-química das linguças frescas de frango

A Tabela 4 apresenta os valores de composição centesimal, perda de peso por cocção (PPC) e de dureza instrumental dos quatro tratamentos de linguças frescas de frango. A utilização do extrato natural de figo da índia não alterou a composição centesimal de nenhum dos componentes nutricionais analisados nos produtos em comparação com os demais tratamentos ($P > 0,05$). Os valores encontrados estão de acordo com o regulamento técnico de identidade e qualidade de linguças frescas (BRASIL, 2000), que estabelece o valor mínimo

de proteínas em 12% e os valores máximos de umidade e gordura de, respectivamente, 70 e 30%.

O processo de cozimento promove a liberação de fluidos que carregam moléculas de água, gordura, nutrientes, pigmentos e outros compostos responsáveis pelo sabor e aroma do alimento. A mensuração destas perdas durante o cozimento é uma forma de se estimar a capacidade do produto em manter a água e gordura propriamente ligadas no sistema após a desnaturação e agregação das proteínas na cocção (HAYES et al., 2011). De acordo com os resultados apresentados na Tabela 4, a incorporação do extrato natural não afetou as perdas de peso das linguças durante o cozimento ($P>0,05$), assim como não foram observadas diferenças significativas em produtos cárneos semelhantes, como hambúrgueres formulados com ou sem adição de compostos antioxidantes de açaí (BELLUCCI et al., 2022) e linguças frescas formuladas com diferentes extratos vegetais (HAYES et al., 2011).

Tabela 4 – Composição centesimal, perda de peso por cocção (PPC) e análise de textura (dureza) das linguças frescas de frango.

Parâmetro	Tratamento				Sig.
	CON	ERI500	EFI1,88	EFI13,75	
Composição centesimal (g/100g)					
Umidade	69,14±0,42	70,10±0,47	69,95±0,24	69,26±1,18	n.s.
Proteína	18,33±0,73	18,48±0,55	18,86±0,64	18,81±0,97	n.s.
Lipídios	9,48±0,45	8,34±0,37	8,31±0,91	8,26±0,63	n.s.
Cinzas	2,46±0,05	2,50±0,05	2,63±0,06	2,68±0,22	n.s.
PPC (%)	11,21±1,50	11,44±1,25	10,04±2,18	9,75±1,73	n.s.
Dureza (N)	10,25±1,08 ^a	10,75±0,66 ^{ab}	12,30±0,19 ^b	12,05±0,36 ^b	*

Sig.: Significância; n.s.: não há diferença significativa ($P>0,05$); *letras minúsculas diferentes na mesma linha (diferentes tratamentos): valores diferem estatisticamente entre si ($P<0,05$). Tratamentos:

CON: preparado sem antioxidante; ERI500: preparado com 500 mg.kg⁻¹ de eritorbato de sódio; EFI1,88: preparado com 1,88% de extrato de figo da índia; EFI13,75: preparado com 3,75% de extrato de figo da índia. Fonte: Própria autoria.

Por outro lado, as formulações fabricadas com a adição do antioxidante natural apresentaram valores relativamente maiores na análise de dureza ($P<0,05$) no presente estudo (Tabela 4). Um comportamento semelhante foi observado por Sharma e Yadav (2020), que apontaram maiores índices de dureza em amostras de hambúrguer de frango adicionados de antioxidante de casca de romã (*Punica granatum*) em comparação com a formulação controle.

Isto pode ter sido ocasionado por uma maior rigidez fornecida pelos componentes sólidos do extrato natural, bem como pelo desenvolvimento de reações de escurecimento não enzimático devido à presença de açúcares da fruta, como caramelização e reações de Maillard, cuja velocidade de propagação é muito acelerada com a aplicação de altas temperaturas para o cozimento das amostras (MAILLARD, 1912; OLIVER; MELTON; STANLEY, 2006). A caramelização resulta em reações de condensação e formação de uma rede polimérica que confere maior dureza ao material (BADÍA et al., 2020) e, além disso, a ocorrência de reações de Maillard acarreta na alteração de propriedades funcionais das proteínas devido à formação de conjugados a partir de ligações covalentes de suas cadeias com açúcares redutores, como é o caso da glicose e frutose presentes no extrato de figo da índia, além de favorecer o *cross-linking* (ligações cruzadas) entre cadeias de proteínas, que também causa alterações na textura dos alimentos (OLIVER; MELTON; STANLEY, 2006; STAROWICZ; ZIELIŃSKI, 2019).

4.3.3 Cor objetiva e pH

Com relação aos parâmetros de cor (Tabela 5), em geral o tempo de armazenamento não causou diferenças significativas ($P>0,05$) em nenhum dos tratamentos para nenhum dos parâmetros analisados (L , a^* e b^*), exceto pelo índice a^* das amostras adicionadas de 1,88% de extrato de figo da índia (EFI), que sofreu um aumento no 5º dia de armazenamento, recuperando os valores nos dias seguintes. As diferenças na coloração das amostras dos diferentes tratamentos de linguiça frescal de frango no início do tempo de armazenamento também podem ser visualizadas na Figura 6. As amostras formuladas com EFI apresentaram uma tendência a serem mais escuras, como pode ser visto pelos menores valores de L^* , indicando que a presença do extrato afetou a cor natural das linguiças de frango causando o escurecimento das amostras. A mesma situação foi relatada em hambúrgueres de frango por Menegali et al. (2020), ao adicionar extrato de pimenta rosa, e por Selani et al. (2011) com a adição de extratos de uva.

Os índices de a^* e b^* demonstraram uma tendência de se apresentarem relativamente maiores quanto maior a concentração de extrato natural adicionado, fenômeno ainda mais notório para o parâmetro b^* , evidenciando que o extrato obtido da variedade laranja de *Opuntia ficus-indica* provocou um amarelamento das amostras de linguiça frescal de frango ($P<0,05$). No entanto, a variação total de cor calculada pelo ΔE^* não apresentou diferenças significativas entre tratamentos ($P>0,05$) e períodos de estocagem ($P>0,05$), apesar de atingir valores absolutos superiores ao limite perceptível considerado “muito nítido” (ΔE^* maior que 3) a

partir do 10º dia de armazenamento para os tratamentos CON, ERI500 e EFI1,88 e permanecer na faixa considerada como uma diferença total de cor “nítida” ($1,5 < \Delta E^* < 3$) para os valores absolutos do tratamento adicionado de 3,75% de extrato de *O. ficus-indica* por todo o período analisado (FRANCIS; CLYDESDALE, 1975).

Tabela 5 – Parâmetros de cor das linguças frescas de frango durante o armazenamento refrigerado.

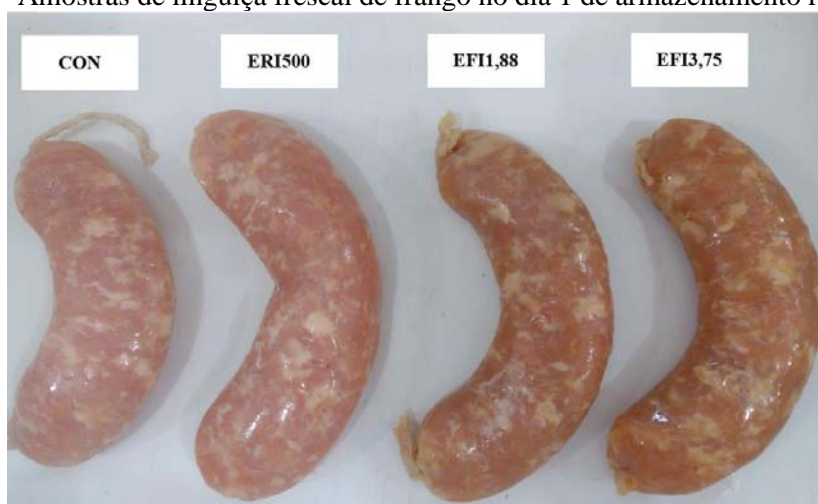
Parâmetro	Tempo (dias)	Tratamento				Sig.
		CON	ERI500	EFI1,88	EFI3,75	
L	0	31,97±0,99 ^b	30,18±0,86 ^{ab}	29,10±2,39 ^{ab}	27,26±1,40 ^a	*
	5	33,58±2,17 ^b	32,48±1,78 ^{ab}	28,92±1,53 ^{ab}	28,67±1,83 ^a	*
	10	35,09±0,25 ^c	34,00±1,43 ^{bc}	31,43±0,93 ^{ab}	29,59±1,32 ^a	*
	15	36,78±2,33 ^b	34,41±1,67 ^{ab}	33,85±2,55 ^{ab}	29,59±1,55 ^a	*
	Sig.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
a	0	-0,21±0,10 ^a	0,34±0,11 ^a	1,14±0,53 ^{bA}	2,02±0,12 ^c	*
	5	-0,01±0,35 ^a	0,16±0,22 ^a	1,66±0,10 ^{bB}	2,16±0,27 ^b	*
	10	-0,08±0,31 ^a	-0,19±0,61 ^a	1,11±0,28 ^{abA}	2,08±0,89 ^b	*
	15	-0,20±0,44 ^a	0,053±0,46 ^a	1,27±0,12 ^{bA}	2,08±0,36 ^b	*
	Sig.	n.s.	n.s.	*	n.s.	
b	0	6,74±1,16 ^a	6,91±0,66 ^a	10,49±2,01 ^b	15,28±1,13 ^c	*
	5	7,17±0,75 ^a	7,12±0,90 ^a	12,12±0,66 ^b	15,87±1,13 ^c	*
	10	7,18±0,97 ^a	6,52±1,04 ^a	11,75±1,20 ^b	15,31±0,99 ^c	*
	15	6,55±1,04 ^a	7,42±0,66 ^a	11,54±1,25 ^b	15,99±0,57 ^c	*
	Sig.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
ΔE^*	0-5	1,82±1,18	2,34±0,95	1,96±1,30	1,25±0,54	n.s.
	0-10	3,21±0,78	3,98±1,53	3,00±1,75	2,44±1,29	n.s.
	0-15	4,84±3,19	4,31±2,35	5,03±4,11	2,34±2,70	n.s.
	Sig.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	

Sig.: Significância; n.s.: não há diferença significativa ($P>0,05$); *letras minúsculas diferentes na mesma linha (diferentes tratamentos): valores diferem estatisticamente entre si ($P<0,05$); *letras maiúsculas diferentes na mesma coluna (diferentes tempos de armazenamento): valores diferem estatisticamente entre si ($P<0,05$). Tratamentos: CON: preparado sem antioxidante; ERI500: preparado com 500 mg.kg⁻¹ de eritorbato de sódio; EFI1,88: preparado com 1,88% de extrato de figo da índia; EFI3,75: preparado com 3,75% de extrato de figo da índia. Fonte: Própria autoria.

O valor de pH das linguças frescas não sofreu variação nem com as diferenças nas formulações utilizadas ($P>0,05$) nem com o tempo de estocagem analisado ($P>0,05$),

permanecendo praticamente constante durante todo o período de armazenamento refrigerado, conforme apresentado na Tabela 6. Estes resultados indicam que a adição do extrato de *Opuntia* não teve influência sobre a acidez dos produtos cárneos. Selani et al. (2011) também não notaram diferença significativa no pH de amostras de hambúrguer de frango que foram adicionadas de extratos naturais provenientes do processamento de uva em comparação com amostras controle, assim como Hossain et al. (2021) não apontaram diferença significativa nos valores de pH de linguças de frango adicionadas de extrato de gengibre comparando-se com o tratamento sem antioxidantes durante 15 dias de armazenamento.

Figura 6 – Amostras de linguça frescal de frango no dia 1 de armazenamento refrigerado.



Tratamentos: CON: preparado sem antioxidante; ERI500: preparado com 500 mg.kg⁻¹ de eritorbato de sódio; EFI1,88: preparado com 1,88% de extrato de figo da índia; EFI3,75: preparado com 3,75% de extrato de figo da índia. Fonte: Própria autoria.

4.3.4 Oxidação lipídica

A avaliação da oxidação lipídica é um fator muito importante em produtos alimentícios por estar intrinsecamente relacionada à aspectos de aceitação sensorial, pois sua ocorrência acarreta no desenvolvimento de odores e sabores indesejáveis, além de afetar a segurança e o valor nutricional devido à formação de compostos tóxicos (McCLEMENTS; DECKER, 2010). Uma das formas mais utilizadas para se estimar a peroxidação lipídica em carnes e produtos cárneos é através da técnica espectrofotométrica de mensuração da concentração de malonaldeído (MDA), produto secundário da hidrólise de superóxidos lipídicos que reage com o ácido tiobarbitúrico (TBA) gerando um complexo com absorbância máxima em 532-538 nm e que pode ser quantificado a partir de uma curva de calibração de tetraetoxipropano (TEP) (YOUNG; TRIMBLE, 1991).

Tabela 6 – Avaliação dos valores de pH das linguças frescas de frango durante o armazenamento refrigerado.

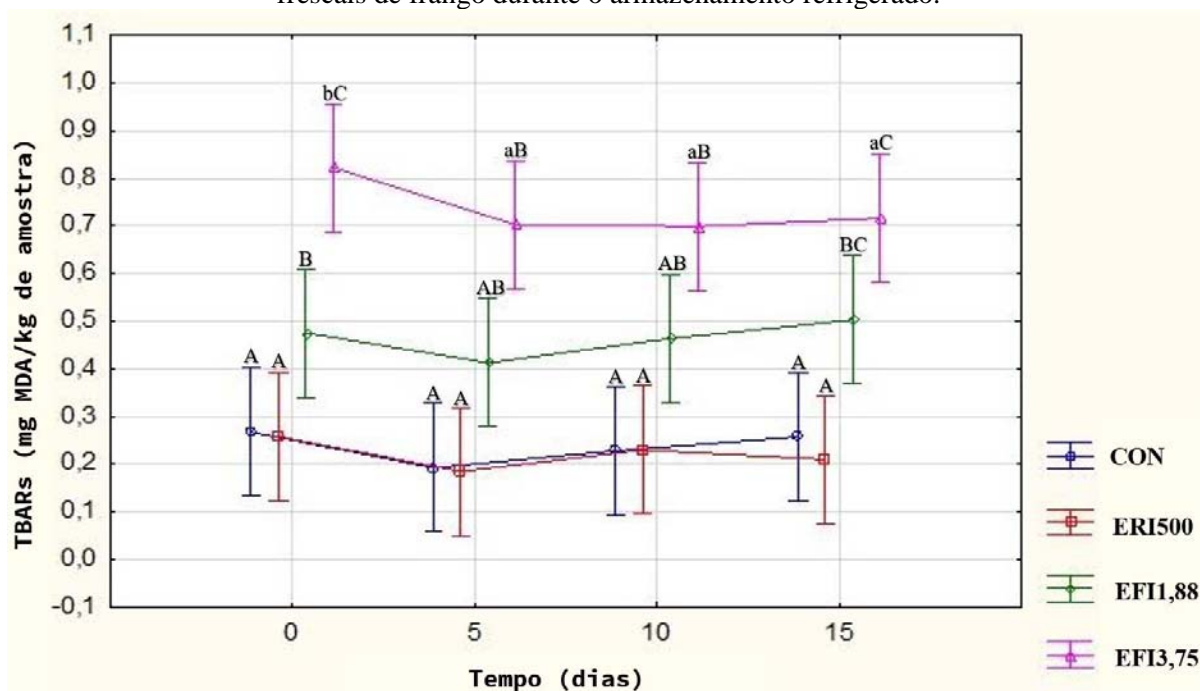
Tratamento	Tempo de armazenamento (dias)				Sig.
	0	5	10	15	
CON	5,93±0,09	5,92±0,04	5,97±0,12	5,87±0,14	n.s.
ERI500	5,94±0,09	5,96±0,04	5,93±0,13	5,90±0,10	n.s.
EFI1,88	5,90±0,04	5,92±0,04	5,91±0,08	5,68±0,37	n.s.
EFI3,75	5,87±0,05	5,88±0,02	5,90±0,05	5,90±0,01	n.s.
Sig.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	

Sig.: Significância; n.s.: não há diferença significativa ($P>0,05$). Tratamentos: CON: preparado sem antioxidante; ERI500: preparado com 500 mg.kg⁻¹ de eritorbato de sódio; EFI1,88: preparado com 1,88% de extrato de figo da índia; EFI3,75: preparado com 3,75% de extrato de figo da índia. Fonte: Própria autoria.

Apesar de ser um método simples e rápido, há diversas críticas em relação à interpretação dos resultados, que pode ser considerada complexa uma vez que várias outras substâncias além do MDA podem reagir com o TBA, interferindo com a superestimação dos resultados (GUTTERIDGE; TICKNER, 1978). Diversos estudos apontam que componentes comumente encontrados em matrizes alimentícias podem contribuir com a formação de TBARs, isto é, substâncias que reagem com o TBA, mas que não estão relacionadas propriamente à peroxidação lipídica, como aldeídos, produtos gerados por reações de escurecimento, degradação proteica e de açúcares (GUILLÉN-SANS; GUZMÁN-CHOZAS, 1998; PAPASTERGIADIS et al., 2012). Ainda, o aquecimento de carboidratos ao redor de 100°C provoca a formação de um complexo colorido na presença do TBA, com sensibilidade maior para a frutose e sacarose, resultando em valores erroneamente altos devido à sobreposição de espectros de absorção na faixa de comprimento de onda analisada (DU; BRAMLAGE, 1992; GUILLÉN-SANS; GUZMÁN-CHOZAS, 1998; YU; SINNHUBER, 1962).

Este fenômeno pode explicar os valores de TBARs significativamente maiores ($P<0,05$) encontrados para os tratamentos formulados com a adição de extrato de figo da índia (EFI), conforme consta na Figura 7, que foram gradativamente elevados à medida que se aumentou a concentração de extrato adicionado, em comparação com o tratamento controle e o tratamento adicionado de 500 ppm de antioxidante sintético, dado que a matriz utilizada na obtenção do extrato é uma fruta naturalmente rica em açúcares, principalmente frutose e glicose segundo a literatura científica (EL KOSSORI et al., 1998; SAWAYA et al., 2007).

Figura 7 – Evolução dos valores de TBARS (mg de malonaldeído/kg de amostra) das linguças frescas de frango durante o armazenamento refrigerado.



Sig.: Significância; n.s.: não há diferença significativa ($P > 0,05$); *letras minúsculas diferentes horizontalmente (diferentes tempos de armazenamento): valores diferem estatisticamente entre si ($P < 0,05$); *letras maiúsculas diferentes verticalmente (diferentes tratamentos): valores diferem estatisticamente entre si ($P < 0,05$). Tratamentos: CON: preparado sem antioxidante; ERI500: preparado com 500 mg.kg^{-1} de eritorbato de sódio; EFI1,88: preparado com 1,88% de extrato de figo da índia; EFI3,75: preparado com 3,75% de extrato de figo da índia. Fonte: Própria autoria.

Evidentemente, a eficácia da atividade antioxidante aumenta conforme o aumento da concentração administrada, porém a utilização de concentrações extremas pode causar efeitos indesejáveis e, portanto, a melhoria da estabilidade oxidativa é restringida a um limite máximo da substância antioxidante, inclusive porque, independentemente da origem (sintética ou natural), deve-se levar em consideração uma certa toxicidade destes compostos, mesmo que seja muito baixa (POKORNÝ, 2007). Além disso, autores reportam que algumas substâncias antioxidantes podem se comportar como pró-oxidantes (substâncias químicas que induzem o estresse oxidativo) dependendo de alguns fatores, tais quais a presença de íons metálicos, potencial redox e a concentração da substância na matriz, a qual pode exercer efeito antioxidante em pequenas dosagens ou pró-oxidante ao ser usada em altas doses, como, por exemplo, a Vitamina C (SEO; LEE, 2002; SOTLER, 2019). Os compostos fenólicos presentes no extrato de *Opuntia ficus-indica* também são substâncias capazes de exibir efeitos pró-oxidantes, como na presença de metais (ex. ferro), que podem provocar estresse oxidativo ao catalisar a formação de radicais fenólicos que danificam moléculas lipídicas, além de seu efeito

antioxidante vs. pró-oxidante estar diretamente relacionado à concentração utilizada (YORDI et al., 2012).

Desta forma, as duas abordagens citadas anteriormente podem ter sido responsáveis pelos elevados valores de TBARs encontrados para os tratamentos EFI3,75 e EFI1,88 em comparação com os demais tratamentos. A primeira é a presença de açúcares no extrato de figo da Índia, componentes que podem reagir com o TBA interferindo na superestimação resultados de TBARs, e, o segundo contribuinte pode ter sido a grande quantidade de extrato aplicada nos embutidos, levando a um efeito contrário daquele esperado e contribuindo com atividades pró-oxidantes. Este mesmo fato foi observado por Sáyago-Ayerdi, Brenes e Goñi (2009), visto que a utilização de 1,0% fibra dietética antioxidante de uva resultou em menores índices de oxidação lipídica ao longo de 13 dias de armazenamento refrigerado de hambúrgueres crus de frango quando comparado ao tratamento que recebeu 2,0% do referido antioxidante natural. Resultados semelhantes foram apresentados por Ryu, Shim e Shin (2014): 0,5% de extrato de bagaço de uva foi mais efetivo para a estabilidade oxidativa de lipídios (menores valores de TBARs) em linguças de carne de porco do que a adição de 1,0% de extrato.

De qualquer maneira, todos os tratamentos foram capazes de manter estáveis os valores obtidos para a oxidação lipídica durante o armazenamento refrigerado ($P>0,05$), com exceção de EFI3,75 que apresentou uma queda no valor do primeiro para o segundo ponto de análise, mas que posteriormente se manteve estável até o fim do período analisado. Vale ressaltar que todos os valores de TBARs encontrados para os quatro tratamentos de linguça frescal de frango se mantiveram abaixo de 2,0 mg/kg durante os quinze dias de armazenamento refrigerado, podendo ser ainda considerado um nível imperceptível quanto ao desenvolvimento do aroma de ranço para os consumidores (CAMPO et al., 2006).

4.3.5 Oxidação Proteica

Os mecanismos de oxidação de proteínas em sistemas alimentares ainda são difíceis de se explicar completamente, uma vez que compreende uma grande complexidade de reações quando comparada ao processo de peroxidação lipídica, ocasionando a geração de uma variedade ainda maior de produtos derivados da degradação da carne, o que afeta tanto componentes hidrofílicos quanto lipofílicos do tecido muscular (JONGBERG; LUND; SKIBSTED, 2017). A oxidação de proteínas e lipídios pode representar uma parcela significativa da deterioração de carnes e produtos cárneos. Sendo assim, seu controle é de vital

importância para evitar a redução da qualidade, rejeição do consumidor e consequentes perdas econômicas.

A oxidação proteica pode ser induzida pelo desenvolvimento de reações diretas com espécies reativas de oxigênio ou por meio de reações indiretas com subprodutos secundários do processo oxidativo, como, por exemplo, da oxidação lipídica, causando alterações irreversíveis de propriedades físicas e químicas das cadeias proteicas e de aminoácidos, como a conformação, estrutura, solubilidade e susceptibilidade à proteólise, as quais podem estar diretamente relacionadas a consequências negativas para as características de qualidade e funcionalidade da matriz cárnea para o processamento de seus produtos derivados, como a capacidade de retenção de água, maciez e gelificação, além de perdas nutricionais pela degradação de nutrientes essenciais e geração de compostos tóxicos (ZHANG; XIAO; AHN, 2013; DOMÍNGUEZ et al., 2021).

A formação de grupos carbonila é uma das principais modificações geradas pela oxidação direta ou indireta de proteínas e estes derivados podem reagir com grupos amina, levando à formação de ligações cruzadas entre as cadeias proteicas (STADTMAN, 1990). O método de derivatização de compostos carbonílicos com dinitrofenilhidrazina (DNFH) é um dos mais convenientes para quantificar os níveis de oxidação proteica em alimentos (OLIVER et al., 1987; LEVINE et al., 1994). Este foi o princípio do método utilizado no presente estudo, cujos resultados estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 – Evolução dos índices de oxidação proteica (nmol de carbonila/mg de proteína) das linguças frescas de frango no início e ao final do armazenamento refrigerado.

Tratamento	Tempo de armazenamento (dias)		Sig.
	0	15	
CON	2,06±0,54 ^a	3,64±0,49 ^{bB}	*
ERI500	2,02±0,35	2,09±0,60 ^A	n.s.
EFI1,88	2,10±0,58	2,21±0,51 ^A	n.s.
EFI3,75	1,93±0,43	2,15±0,36 ^A	n.s.
Sig.	n.s.	*	

Sig.: Significância; n.s.: não há diferença significativa ($P>0,05$); *letras minúsculas diferentes na mesma linha (diferentes tempos de armazenamento): valores diferem estatisticamente entre si ($P>0,05$); *letras maiúsculas diferentes na mesma coluna (diferentes tratamentos): valores diferem estatisticamente entre si ($P<0,05$). Tratamentos: CON: preparado sem antioxidante; ERI500: preparado com 500 mg.kg⁻¹ de eritorbato de sódio; EFI1,88: preparado com 1,88% de extrato de figo da índia; EFI3,75: preparado com 3,75% de extrato de figo da índia. Fonte: Própria autoria.

Os resultados evidenciam a eficácia do antioxidante natural utilizado nas linguças frescas de frango para conter a propagação de reações de oxidação proteica, uma vez que a concentração de carbonila de ambos os tratamentos formulados com extrato de figo da Índia se encontraram no mesmo patamar ($P>0,05$) daquele formulado com o antioxidante sintético eritorbato de sódio, além de não ter ocorrido evolução dos valores entre o início e final do tempo de armazenamento ($P>0,05$), enquanto que a formulação controle produzida sem a adição de antioxidantes apresentou um aumento significativo na concentração de carbonilas ao final da vida útil.

Autores afirmam que a oxidação de proteínas está geralmente relacionada a outros processos catalisados pela presença de oxigênio em alimentos, dentre eles a oxidação lipídica. Isto indica que a formação de produtos intermediários do processo de oxidação de lipídios, como radicais alquilperóxil, alcóxirradicais e hidroperóxidos, pode induzir indiretamente a desnaturação oxidativa de proteínas, ou seja, a oxidação de lipídios e de proteínas ocorre de maneira simultânea e cada processo pode intensificar o desenvolvimento de outro (CHAIJAN, 2008; ZHANG; XIAO; AHN, 2013; DOMÍNGUEZ et al., 2021). Desta forma, ao observar o efeito antioxidante do extrato natural sobre as proteínas, pode-se assumir que este fato corrobora o que foi apresentado no item 2.1.3, o qual sugere que os valores de oxidação lipídica podem ter sido, na realidade, uma superestimação da quantificação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, uma vez que o desenvolvimento de ambos os mecanismos está interligado (JONGBERG; LUND; SKIBSTED, 2017). Portanto, a utilização do extrato de figo da Índia pode ser considerada uma boa alternativa para manter a qualidade e estabilidade de linguça fresca de frango, exercendo atividade protetiva contra a oxidação e contribuindo para estender a vida útil destes produtos.

4.3.6 Análise sensorial

Os resultados para a análise sensorial de linguça fresca de frango realizada com 120 consumidores podem ser visualizados na Tabela 8. As diferentes formulações não apresentaram diferença significativa quanto ao atributo de aparência ($P>0,05$), mas os tratamentos formulados com 3,75% e 1,88% de extrato de figo da Índia alcançaram notas relativamente menores para aroma, textura, sabor e qualidade global. Estas diferenças de aceitabilidade podem ser explicadas pela inclusão de componentes do extrato capazes de influenciar na percepção sensorial do consumidor, como o sabor e aroma peculiares fornecidos pelo extrato da fruta. Apesar disto, todas as médias estiveram próximas ou superiores à

pontuação 7 em uma escala com variação de 1 (Desgostei extremamente) a 9 (Gostei extremamente), indicando que mesmo em altas concentrações o extrato natural de *Opuntia* pode ser considerado bem aceito sensorialmente em todos os atributos avaliados.

Tabela 8 – Resultados do teste de aceitação sensorial com 120 consumidores.

Tratamento	Atributo				
	Aparência	Aroma	Textura	Sabor	Qualidade global
CON	6,74±1,86	7,35±1,65 ^{AB}	7,80±1,21 ^B	7,90±1,05 ^{BC}	7,74±1,10 ^{BC}
ERI500	6,76±1,87	7,50±1,44 ^B	7,88±1,28 ^B	8,04±1,18 ^C	7,88±1,16 ^C
EFI1,88	6,68±1,87	7,18±1,52 ^{AB}	7,53±1,38 ^{AB}	7,55±1,32 ^B	7,44±1,24 ^{AB}
EFI3,75	6,73±1,81	6,86±1,65 ^A	7,28±1,49 ^A	6,94±1,84 ^A	7,13±1,44 ^A
Sig.	n.s.	*	*	*	*

Sig.: Significância; n.s.: não há diferença significativa ($P>0,05$); *letras maiúsculas diferentes na mesma coluna (diferentes tratamentos): valores diferem estatisticamente entre si ($P<0,05$).

Tratamentos: CON: preparado sem antioxidante; ERI500: preparado com 500 mg.kg⁻¹ de eritorbato de sódio; EFI1,88: preparado com 1,88% de extrato de figo da índia; EFI3,75: preparado com 3,75% de extrato de figo da índia. Fonte: Própria autoria.

O estudo realizado por Romero et al. (2021) indicou que amostras de hambúrgueres formulados com adição de polpa liofilizada de *Opuntia ficus-indica* da variedade vermelha apresentou aceitação global similar ao tratamento controle, além de ter melhorado significativamente a estabilidade oxidativa durante o *shelf-life* quando comparado à não adição de antioxidantes, indicando o efeito protetor dos componentes da polpa, como compostos fenólicos e flavonóides. A aceitabilidade de salames formulados com extrato de *Opuntia* vermelha para substituir o nitrito de sódio e o corante carmim de cochonilha foi maior quanto maior a quantidade de extrato adicionada, demonstrando um aumento significativo na aceitação de amostras formuladas com 2,5% de extrato em comparação com o tratamento controle, o que pode ser atribuído também à melhora provocada na estabilidade físico-química e microbiológica das amostras, refletindo na melhoria das características de qualidade sensorial (KHARRAT et al., 2018).

Outros estudos apontaram que a utilização de concentrações comparativamente menores de óleos essenciais de ervas aromáticas pode comprometer drasticamente a aceitação sensorial de produtos cárneos, tornando complexa a tarefa de encontrar uma dose efetiva do agente natural contra os danos oxidativos e microbiológicos que ainda seja capaz de manter satisfatórios os atributos organolépticos dos produtos (LAMBERT et al., 2001). Como exemplo, autores apontam que os níveis considerados aceitáveis sensorialmente para óleo

essencial de tomilho (SOLOMAKOS et al., 2008) e orégano (HULANKOVA; BORILOVA; STEINHAUSEROVA, 2013) são, respectivamente, 0,3% e 0,2%, o que pode representar uma atividade antimicrobiana e antioxidante ineficiente para estender o *shelf-life* de produtos cárneos em substituição aos aditivos sintéticos. Desta forma, as frutas se tornam boas alternativas como fonte para a obtenção de extratos naturais, uma vez que seu sabor menos marcante permite a incorporação de quantidades relativamente maiores sem provocar grandes alterações sensoriais em comparação com os óleos essenciais de ervas aromáticas (HOLLEY; PATEL, 2005).

4.3.7 Estabilidade microbiológica

De acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2019), o limite microbiológico estabelecido para *Escherichia coli* em produtos frescos à base de carne de frango é de 10^3 UFC/g, além da determinação de ausência de *Salmonella* em 25 gramas de amostra. Todos os tratamentos estiveram em conformidade (Tabela 9) com a legislação vigente durante o tempo de vida útil e, juntamente com os resultados da contagem de coliformes totais, são indicativos de boas condições sanitárias adotadas durante o processamento dos produtos e manutenção da temperatura de estocagem adequada.

Para a contagem de microrganismos psicrotróficos aeróbios (Tabela 9), o limite estabelecido pela *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF) é de 10^7 UFC/g para esta classe de produtos ser considerada apta ao consumo sem grandes alterações indesejáveis e em um nível de deterioração aceitável (ICMSF, 1986). Neste caso, todos os tratamentos de linguiça frescal de frango apresentaram contagem inferior ao limite durante os quinze dias de armazenamento refrigerado.

A adição de extrato de figo da Índia foi capaz de reduzir a contagem de microrganismos psicrotróficos aeróbios em comparação com os demais tratamentos em todos os pontos analisados e, ao final do *shelf-life*, atingiu uma redução superior a 1 ciclo logarítmico para o tratamento formulado com 3,75% de extrato natural quando comparado com o tratamento controle e aquele formulado com antioxidante sintético, demonstrando certa vantagem quanto ao controle da proliferação microbiana. Diversos outros autores enfatizaram a atividade antimicrobiana de extratos obtidos de *Opuntia*, como, por exemplo, contra os microrganismos patogênicos *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Pseudomonas* sp., *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* e *Salmonella*, demonstrando eficiência

inclusive quando aplicados como forma de estratégia para a conservação de produtos cárneos como salame e hambúrguer (KHARRAT et al., 2018; PALMERI et al., 2018; SEO et al., 2012; ZITO et al., 2013).

Tabela 9 – Resultados da estabilidade microbiológica durante o armazenamento refrigerado.

Tempo de armazenamento (dias)	Tratamento			
	CON	ERI500	EFI1,88	EFI3,75
<i>E. coli</i> (log UFC/g)				
0	1,73	1,64	1,31	1,13
15	1,19	1,10	1,13	1,18
Coliformes totais (log UFC/g)				
0	2,31	2,16	1,92	1,73
15	1,73	1,63	1,41	1,14
<i>Salmonella</i> (ausência/presença em 25g)				
0	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
15	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
Psicrotróficos aeróbios (log UFC/g)				
0	4,55	4,71	4,59	4,33
5	4,71	4,70	4,06	3,67
10	5,23	5,61	5,03	4,17
15	6,09	6,24	5,75	4,85

Valores expressos como médias; Tratamentos: CON: preparado sem antioxidante; ERI500: preparado com 500 mg.kg⁻¹ de eritorbato de sódio; EFI1,88: preparado com 1,88% de extrato de figo da índia; EFI3,75: preparado com 3,75% de extrato de figo da índia. UFC/g = unidades formadoras de colônia por grama. Fonte: Própria autoria.

4.4 CONCLUSÃO

O desenvolvimento do presente projeto de pesquisa permitiu avaliar diferentes metodologias de extração para a obtenção de extratos de *Opuntia ficus-indica* com potencial aplicação como antioxidante e antimicrobiano em produtos cárneos. A incorporação do extrato hidroetanólico em linguças frescas de frango não causou alteração nos valores de pH, composição centesimal e perda de peso por cocção, mas provocou um leve aumento no parâmetro de dureza, redução da luminosidade (L*) e aumento no índice de amarelo (b*). Todos os tratamentos foram bem aceitos sensorialmente. Com relação à estabilidade oxidativa

de lipídios, as amostras formuladas com adição de extrato de figo da índia demonstraram valores de TBARs superiores aos demais tratamentos, porém, isto pode ter sido ocasionado por fatores que conduzem à superestimação da concentração de substâncias reativas ao TBA e/ou por atividade pró-oxidante pela alta concentração de extrato incorporada, que não está propriamente ligado ao desenvolvimento de reações de oxidação lipídica. Os resultados da análise de oxidação proteica reforçam esta possibilidade de ocorrência, uma vez que os tratamentos formulados com antioxidantes, tanto natural quanto sintético, apresentaram valores inferiores ao tratamento controle no fim da vida útil, e diversos autores apontam que os dois mecanismos (oxidação proteica e lipídica) estão interligados, ou seja, um processo catalisa a propagação do outro. Por fim, o extrato apresentou vantagem na redução de contagem de microrganismos psicrotróficos aeróbios, contribuindo para a conservação microbiológica dos produtos durante o *shelf-life*. Portanto, a utilização de extrato natural de figo da índia para substituir o uso de aditivos sintéticos ainda pode ser considerada uma estratégia viável com um apelo para o desenvolvimento de produtos cárneos *clean label*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, Brasil) pelo apoio financeiro (Processo nº 2020/04544-9). Este estudo foi parcialmente financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001. Os autores (Marco Antonio Trindade e José Manuel Lorenzo) são membros da rede *HealthyMeat*, financiada pelo CYTED (ref. 119RT0568).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADOM, K. K.; LIU, R. H. Antioxidant activity of grains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 21, p. 6182–6187, 2002.

ALBANO, C. et al. Betalains, phenols and antioxidant capacity in cactus pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] fruits from Apulia (South Italy) genotypes. **Antioxidants**, v. 4, n. 2, p. 269–280, 2015.

AOAC. Official methods of analysis of AOAC International. Official Method 996.901 American Oil Chemists' Society. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. Cd 12b-92**, 1997.

ARUWA, C. E.; AMOO, S.; KUDANGA, T. Phenolic compound profile and biological activities of Southern African *Opuntia ficus-indica* fruit pulp and peels. **LWT – Food Science and Technology**, v. 111, p. 337–344, 2019.

BADÍA, A. et al. Development of biobased waterborne coatings containing Ecomer®: An alkyl polyglucoside maleic acid ester monomer. **Progress in Organic Coatings**, v. 147, p. 105708, 2020.

BELLUCCI, E. R. B. et al. Açaí extract powder as natural antioxidant on pork patties during the refrigerated storage. **Meat Science**, v. 184, p. 108667, 2022.

BENATTIA, F. K.; ARRAR, Z. Antioxidative and antiradical activities of bioactive compounds of extracts from algerian prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) fruits. **Current Nutrition & Food Science**, v. 14, n. 3, p. 211–217, 2018.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 15–27, 1999.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911–917, 1959.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de carne mecanicamente separada, de mortadela, de linguiça e de salsicha. Instrução Normativa SDA nº 4, de 31 de março de 2000, Anexo III. Brasília: **Diário Oficial da União**, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Diretoria Colegiada. Resolução RDC nº 331, de 23 de dezembro de 2019. Dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação. **Diário Oficial da União**, 26 dez. 2019, Brasília, DF, 2019. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-331-de-23-de-dezembro-de-2019-235332272>>. Acesso em: 15 abr. 2021.

BUTERA, D. et al. Antioxidant activities of Sicilian prickly pear (*Opuntia ficus indica*) fruit extracts and reducing properties of its betalains: Betanin and indicaxanthin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 23, p. 6895–6901, 2002.

CAMPO, M. M. et al. Flavour perception of oxidation in beef. **Meat Science**, v. 72, n. 2, p. 303–311, 2006.

CHAALAL, M.; TOUATI, N.; LOUAILECHE, H. Extraction of phenolic compounds and *in vitro* antioxidant capacity of prickly pear seeds. **Acta Botanica Gallica**, v. 159, n. 4, p. 467–475, 2012.

CHAIJAN, M. Review: Lipid and myoglobin oxidations in muscle foods. **Songklanakarin Journal of Science and Technology (SJST)**, v. 30, n. 1, p. 47–53, 2008.

CUNHA, L. C. M. et al. Effect of microencapsulated extract of pitaya (*Hylocereus costaricensis*) peel on color, texture and oxidative stability of refrigerated ground pork patties submitted to high pressure processing. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 49, p. 136–145, 2018.

- DELGADO-PANDO, G. et al. Clean label alternatives in meat products. **Foods**, v. 10, n. 7, p. 1615, 2021.
- DJORDJEVIĆ, J. et al. Survival of *Salmonella* spp. in minced meat packaged under vacuum and modified atmosphere. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, n. 3, p. 607–613, 2018.
- DOMÍNGUEZ, R. et al. Protein oxidation in muscle foods: A comprehensive review. **Antioxidants**, v. 11, n. 1, p. 60, 2021.
- DU, Z.; BRAMLAGE, W. J. Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar-rich plant tissue extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 9, p. 1566–1570, 1992.
- EL KOSSORI, R. L. et al. Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruit (*Opuntia ficus-indica* sp.). **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 52, n. 3, p. 263–270, 1998.
- EL MANNOUBI, I. Effect of extraction solvent on phenolic composition, antioxidant and antibacterial activities of skin and pulp of Tunisian red and yellow–orange *Opuntia ficus-indica* fruits. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 15, n. 1, p. 643–651, 2021.
- EL MOSTAFA, K. et al. Nopal Cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a source of bioactive compounds for nutrition, health and disease. **Molecules**, v. 19, n. 9, p. 14879–14901, 2014.
- FERNANDES, R. P. P. et al. Evaluation of oxidative stability of lamb burger with *Origanum vulgare* extract. **Food Chemistry**, v. 233, p. 101–109, 2017.
- FERNANDES, R. P. P. et al. Assessment of the stability of sheep sausages with the addition of different concentrations of *Origanum vulgare* extract during storage. **Meat Science**, v. 137, p. 244–257, 2018.
- FEUGANG, J. M. Nutritional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. **Frontiers in Bioscience**, v. 11, n. 1, p. 2574, 2006.

FRANCIS, F. J.; CLYDESDALE, F. M. Food colorimetry: theory and applications.

Molecular Nutrition and Food Research, v. 21, n. 1, p. 90-91, 1975.

FRANCO, D. et al. Optimization of antioxidants extraction from peanut skin to prevent oxidative processes during soybean oil storage. **LWT – Food Science and Technology**, v. 88, p. 1–8, 2018.

GOTTARDI, D. et al. Beneficial effects of spices in food preservation and safety. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1394, 2016.

GUILLÉN-SANS, R.; GUZMÁN-CHOZAS, M. The thiobarbituric acid (TBA) reaction in foods: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 38, n. 4, p. 315–350, 1998.

GUTTERIDGE, J. M. C.; TICKNER, T. R. The characterisation of thiobarbituric acid reactivity in human plasma and urine. **Analytical Biochemistry**, v. 91, n. 1, p. 250–257, 1978.

HALMI, B. S. et al. Pharmaco-toxicological study of *Opuntia ficus indica* L. aqueous extract in experimental animal. **International Journal of Medicinal and Aromatic Plants**, v. 3, n. 3, p. 375–381, 2013.

HAYES, J. E. et al. Evaluation of the effects of selected plant-derived nutraceuticals on the quality and shelf-life stability of raw and cooked pork sausages. **LWT – Food Science and Technology**, v. 44, n. 1, p. 164–172, 2011.

HINTZ, T.; MATTHEWS, K. K.; DI, R. The use of plant antimicrobial compounds for food preservation. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1–12, 2015.

HOLLEY, R. A.; PATEL, D. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. **Food Microbiology**, v. 22, n. 4, p. 273–292, 2005.

HOSSAIN, M. et al. Quality of spent hen sausages incorporated with fresh ginger extract. **Meat Research**, v. 1, n. 1, 2021.

HULANKOVA, R.; BORILOVA, G.; STEINHAUSEROVA, I. Combined antimicrobial effect of oregano essential oil and caprylic acid in minced beef. **Meat Science**, v. 95, n. 2, p. 190–194, 2013.

ICMSF. International Commission on Microbiological Specification for Foods. Sampling plans for poultry and poultry products. Em: **Microorganisms in foods 2 – Sampling for microbiological analysis: principles and specific application**. 2 ed. Toronto: University of Toronto Press, 1986. cap. 13, p. 148-154.

JONGBERG, S.; LUND, M. N.; SKIBSTED, L. H. Protein oxidation in meat and meat products. Challenges for antioxidative protection. Em: BARBOSA-CÁNOVAS, G. et al. (Eds.) **Global Food Security and Wellness**. New York, NY: Springer New York, 2017. p. 315–337.

KHARRAT, N. et al. Synergistic effect of polysaccharides, betalain pigment and phenolic compounds of red prickly pear (*Opuntia stricta*) in the stabilization of salami. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 111, p. 561–568, 2018.

LAMBERT, R. J. W. et al. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, n. 3, p. 453–462, 2001.

LEVINE, R. L. et al. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. **Methods Enzymology**, 233, p. 346–357, 1994.

LOURITH, N.; KANLAYAVATTANAKUL, M. Antioxidant and stability of dragon fruit peel colour. **Agro Food Industry Hi Tech**, v. 24, n. 3, p. 56–58, 2013.

MAILLARD, L. C. Action des acides amines sur les sucres; formation des melanoidies par voie methodique. **C.R. Acad. Sci.**, v. 154, p. 66–68, 1912.

MARTÍNEZ, L. et al. Green Alternatives to Synthetic Antioxidants, Antimicrobials, Nitrates, and Nitrites in Clean Label Spanish Chorizo. **Antioxidants**, v. 8, n. 6, p. 184, 2019.

McCLEMENTS, J.; DECKER, E. A. Lipids. Em: FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. (Eds.) **Química de Alimentos de Fennema**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. cap. 4, p. 155–216.

MEILGAARD, M. C.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. Affective tests: consumer tests and in-house panel acceptance tests. Em: MEILGAARD, M. C.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. (Eds.) **Sensory Evaluation Techniques**. 4. ed. Boca Raton, FL: CRC Press, Inc., 2007. cap. 12, p. 255–309.

MELGAR, B. et al. Extensive profiling of three varieties of *Opuntia* spp. fruit for innovative food ingredients. **Food Research International**, v. 101, p. 259–265, 2017.

MENEGALI, B. S. et al. Pink pepper extract as a natural antioxidant in chicken burger: Effects on oxidative stability and dynamic sensory profile using Temporal Dominance of Sensations. **LWT – Food Science and Technology**, v. 121, p. 108986, 2020.

MOAWAD, R. K.; MOHAMED, O. S. S.; ABDELMAGUID, N. M. Shelf-life evaluation of raw chicken sausage incorporated with green tea and clove powder extracts at refrigerated storage. **Plant Archives**, v. 20, n. 2, p. 8821–8830, 2020.

OLIVER, C. M.; MELTON, L. D.; STANLEY, R. A. Creating proteins with novel functionality via the maillard reaction: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 46, n. 4, p. 337–350, 2006.

OLIVER, C. N. et al. Age-related changes in oxidized proteins. **The Journal of biological chemistry**, v. 262, n. 12, p. 5488–91, 1987.

OLIVEIRA, D. F. DE et al. Alternatives for a healthier meat product: a review. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 16, n. 3, p. 163–174, 2013.

ORTEGA-HERNÁNDEZ, E.; WELTI-CHANES, J.; JACOBO-VELÁZQUEZ, D. A. Effects of UVB light, wounding stress, and storage time on the accumulation of betalains, phenolic compounds, and ascorbic acid in red prickly pear (*Opuntia ficus-indica* cv. Rojo Vigor).

Food and Bioprocess Technology, v. 11, n. 12, p. 2265–2274, 2018.

PALMERI, R. et al. Application of prickly pear fruit extract to improve domestic shelf life, quality and microbial safety of sliced beef. **Food and Chemical Toxicology**, v. 118, p. 355–360, 2018.

PAPASTERGIADIS, A. et al. Malondialdehyde measurement in oxidized foods: Evaluation of the spectrophotometric thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) test in various foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 38, p. 9589–9594, 2012.

PARAFATI, L. et al. Impact of prickly pear extract on the quality parameters of beef burger patties after cooking. **Food Bioscience**, v. 42, p. 101146, 2021.

PEREIRA, G. C. A. et al. Jambolão extracts as synthetic additive substitutes in fresh chicken sausage during cold storage. **International Food Research Journal**, v. 26, n. 3, p. 811–817, 2019.

PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 10 ed. ed. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1982.

POKORNÝ, J. Are natural antioxidants better – and safer – than synthetic antioxidants? **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, n. 6, p. 629–642, 2007.

RASOULPOUR, R. et al. Purification and characterization of an antiviral protein from prickly pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller) cladode. **Crop Protection**, v. 93, p. 33–42, 2017.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9–10, p. 1231–1237, 1999.

ROMERO, M. C. et al. Effects of freeze-dried pulp of *Eugenia uniflora* L. and *Opuntia ficus-indica* fruits on quality attributes of beef patties enriched with n-3 fatty acids. **Journal of Food Science and Technology**, v. 58, n. 5, p. 1918–1926, 2021.

RYU, K. S.; SHIM, K. S.; SHIN, D. Effect of grape pomace powder addition on TBARS and color of cooked pork sausages during storage. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, v. 34, n. 2, p. 200–206, 2014.

SÁENZ, C. et al. Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). **Food Chemistry**, v. 114, n. 2, p. 616–622, 2009.

SAWAYA, W. N. et al. Chemical characterization of prickly pear pulp, *Opuntia ficus-indica*, and the manufacturing of prickly pear jam. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 18, n. 2, p. 183–193, 2007.

SÁYAGO-AYERDI, S. G.; BRENES, A.; GOÑI, I. Effect of grape antioxidant dietary fiber on the lipid oxidation of raw and cooked chicken hamburgers. **LWT – Food Science and Technology**, v. 42, n. 5, p. 971–976, 2009.

SELANI, M. M. et al. Wine industry residues extracts as natural antioxidants in raw and cooked chicken meat during frozen storage. **Meat Science**, v. 88, n. 3, p. 397–403, 2011.

SEO, M. Y.; LEE, S. M. Protective effect of low dose of ascorbic acid on hepatobiliary function in hepatic ischemia/reperfusion in rats. **Journal of Hepatology**, v. 36, n. 1, p. 72–77, 2002.

SEO, Y. H. et al. Effects of *Opuntia ficus-indica* extracts on inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on fresh-cut apples. **Journal of The Korean Society of Food Science and Nutrition**, v. 41, n. 7, p. 1009–1013, 2012.

SHARMA, P.; YADAV, S. Effect of incorporation of pomegranate peel and bagasse powder and their extracts on quality characteristics of chicken meat patties. **Food Science of Animal Resources**, v. 40, n. 3, p. 388–400, 2020.

SHETTY, A. A.; RANA, M. K.; PREETHAM, S. P. Cactus: a medicinal food. **Journal of Food Science and Technology**, v. 49, n. 5, p. 530–536, 2012.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1965.

SMERIGLIO, A. et al. *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. fruit as source of betalains with antioxidant, cytoprotective, and anti-angiogenic properties. **Phytotherapy Research**, v. 33, n. 5, p. 1526–1537, 2019.

SOLOMAKOS, N. et al. The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin, and their combination against *Listeria monocytogenes* in minced beef during refrigerated storage. **Food Microbiology**, v. 25, n. 1, p. 120–127, 2008.

SOTLER, R. Prooxidant activities of antioxidants and their impact on health. **Acta Clinica Croatica**, v. 58, n. 4, p. 726–736, 2019.

STAROWICZ, M.; ZIELIŃSKI, H. How Maillard reaction influences sensorial properties (color, flavor and texture) of food products? **Food Reviews International**, v. 35, n. 8, p. 707–725, 2019.

STINTZING, F. C.; SCHIEBER, A.; CARLE, R. Phytochemical and nutritional significance of cactus pear. **European Food Research and Technology**, v. 212, n. 4, p. 396–407, 2001.

VASAVADA, P. C.; CRITZER, F. J. Psychrotrophic microorganisms. Em: Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 5. ed. Washington, DC: **American Public Health Association (APHA)**, 2015. 187 p.

VUORELA, S. et al. Effect of Plant Phenolics on Protein and Lipid Oxidation in Cooked Pork Meat Patties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 22, p. 8492–8497, 2005.

VYNCKE, W. Evaluation of the Direct Thiobarbituric Acid Extraction Method for Determining Oxidative Rancidity in Mackerel (*Scomber scombrus* L.). **Fette, Seifen, Anstrichmittel**, v. 77, n. 6, p. 239–240, 1975.

WU, L. et al. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. **Food Chemistry**, v. 95, n. 2, p. 319–327, 2006.

YORDI, E. G. et al. Antioxidant and pro-oxidant effects of polyphenolic compounds and structure-activity relationship evidence. Em: BOUAYED, J.; BOHN, T. (Eds.). **Nutrition, Well-Being and Health**. Rijeka, Croatia: InTech Europe, 2012. cap. 2, p. 23–48. Disponível em: <<https://www.intechopen.com/chapters/29974>>. Acesso em: 20 dez. 2022.

YOUNG, I. S.; TRIMBLE, E. R. Measurement of malondialdehyde in plasma by high performance liquid chromatography with fluorimetric detection. **Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine**, v. 28, n. 5, p. 504–508, 1991.

YU, T. C.; SINNHUBER, R. O. Removal of interfering pigments in determining malonaldehyde by the 2-thiobarbituric acid reaction. **Food Technology**, v. 16, n. 6, p. 115–117, 1962.

ZAFRA-ROJAS, Q. Y. et al. Effects of ultrasound treatment in purple cactus pear (\pm) juice. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 5, p. 1283–1288, 2013.

ZAOUALI, Y.; BOUZAIN, T.; BOUSSAID, M. Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 11, p. 3144–3152, 2010.

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.

ZITO, P. et al. Essential oils composition of two Sicilian cultivars of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (*Cactaceae*) fruits (prickly pear). **Natural Product Research**, v. 27, n. 14, 2013.

ZUORRO, A.; IANNONE, A.; LAVECCHIA, R. Water–organic solvent extraction of phenolic antioxidants from brewers' spent grain. **Processes**, v. 7, n. 3, p. 126, 2019.

5 CHAPTER 2: EFFECT OF *OPUNTIA FICUS-INDICA* EXTRACT IN PRO-HEALTHY CHICKEN PATTIES: OXIDATIVE STABILITY, PHYSICOCHEMICAL AND SENSORY PROPERTIES

Leticia Aline GONÇALVES¹; José Manuel LORENZO^{2,3}; Roberto BERMÚDEZ²; Mirian PATEIRO²; Marco Antonio TRINDADE¹

¹ Universidade de São Paulo. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Av. Duque de Caxias Norte, 13635-900, Pirassununga, Sao Paulo, Brazil;

² Centro Tecnológico de la Carne de Galicia, Rúa Galicia N-4, Parque Tecnológico de Galicia, San Cibrao das Viñas, 32900 Ourense, Spain;

³ Área de Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ciencias de Ourense, Universidad de Vigo, 32004 Ourense, Spain;

This article was submitted as an original research manuscript to the British Food Journal on January 10, 2023 (ANEXO B). British Food Journal is a hybrid Open Access journal (ISSN: 0007-070X) with 3.224 Impact Factor (2021) and 3.475 of 5-year Impact Factor (2021).

ABSTRACT

Purpose: To substitute synthetic additives, *Opuntia ficus-indica* extracts could become an interesting proposal to preserve quality and add desirable characteristics to meat products reformulated with unsaturated fatty acids. The aim of this project was to develop healthier chicken patties (with a structured animal fat replacer) added with prickly pear extract (PPE).

Design/methodology/approach: The extract was analyzed for total phenolic content and antioxidant activity (FRAP, ABTS, DPPH and ORAC). Four chicken patties formulations were manufactured with total replacement of animal fat by sesame oil emulsion: control, erythorbate 500 ppm, PPE 500 and 750 ppm. Proximate composition, fatty acid profile and sensory acceptance were analyzed on day 1 and pH, color and lipid oxidation on days 1, 4, 8, 12 and 16.

Findings: PPE treatments showed lower TBARs ($P<0.05$) at the end of storage, as well as greater pigment stability corroborating its potential to delay oxidation. No significant effects on chemical composition, pH, fatty acid profile or sensory parameters were observed ($P>0.05$). Polyunsaturated represented 33.7% of total fatty acids, while monounsaturated and saturated represented, respectively, 42.5 and 23.8%. Therefore, PPE is an effective antioxidant by enhancing oxidative stability without promoting changes in other properties.

Originality/value: *Opuntia ficus-indica*, although presenting an impressive profile of bioactive compounds, is still undervalued worldwide. There are few reports on its application in meat products as antioxidant. Consequently, the study about its incorporation as new ingredient to preserve quality and add desirable characteristics (clean label and use of natural ingredients) is an interesting approach to develop meat products reformulated with unsaturated oils.

Key-words: natural antioxidants, prickly pear, antioxidant activity, improvement of lipid profile, lipid oxidation, cleaner label.

5.1 INTRODUCTION

Poultry, especially chicken, is the most consumed meat worldwide and the significant increase in the popularity of ready-to-eat and ready-to-cook chicken over raw meat has stimulated the sector to seek alternatives to manufacture value-added products (OECD, 2022). For example, burgers have become a traditional foodstuffs among consumers because they are practical, easy-to-prepare, sensorially attractive and nutritious (high content of proteins, fats, vitamins and minerals) (KREPPER et al., 2018). Fat content is very important for taste, succulence, texture, and other physicochemical properties, and processed meat is generally manufactured with up to 20% animal fat rich in saturated fatty acids and/or cholesterol (VAN DE VIJVER et al., 2000).

Recent societal changes in eating habits have led consumers to a greater awareness that diet may have positive or negative effects on well being and health (KURĆUBIĆ et al., 2022). The increase in non-communicable diseases has long been highlighted by the World Health Organization (WHO), underpinning the importance of adopting healthy eating behaviors to reduce health-related problems (WHO, 2003). In this sense, the food industry is continuously researching reformulation alternatives through the substitution of harmful ingredients, such as saturated fat, salt and synthetic additives.

Fat intake, specially saturated fat, has been identified as a nutritional aspect to be improved in meat products owing to the risks for health, mainly for cardiovascular diseases and obesity (DOMÍNGUEZ et al., 2021). In contrast, the consumption of oils rich in unsaturated fatty acids is part of the dietary guidelines of several health-related authorities, considering the global burden of nutrition-related chronic diseases (EFSA, 2010). This would mean possible changes in favor of substitutes for animal fat, that are mostly composed of polyunsaturated fatty acids, such as emulsified oleogels and hydrogels. Although this reformulation is favorable to health, unsaturated fatty acids are more susceptible to oxidation than saturated, requiring the addition of compounds that protect against oxidation and preserve sensory characteristics (HECK et al., 2017).

Owing to the high concentration of fatty acids and their manufacturing process, burgers are highly prone to lipid oxidation reactions that trigger the formation of cholesterol oxides and volatile compounds associated with the sensory perception of rancidity (GÓMEZ; LORENZO, 2013). Therefore, the addition of inhibitory components, known as antioxidants, is essential to delay quality losses during storage. Actually for a long time the food industry has incorporated different antioxidants to reduce the oxidation effects, particularly the use of

synthetic substances that have their approved use within an acceptable daily intake limit (RIBEIRO et al., 2019). However, the use of synthetic additives goes against the growing trend of consumers looking for clean label products, so there has been an increasing interest in alternatives from natural sources without undesirable health side effects. Studies have shown that essential oils and plant extracts obtained from herbs, seeds, fruits and agroindustrial residues can be as or more effective than synthetic antioxidants (SHARMA et al., 2017; ECHEGARAY et al., 2018).

The prickly pear (*Opuntia ficus-indica*), or cactus pear, is a fruit native to the tropical and subtropical regions of the Americas (ZAKYNTHINOS; VARZAKAS, 2016). The scientific literature shows that it is a natural source of bioactive compounds with interesting properties for the pharmaceutical and food industries, and regular consumption of *Opuntia* has a notable clinical and/or experimental evidences in the treatment and prevention of chronic diseases related to oxidative stress (OSUNA-MARTÍNEZ et al., 2014). The nutritional and health properties are mainly attributed to the presence of good amounts of ascorbic acid, phenolic compounds and yellow-orange betaxanthin pigments (ALBANO et al., 2015). Consequently, this matrix can be explored for the development of new healthier products.

In this context, the antioxidant potential of bioactive compounds from the aforementioned fruit could be an interesting proposal to preserve quality and add desirable characteristics (cleaner label and use of natural ingredients) to reformulated meat products with replacement of animal fat. The aim of this project was to develop healthier chicken patties (with a structured emulsion rich in unsaturated fatty acids) added with extract from *Opuntia ficus-indica*, searching for the antioxidant effect that contributes to the quality, shelf life and the preservation of sensory properties.

5.2 MATERIALS AND METHODS

5.2.1 Plant material and extract preparation

The prickly pear fruit (orange variety) was obtained from a local market in Campinas (Sao Paulo, Brazil) and oven-dried in the *Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos* (Pirassununga, Brazil) for 96 h at 50°C, after being sanitized and cut into slices. The dried material was crushed to obtain a fine powder. The extraction process and the subsequent steps were carried out in the physico-chemical laboratory of the *Centro Tecnológico da Carne (CTC) de Galicia* (San Cibrao das Viñas, Spain). The extraction methodology, based on Aruwa et al.

(2019) study, consisted of mixing the powder with an 80% ethanol-water solvent (v/v) at a ratio of 1:10, stirring at 120 rpm for 24 h and concentrating in a rotary evaporator (Büchi Labortechnik AG, mod Büchi® Rotavapor R-200, Flawil, Switzerland) under vacuum from 45 to 60°C (Figure 8). Afterwards, the extract was lyophilized (Büchi Lyovapor™ L-300, Flawil, Switzerland) and frozen at -80°C for later use (Figure 9). All steps were performed avoiding exposure to light.

Figure 8 – Concentration of the extract in a rotary evaporator (Büchi Labortechnik AG, mod Büchi® Rotavapor R-200, Flawil, Switzerland).



Source: Own authorship.

Figure 9 – Lyophilization process (Büchi Lyovapor™ L-300, Flawil, Switzerland) and the lyophilized extract.



Source: Own authorship.

5.2.2 Total phenolic content and antioxidant activity of the prickly pear extract (PPE)

5.2.2.1 Determination of the Total Phenolic Content (TPC)

TPC was determined as previously described by Singleton and Rossi (1965) with some modifications. Dilutions of PPE (0.5 mL) were mixed with 10% diluted Folin-Ciocalteu (2.5 mL), after 6 min added of 7.5% Na_2CO_3 solution (2 mL) and vortexed. Absorbance (760 nm) was measured after 15 min at 50°C and the results expressed as mg of gallic acid equivalent (GAE)/100 g.

5.2.2.2 Ferric reducing/Antioxidante power (FRAP)

FRAP assay was conducted according to Benzie and Strain (1999), expressing the results as μmol of Fe^{2+} /100 g. The reagent was prepared by mixing acetate buffer 0.3 M (pH 3.6), 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) 10 mM in 40 mM HCl, and $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20 mM in the ratio 10:1:1 (v:v:v). Then, 900 μL of freshly prepared FRAP reagent was reacted with 30 μL of the sample and distilled water (90 μL). After incubation for 20 min at 37°C, absorbance was measured at 593 nm.

5.2.2.3 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging activity

The $\text{DPPH}^{\bullet+}$ assay was performed with some modifications according to Brand-Williams et al. (1995). Samples (100 μL) were added to 3.9 mL of DPPH solution (60 μM). Absorbance readings (at 515 nm) were obtained after incubation at 37°C for 10 min. The results were determined using Trolox as a standard and expressed as mg Trolox equivalents (TE)/g.

5.2.2.4 ABTS radical cation decolorization assay (ABTS)

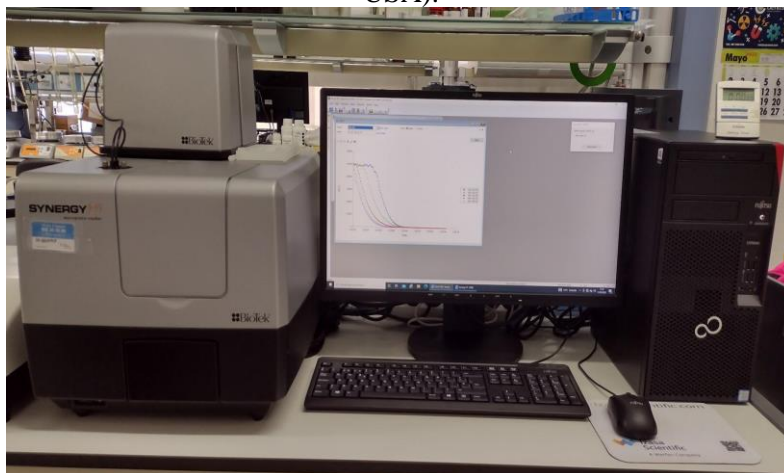
The assay by Re et al. (1999) consists on measuring the reduction in the absorbance of ABTS (2,2-azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulphonate) solution when reacting with antioxidant compounds. The reagent was prepared by mixing a 7 mM ABTS stock solution with 2.45 mM potassium persulfate. After 12-16h in darkness, this solution was diluted until an absorbance of 0.700 ± 0.02 , and then reacted (980 μL) with the samples (20 μL). The

absorbance was measured (734 nm) after 10 min, and the results were expressed as mg of ascorbic acid/100 g.

5.2.2.5 Oxygen radical absorbance capacity assay (ORAC)

ORAC was assayed according to Huang et al. (2002). The filters of 485 and 528 nm were used to record fluorescence excitation and emission, respectively, using a Synergy H1 Hybrid Multi-Mode Reader (BioTek Instruments, Vermont, USA) (Figure 10). Trolox was used as a standard and phosphate buffer as blank. The results were calculated based on the net area under the curve, expressed as mg Trolox equivalents (TE)/g.

Figure 10 – ORAC assay in Synergy H1 Hybrid Multi-Mode Reader (BioTek Instruments, Vermont, USA).



Source: Own authorship.

5.2.3 Chicken patties formulation and manufacture

To produce a pro-healthy product, four treatments of chicken patties were formulated with the total replacement of traditionally used animal fat with a sesame (*Sesamum indicum*) oil hydrogel emulsion: control (CON; without antioxidant), ERY500 (sodium erythorbate; 500 mg/kg), PPE500 and PPE750 (prickly pear extract; 500 or 750 mg/kg, respectively). The sesame oil was emulsified with Prosella[®] powder, a commercial gelling agent (Laboratorios Amerex S.A., Madrid, Spain). The virgin oil, processed by cold pressing from a commercial local brand, showed the following nutritional allegations: 42% polyunsaturated, 38% monounsaturated and 14% saturated fatty acids. The guidelines by Barros et al. (2020) were used to prepare the emulsion: after mixing water (56 g/100 g) with sesame oil (37.3 g/100 g)

at 3,000 rpm during 1 min, Prosella® (6.7 g/100 g) was slowly incorporated and homogenized for 3 min and then left at room temperature for 2 h. Finally, the emulsion was refrigerated at 4°C until needed. To manufacture the patties (Figure 11), the chicken breast and the oil gel were ground in a refrigerated mincer (La Minerva, mod A/E22R, Bologna, Italy) equipped with a mincing plate of 8 mm and 6 mm in diameter, respectively. The ingredients were homogenized in a mixing machine (Mainca, mod RM-20, Barcelona, Spain) according to the following formulation: white meat (85.8%), oil emulsion (9.0%), salt (1.2%), the antioxidant (erythorbate, PPE or none, depending on the treatment) and cold water. Patties were molded into portions of 100 g each, 10 cm in diameter and 1 cm in height, and packaged in 300- μ m-thick PET-EVOH-PE trays containing two units per package under modified atmosphere (70% N₂; 30% CO₂). Samples were stored at 2 \pm 1°C under light to simulate supermarket conditions and analyzed in quadruplicate: proximate composition, fatty acid profile and sensory acceptance on day 1, and pH, color parameters and lipid oxidation on days 1, 4, 8, 12 and 16 of storage. The whole experiment was repeated in two independent runs. A total of 160 patties were produced for the evaluation of oxidative stability and physicochemical analysis (4 treatments x 5 sampling points x 4 sample repetitions for each sampling points x 2 different processing batches), plus 40 freshly prepared samples for sensory analysis.

Figure 11 – Chicken patties manufacture steps.



Source: Own authorship.

5.2.4 Proximate composition

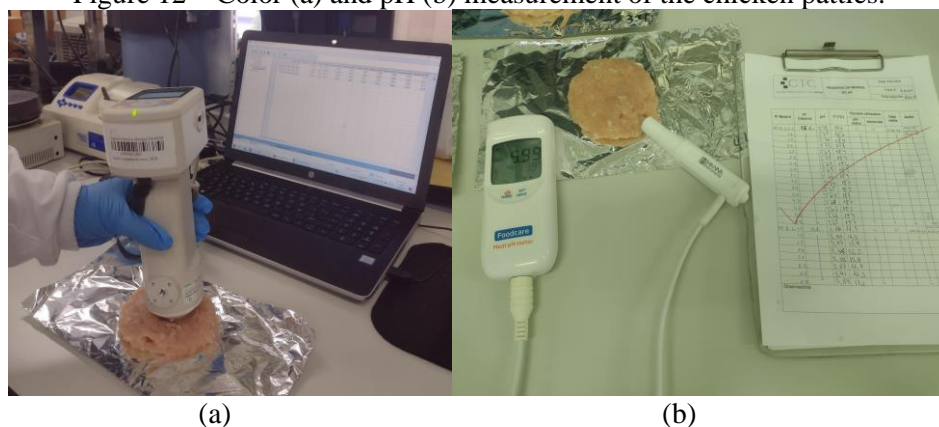
The proximate composition of the different treatments was determined according to the methods assigned by the International Standards Organization (ISO): moisture (ISO 1442, 1997), protein (ISO 937, 1978) and ash content (ISO 936, 1998). While the procedure Am 5–04 (AOCS, 2005) was used to assess the total fat.

5.2.5 Color parameters and pH

After the samples were exposed to atmospheric air for 30 min, instrumental color was measured (Figure 12a) using a portable colorimeter (CR-600d, Minolta Co. Ltd., Osaka, Japan) in the CIELAB space (lightness, L^* ; redness (+)/greenness (-), a^* ; yellowness (+)/blueness (-), b^*). The device was set to a pulsed xenon arc lamp, 10° viewing angle geometry and 8 mm aperture. The total color variation (ΔE^*) was calculated to compare differences between treatments during storage:

$$\Delta E^* = [(L_{4-16}^* - L_1^*)^2 + (a_{4-16}^* - a_1^*)^2 + (b_{4-16}^* - b_1^*)^2]^{1/2}$$

Figure 12 – Color (a) and pH (b) measurement of the chicken patties.



Source: Own authorship.

The pH was analyzed using a digital pH-meter (Hanna Instruments, mod FC232D, Eibar, Spain) equipped with a penetration glass probe (Figure 12b), previously calibrated with pH 4.01 and pH 7.01 buffer solutions.

5.2.6 Lipid oxidation

To assess the degree of lipid oxidation, the secondary products of the reaction were evaluated during storage by the index of reactive substances to 2-thiobarbituric acid (TBARS), spectrophotometrically at 532 nm as proposed by Vyncke (1975), and the results were expressed as milligrams of malonaldehyde (MDA)/kg of sample, calculated from a standard curve with 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP).

5.2.7 Fatty acid composition analysis

Firstly, total fat was extracted as described by Bligh and Dyer (1959) with modifications, and then transesterified according to the procedure previously described by Domínguez et al. (2015). Fatty acid methyl esters (FAMES) were analyzed following the chromatographic conditions described by Barros et al. (2020). The retention times of authenticated standards (FAME Mix-37 components, docosapentaenoic acid (C22:5n-3); trans-11 vaccenic acid (11t-C18:1); cis-vaccenic acid (18:1n-7), Supelco, Madrid, Spain) were used to identify individual FAMES by comparison, and the content was expressed as g/100 g of total fatty acids identified. The following groups of fatty acids were calculated by summing the individual fatty acids: saturated (SFA), monounsaturated (MUFA), polyunsaturated (PUFA) and PUFA/SFA ratio, as well as n-6 and n-3 fatty acids, and their ratio (n-6/n-3) were calculated to evaluate the nutritional quality of the lipids.

5.2.8 Sensory analysis

Sensory acceptance test was conducted to determine whether the panelists liked or disliked the samples (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 2007). A total of twenty-one chicken consumers, aged between 25 and 50 years, were recruited. The test was carried out in individual cabins to evaluate the attributes of 2 cm³ portions of cooked samples. The panel members assessed the odor, flavor, texture and overall quality using a hedonic scale, which ranged from “1 - disliked much” to “7 - liked much”. The panelists were also asked to evaluate the appearance of raw samples. Samples were randomly coded with 3-digit numbers and served with water and unsalted toasted bread to cleanse the palate.

5.2.9 Statistical analysis

The experiment was performed according to a randomized complete block design with two blocks (two independent batches). For statistical analysis, a total of 160 chicken patties were analyzed for the different dependent variables. Data were subjected to the two-way analysis of variance (ANOVA) for stability analysis, considering the storage time and treatment as independent variables, manufacture repetition as a random effect, and the results of analysis (pH, color, TBARs) as dependent variables. One-way ANOVA was used to analyze the variables assessed only on day 1 (proximate composition, fatty acid profile and sensory acceptance). For sensory analysis, treatment was considered a fixed effect and consumers were considered a random effect. The difference between averages was assessed using Tukey's post-hoc test when ANOVA was significant ($P < 0.05$). The software Statistica™ version 13.5.0.17 (TIBCO Software Inc., California, United States) was used to perform statistical analysis.

5.3 RESULTS AND DISCUSSION

5.3.1 Total phenolic content and antioxidant activity of the prickly pear extract (PPE)

The total phenolic content (TPC) of the prickly pear extract (PPE) was $1,438.74 \pm 4.43$ mg of GAE/100 g in this study (orange variety), which is significantly higher than those obtained from cactus pear pulp of both purple and orange varieties (89.2 and 69.8 mg of GAE/100 g, respectively) (ALBANO et al., 2015), or aqueous extracts obtained from freeze-dried and oven-dried *O. ficus-indica* pulp (425.0 and 432.0 mg of GAE/100 g, respectively) (ARUWA; AMOO; KUDANGA, 2019), and also higher than similar fruit matrices such as red pitaya (268.13 mg of GAE/100 g), as reported by Bellucci et al. (2021).

Polyphenols can contribute to the antioxidant activity of extracts because they can transfer hydrogen atoms or electrons, blocking oxidative processes caused by the generation of free radicals. In this sense, antioxidant activity is also affected by the types of phenol and the site and number of hydroxyl groups present in the extract: a better antioxidant power is generated with a greater number of hydroxyl groups (GALLEGOS-INFANTE et al., 2009). Variations in phenolic content may be affected by many factors, such as fruit maturity, regional climate, solvent used and differences in processing methods, and hydroalcoholic solvents generally express higher TPC allowed by the extraction of polar and nonpolar compounds (ABOU-ELELLA; ALI, 2014).

The antioxidant characteristics were measured using different in vitro methodologies (FRAP, DPPH, ABTS and ORAC) to provide an indication about the antioxidant potential of the bioactive compounds present in PPE. These methodologies were chosen because they are the most widely used methods to assess the antioxidant activity and some authors recommend using at least two of them combined to provide reliable information.

The measurement of the antioxidant activity by FRAP showed $6,793.24 \pm 142.93 \mu\text{mol}$ of $\text{Fe}^{2+}/100 \text{ g}$, that indicates a potential to reduce compounds and scavenge free radicals, depending on the ability to donate hydrogen. Comparing with other studies that evaluated *Opuntia* varieties, Jorge and Troncoso (2016) presented $700.0 \mu\text{mol Fe}^{2+}/100 \text{ g}$ for aqueous extract of *O. ficus-indica*, while *O. apurimacensis* had $1,100.0 \mu\text{mol Fe}^{2+}/100 \text{ g}$. Also about the capacity to scavenge free radicals, the DPPH radical assay presented $7,002.65 \pm 300.96 \mu\text{g TE/g}$, similar than those presented by Sáenz et al. (2009) ($7,508.7 \mu\text{g TE/g}$ for cactus pear pulp and $7,191.9 \mu\text{g TE/g}$ for the ethanolic extract), and significantly higher than that found by Corral-Aguayo et al. (2008) for the acetone/water/acetic acid extract of prickly pear ($450.0 \mu\text{g TE/g}$). Smeriglio et al. (2019) applied the DPPH^{•+} assay to three different varieties: the values obtained for pulp were 771.47, 1,003.46 and $550.86 \mu\text{g TE/g}$ (red, orange and yellow varieties, respectively) and, for the peel, 2,549.25, 5,171.17 and $2,137.68 \mu\text{g TE/g}$ for red, orange and yellow varieties, respectively.

The ABTS^{•+} assay is frequently used to measure the antiradical capacity, since it indicates the ability of matrices to trap free radicals by donating hydrogen atoms or electrons, resulting in the bleaching of the colored radical solution (CORIA CAYUPÁN; OCHOA; NAZARENO, 2011). This technique is considered simple and versatile, allowing for the measurement of the antioxidant activity of highly sensitive compounds, which is appropriate for natural compounds. For the ABTS^{•+} assay, an amount of $1,398.21 \pm 16.34 \text{ mg}$ of ascorbic acid/100 g was found in PPE. De Carvalho et al. (2020) reported higher antioxidant activity for turmeric root extract obtained by supercritical fluid extraction ($1,490.53 \text{ mg}$ of ascorbic acid/100 g). Comparison of this result with those found by other studies, as well as the results of some other analyses of antioxidant capacity, was extremely difficult, since different standards were used to estimate the antioxidant activity, in addition to the results being represented in different units.

One of the most useful and sensitive methods to evaluate antioxidant activity is the Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) assay because it takes into account both reactivity and stoichiometry parameters (HUANG et al., 2002). The degree of free radical damage is indicated by the change in the fluorescence intensity index, caused by the

degradation of fluorescein by the activity of 2,20-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (APPH) radical, and the presence of different classes of antioxidant substances can delay the level of free radical generation (NIKI, 2011). For ORAC, the value of 34.30 ± 0.06 mg TE/g was obtained. Lower antioxidant activity was found by Albano et al. (2015) for the pulp extracts of two varieties of cactus pear using a mixture of ethanol, formic acid and water as solvents (3.20 and 2.45 mg TE/g for purple and orange varieties, respectively). Smeriglio et al. (2019) applied the ORAC assay to three varieties: the values obtained for the pulp were 2.38, 2.40 and 2.14 mg TE/g (red, orange and yellow varieties, respectively) and, for the peel, similar values compared to those found in this study, as 34.44, 43.43 and 26.96 mg TE/g for red, orange and yellow varieties, respectively.

The different results obtained from different antioxidant methodologies could be related to the different mechanisms of the reactions involved. Moreover, variations in antioxidant capacity found in different studies for the same fruit are probably due to the differences observed in many factors, such as variety, fruit maturity, country of origin, planting, harvesting, part of the plant investigated and extraction conditions. In addition, the biological activity and TPC can be affected by the milling methods applied, as the particle size affects the effectiveness of the extraction methods. The antioxidant capacity of extracts may not be attributed only to a single bioactive component, but also to the synergistic effect of several substances, and according to Albano et al. (2015), the nutritional and health properties of cactus pear fruit may be associated with the amount of antioxidant compounds, mainly ascorbic acid, phenolics and a mixture of yellow-orange betaxanthin pigments.

5.3.2 Proximate composition of chicken patties

As expected, the proximate composition of chicken patties was not affected by the addition of antioxidants ($P > 0.05$), presenting averages ranging from 74.25-74.12% for moisture, 18.66-18.52% for proteins, 3.41-3.29% for total lipids and 2.40-2.36% for ash content (data not shown). These results are in agreement with those presented in other studies that replaced animal fat entirely with an emulsion of healthy oils in meat products and adopted the strategy of substituting synthetic antioxidants with natural compounds, such as pork patties produced with the incorporation of red pitaya extract and tiger nut oil emulsion (BELLUCCI et al., 2021), and lamb patties formulated with chia oil emulsion using two different extracts, from guarana seed and pitanga leaf (DE CARVALHO et al., 2019).

5.3.3 Color parameters and pH

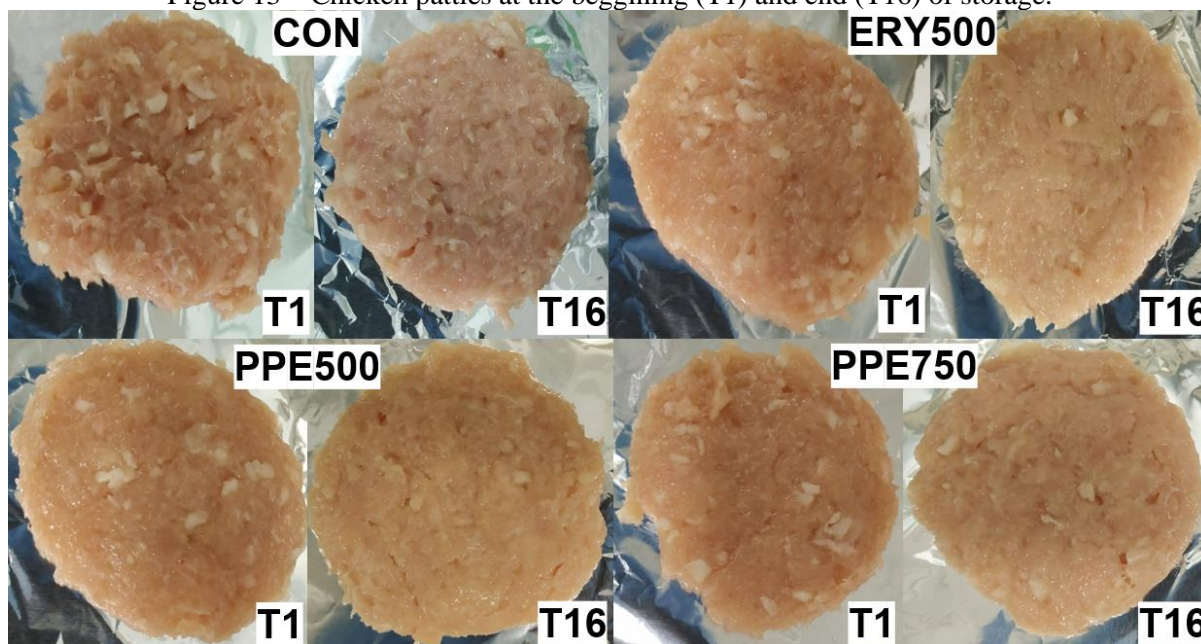
The color parameters evaluated during the 16 days of refrigerated storage are listed in Table 10 and the samples at the beginning (T1) and end (T16) of storage can be seen in Figure 13. For lightness (L^*), a significant difference ($P < 0.05$) was observed between the formulations only on day 1, being higher for PPE750. However, L^* did not seem to follow any specific trend over time, despite an increase in ERY500 was observed from day 1 to day 16 ($P < 0.05$) as well as the maintenance of values when comparing the beginning and end of storage for the treatments CON, PPE500 and PPE750. The different patty formulations did not lead to significant redness (a^*) differences ($P > 0.05$) when comparing the same storage time, the same as previously reported by Agregán et al. (2019). Only the control treatment showed a reduction in redness parameters on the surface of chicken patties during storage, while the other three treatments presented similar trends: no significant difference ($P > 0.05$) was observed between days 1 and 16, although there was a slight increase on day 6, supporting that both natural and synthetic antioxidants were able to protect the redness.

Except on day 12, yellowness (b^*) parameters were affected by the use of antioxidants, but with no definite trend, although CON tended to have the lowest values at all sampling points. Finally, b^* was maintained for all four treatments during the 16 days of refrigerated storage, decreasing only in the middle of the period for the CON treatment, which recovered in the last days. In general, ΔE^* values did not differ between the treatments when compared to the same period of time, except at the end of storage (from day 1 to day 16), as the samples with sodium erythorbate possessed the highest color differences. Additionally, the ΔE^* values showed significant differences ($P < 0.05$) within the storage time analyzed for three treatments (CON, ERY500 and PPE500), excluding PPE750, which showed that the highest concentration of natural extract applied (750 ppm) was able to maintain the parameters of total color during all storage periods.

These results are in line with those found by other authors, who noticed a correlation between increasing natural antioxidants concentration and decreasing ΔE^* (ESTÉVEZ et al., 2005). Furthermore, although PPE500 varied over storage time, the total color difference was not significant when comparing the first (1-4 days) and last (1-16 days) periods investigated. These data may indicate the greater pigment oxidative stability of treatments with *O. ficus-indica* extracts compared to CON and ERY500, which may represent an advantage over other treatments, since change in product color is not desired by consumers.

The pH of chicken patties (Table 10) was not affected by the storage time or different formulations ($P>0.05$), indicating that the use of antioxidants did not influence the acidity of the samples, maintaining values close to 5.7-5.9 along the sampling points. Similar results were observed in chicken patties formulated with rosemary and green tea extracts (PIRES et al., 2017).

Figure 13 – Chicken patties at the beginning (T1) and end (T16) of storage.



Source: Own authorship.

5.3.4 Lipid oxidation

Lipid stability is one of the most important parameters to consider in meat and meat products because of its influence on other quality factors such as protein oxidation and product discoloration during shelf life. Lipid oxidation (TBARs) mean values are shown in Figure 14. At the beginning of sampling points (Days 1 and 4), there were no significant differences ($P>0.05$) between treatments, but over the period of time evaluated, the treatment formulated without adding antioxidants (CON) showed the most noticeable increase in the degree of lipid oxidation.

Table 10 – Evaluation of pH and color parameters of chicken patties during refrigerated storage (it continues).

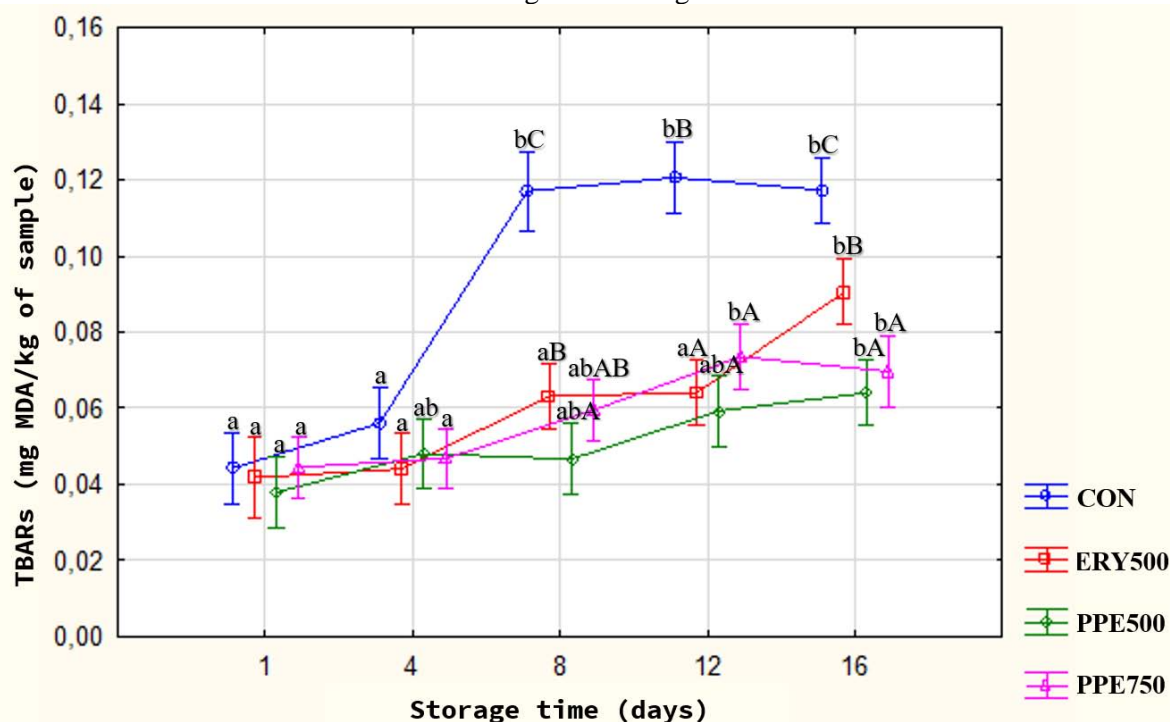
Parameter	Storage time (days)	Treatment				Sig.
		CON	ERY500	PPE500	PPE750	
pH	1	5.84±0.04	5.87±0.03	5.86±0.01	5.86±0.01	n.s.
	4	5.88±0.03	5.92±0.03	5.91±0.03	5.91±0.02	n.s.
	8	5.74±0.09	5.76±0.08	5.76±0.06	5.76±0.08	n.s.
	12	5.79±0.07	5.83±0.06	5.83±0.08	5.82±0.07	n.s.
	16	5.76±0.05	5.75±0.07	5.74±0.10	5.73±0.10	n.s.
	Sig.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
L*	1	61.16±3.08 ^{abAB}	58.90±0.74 ^{aA}	60.30±1.20 ^{abAB}	62.15±1.05 ^{bABC}	*
	4	60.03±3.06 ^A	59.09±2.80 ^A	59.70±2.62 ^A	58.73±1.90 ^A	n.s.
	8	62.05±2.75 ^{AB}	62.17±1.89 ^A	60.71±2.67 ^{AB}	62.42±1.86 ^{ABC}	n.s.
	12	62.00±4.26 ^{AB}	60.13±2.40 ^A	62.60±1.59 ^{AB}	63.88±2.23 ^{BC}	n.s.
	16	65.97±2.64 ^B	66.78±2.68 ^B	64.24±1.82 ^B	65.89±1.32 ^C	n.s.
	Sig.	*	*	*	*	
a*	1	1.58±0.22 ^B	1.29±0.30 ^{AB}	1.44±0.15 ^{AB}	1.59±0.18 ^{AB}	n.s.
	4	1.02±0.22 ^{AB}	1.61±0.58 ^B	1.67±0.78 ^B	1.71±0.70 ^B	n.s.
	8	0.85±0.07 ^{AB}	0.87±0.38 ^{AB}	0.79±0.15 ^A	0.99±0.36 ^{AB}	n.s.
	12	1.37±0.44 ^{AB}	1.18±0.40 ^{AB}	1.34±0.43 ^{AB}	1.24±0.42 ^{AB}	n.s.
	16	0.79±0.27 ^A	0.79±0.26 ^A	0.84±0.28 ^A	0.95±0.41 ^A	n.s.
	Sig.	*	*	*	*	

Table 10 – Color parameters of chicken patties during refrigerated storage (continuation).

Parameter	Storage time (days)	Treatment				Sig.
		CON	ERY500	PPE500	PPE750	
b*	1	15.62±0.72 ^{bB}	14.30±0.51 ^a	15.59±0.86 ^b	16.41±0.70 ^b	*
	4	13.39±0.93 ^{aA}	14.32±0.63 ^{ab}	14.84±1.36 ^{ab}	14.95±1.43 ^b	*
	8	13.42±0.72 ^{aA}	13.56±0.56 ^{ab}	14.03±0.60 ^{ab}	14.49±1.02 ^b	*
	12	14.99±2.41 ^{AB}	14.88±1.85	15.72±1.32	15.27±1.58	n.s.
	16	14.20±1.08 ^{aAB}	14.83±1.23 ^{ab}	14.12±0.95 ^a	15.81±0.94 ^b	*
	Sig.	*	n.s.	n.s.	n.s.	
ΔE*	1-4	2.90±0.68 ^A	2.86±0.53 ^A	3.31±0.65 ^{AB}	3.06±0.99	n.s.
	1-8	4.19±0.72 ^A	3.31±0.99 ^A	3.03±0.93 ^A	3.10±0.46	n.s.
	1-12	3.12±0.67 ^A	3.10±0.54 ^A	3.05±1.01 ^A	3.56±0.56	n.s.
	1-16	5.97±1.46 ^{aB}	8.14±0.75 ^{bB}	4.68±0.79 ^{aB}	4.66±0.72 ^a	*
	Sig.	*	*	*	n.s.	

^{a-b} Mean values in the same row (different treatment in the same day) with different letters indicate significant difference ($P < 0.05$; Tukey's test); ^{A-C} Mean values in the same column (same treatment in different days) with different letters indicate significant difference ($P < 0.05$; Tukey's test); Sig.: Significance; n.s.: Not significant ($P > 0.05$). Treatments: CON: patties prepared without antioxidant; ERY500: patties prepared with sodium erythorbate at 500 mg.kg⁻¹; PPE500: patties prepared with prickly pear extract at 500 mg.kg⁻¹; PPE750: patties prepared with prickly pear extract at 750 mg.kg⁻¹. Source: Own authorship.

Figure 14 – Evaluation of TBARS values (mg MDA/kg of sample) in chicken patties during refrigerated storage.



^{a-b} Mean values horizontally (same treatment in different days) with different letters indicate significant difference ($P < 0.05$; Tukey's test); ^{A-C} Mean values vertically (different treatment in the same day) with different letters indicate significant difference ($P < 0.05$; Tukey's test); Sig.: Significance; n.s.: Not significant ($P > 0.05$). Treatments: CON: patties prepared without antioxidant; ERY500: patties prepared with sodium erythorbate at 500 mg.kg^{-1} ; PPE500: patties prepared with prickly pear extract at 500 mg.kg^{-1} ; PPE750: patties prepared with prickly pear extract at 750 mg.kg^{-1} . Source: Own authorship.

TBARS values increased during storage time for all four treatments ($P < 0.05$); however, it should be noted that the indices all over the time were lower than the level considered the limiting threshold for consumers to perceive rancidity, which some authors have established that around 2.0 mg MDA/kg the sample can be still considered acceptable for human consumption (CAMPO et al., 2006). On day 16 the highest value was obtained from CON (0.117 mg MDA/kg), followed by ERY500 (0.091 mg MDA/kg), and then PPE750 (0.070 mg MDA/kg) and PPE500 (0.064 mg MDA/kg), in which both did not differ significantly ($P > 0.05$), supporting that the prickly pear extract demonstrated antioxidant potential promoted by bioactive compounds capable of scavenging radicals and delaying lipid oxidation processes.

In agreement with the results of the present study, several other authors have suggested the use of natural extracts obtained from different plant sources as substitutes for synthetic additives, as they have demonstrated similar or greater efficacy in inhibiting lipid oxidation in meat products. Santos et al. (2022) observed that pumpkin flower extracts

prevented the evolution of lipid oxidation reactions in raw and cooked chicken patties. The incorporation of 1% of different fruit peel powders (lemon, orange and grapefruit) delayed the formation of malondialdehyde and lipid peroxides in frozen chicken patties (ABDEL-NAEEM et al., 2022). Grape antioxidant dietary fiber at a concentration of 2% was efficient in maintaining a retarded oxidation process in cooked chicken patties (SÁYAGO-AYERDI; BRENES; GOÑI, 2009), and Basanta et al. (2018) reinforced the use of fruit extracts as natural antioxidants, since raw chicken patties supplemented with microparticles of peel and pulp of plum showed 50% lower TBARs values compared to the control treatment (without antioxidants).

5.3.5 Fatty acid composition of chicken patties

Not surprisingly, the fatty acid profile (Table 11) did not differ among the different formulations ($P>0.05$). This is because the same animal fat substitute was used for all four chicken patties treatments, and the addition of antioxidants did not influence the composition. PUFAs represented approximately 33.7% of total fatty acids, while MUFAs and SFAs represented 42.5 and 23.8%, respectively. These results revealed that chicken patties made with sesame oil gel emulsions are a potentially viable source of MUFAs and PUFAs, and the fatty acids with the highest concentrations in the samples were oleic acid (C18:1n9) and linoleic acid (C18:2n-6). Owing to the fatty acids composition, patties enriched with polyunsaturated fatty acids might be more susceptible to oxidative processes than those made with animal fat, such as pork backfat. However, the inclusion of high amounts of unsaturated oils in the diet could provide more benefits to cardiovascular health (HAMIDIOGLU et al., 2022).

The ratio n-6/n-3 is an indicator of the nutritional quality of the lipids. The report of the World Health Organization/Food and Agriculture Organization (WHO/FAO) indicated that a balanced intake of n-6 and n-3 PUFAs is essential for human health, although the authors have not established a specific recommendation for the maximum n-6/n-3 ratio, but reinforced that these classes of fatty acids have anti-inflammatory properties with a protective effect against atherogenic changes in vascular endothelial cells (DE CATERINA; LIAO; LIBBY, 2000; FAO, 2010; WHO/FAO, 2003).

Table 11 – Main fatty acids in the composition of chicken patties.

Fatty acid	Treatment				Sig.
	CON	ERY500	PPE500	PPE750	
C16:0	15.89±0.98	15.90±0.96	15.87±1.17	15.79±1.21	n.s.
C18:0	6.34±0.13	6.33±0.08	6.35±0.09	6.35±0.07	n.s.
SFA	23.82±0.97	23.84±1.02	23.81±1.21	23.72±1.32	n.s.
C16:1n-7	2.41±0.52	2.42±0.50	2.40±0.61	2.37±0.62	n.s.
C18:1n-9	37.54±0.11	37.54±0.06	37.53±0.11	37.58±0.06	n.s.
C18:1n-7	2.03±0.07	2.04±0.04	2.04±0.07	2.02±0.10	n.s.
MUFA	42.49±0.62	42.52±0.63	42.48±0.80	42.47±0.81	n.s.
C18:2n-6	31.50±1.52	31.44±1.59	31.52±1.93	31.63±2.10	n.s.
n-6	32.67±1.59	32.61±1.65	32.69±2.02	32.78±2.16	n.s.
C18:3n-3	0.59±0.03	0.58±0.02	0.58±0.04	0.58±0.04	n.s.
C20:5n-3 (EPA)	0.11±0.01	0.11±0.01	0.11±0.01	0.11±0.01	n.s.
C22:5n-3 (DPA)	0.22±0.01	0.23±0.02	0.22±0.08	0.23±0.01	n.s.
C22:6n-3 (DHA)	0.08±0.01	0.09±0.01	0.08±0.01	0.08±0.00	n.s.
n-3	1.02±0.02	1.03±0.03	1.02±0.01	1.02±0.04	n.s.
PUFA	33.69±1.58	33.64±1.64	33.71±2.01	33.80±2.13	n.s.
Nutritional Indices					
n-6/n-3	32.03	31.66	32.05	32.13	n.s.
PUFA/SFA	1.41	1.41	1.42	1.42	n.s.

Sig.: Significance; n.s.: Not significant difference ($P>0.05$). Treatments: CON: patties prepared without antioxidant; ERY500: patties prepared with sodium erythorbate at 500 mg.kg⁻¹; PPE500: patties prepared with prickly pear extract at 500 mg.kg⁻¹; PPE750: patties prepared with prickly pear extract at 750 mg.kg⁻¹. SFA: saturated fatty acids; MUFA: monounsaturated fatty acids; PUFA: polyunsaturated fatty acids; n-3: omega-3; n-6: omega-6. Source: Own authorship.

5.3.6 Sensory analysis

In order to assess the sensory acceptance of chicken patties, a group of panelists evaluated the attributes of appearance (raw samples), odor, texture, flavor (cooked samples), and overall quality. All the sensory parameters evaluated presented similar scores (Table 12), and no significant differences were observed between the different treatments ($P>0.05$). All formulations scored above 5 (liked slightly) on a hedonic scale ranging from 1 (really disliked) to 7 (really liked), indicating that the use of sesame oil emulsion to replace animal fat is considered sensorially acceptable in chicken patties. Supporting that, the replacement of 50%

of the animal fat by a sesame oil oleogel was well accepted sensorially in beef hamburgers, obtaining greater overall acceptability than the control treatment (MOGHTADAEI; SOLTANIZADEH; GOLI, 2018). Barros et al. (2020) also reported that substituting animal fat with a polyunsaturated vegetable oil emulsion (tiger nut) in beef burgers had good sensory acceptance.

Table 12 – Acceptance scores of sensory analysis of raw (appearance) and cooked (odor, flavor, texture and overall quality) chicken patties.

Treatment	Attribute				
	Appearance	Odor	Texture	Flavor	Overall quality
CON	5.90±1.04	5.71±1.00	6.00±0.71	5.90±0.77	5.86±0.79
ERY500	5.71±1.34	5.81±0.81	5.71±1.10	5.57±1.12	5.57±1.12
PPE500	5.90±0.89	5.71±0.84	6.05±0.74	5.67±1.11	5.81±1.03
PPE750	5.90±0.99	6.05±0.80	6.05±0.74	5.86±0.96	5.81±1.03
Sig.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Sig.: Significance; n.s.: Not significant difference ($P>0.05$). Treatments: CON: patties prepared without antioxidant; ERY500: patties prepared with sodium erythorbate at 500 mg.kg⁻¹; PPE500: patties prepared with prickly pear extract at 500 mg.kg⁻¹; PPE750: patties prepared with prickly pear extract at 750 mg.kg⁻¹. Source: Own authorship.

5.4 CONCLUSIONS

The extract obtained from *Opuntia ficus-indica* presented a high total phenolic content and antioxidant activity compared to similar matrices. The manufacture of chicken patties with total replacement of animal fat with a structured oil emulsion resulted in enrichment with unsaturated fatty acids (76.2%), whereas the addition of PPE delayed lipid oxidation compared to treatments formulated without antioxidants or with sodium erythorbate. Greater pigment oxidative stability was obtained for PPE treatments, representing an advantage because changes in product color are not desired by consumers, and no significant effect was noted on chemical composition, pH, fatty acid profile or sensory parameters. Therefore, prickly pear extract has shown effectiveness as a natural antioxidant by maintaining oxidative stability without promoting changes in other product characteristics, demonstrating that is a promising natural ingredient for the development of healthier and cleaner labeled meat products.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to the São Paulo Research Foundation (FAPESP, Brazil) for financial support (grants number #2020/04544-9 and #2021/09467-5). This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior –Brasil (CAPES) - Finance Code 001. Authors (Marco Antonio Trindade, José Manuel Lorenzo and Miriam Pateiro) are members of the HealthyMeat network, funded by CYTED (ref. 119RT0568).

REFERENCES

ABDEL-NAEEM, H. H. S. et al. Antioxidant and antibacterial effect of fruit peel powders in chicken patties. **Foods**, v. 11, n. 3, p. 301, 2022.

ABOU-ELELLA, F. M.; ALI, R. F. M. Antioxidant and anticancer activities of different constituents extracted from Egyptian prickly pear cactus (*Opuntia ficus-indica*) peel. **Biochemistry & Analytical Biochemistry**, v. 3, n. 2, p. 1–9, 2014.

AGREGÁN, R. et al. *Fucus vesiculosus* extracts as natural antioxidants for improvement of physicochemical properties and shelf life of pork patties formulated with oleogels. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 10, p. 4561–4570, 2019.

ALBANO, C. et al. Betalains, phenols and antioxidant capacity in cactus pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] fruits from Apulia (South Italy) genotypes. **Antioxidants**, v. 4, n. 2, p. 269–280, 2015.

AOCS. AOCS Official Procedure Am 5–04. Rapid determination of oil/fat utilizing high temperature solvent extraction. In Sampling and analysis of vegetable oil source materials AOCS. **American Oil Chemists Society**, Urbana, IL, USA, 2005.

ARUWA, C. E.; AMOO, S.; KUDANGA, T. Phenolic compound profile and biological activities of Southern African *Opuntia ficus-indica* fruit pulp and peels. **LWT – Food Science and Technology**, v. 111, p. 337–344, 2019.

BARROS, J. C. et al. Use of Tiger Nut (*Cyperus esculentus* L.) oil emulsion as animal fat replacement in beef burgers. **Foods**, v. 9, n. 1, p. 44, 2020.

BASANTA, M. F. et al. Plum (*Prunus salicina*) peel and pulp microparticles as natural antioxidant additives in breast chicken patties. **Food Research International**, v. 106, p. 1086–1094, 2018.

BELLUCCI, E. R. B. et al. Red pitaya extract as natural antioxidant in pork patties with total replacement of animal fat. **Meat Science**, v. 171, p. 108284, 2021.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 15–27, 1999.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911–917, 1959.

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.

CAMPO, M. M. et al. Flavour perception of oxidation in beef. **Meat Science**, v. 72, n. 2, p. 303–311, 2006.

CORIA CAYUPÁN, Y. S.; OCHOA, M. J.; NAZARENO, M. A. Health-promoting substances and antioxidant properties of *Opuntia* sp. fruits. Changes in bioactive-compound contents during ripening process. **Food Chemistry**, v. 126, n. 2, p. 514–519, 2011.

CORRAL-AGUAYO, R. D. et al. Correlation between some nutritional components and the total antioxidant capacity measured with six different assays in eight horticultural crops. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 22, p. 10498–10504, 2008.

DE CARVALHO, F. A. L. et al. Effect of guarana (*Paullinia cupana*) seed and pitanga (*Eugenia uniflora* L.) leaf extracts on lamb burgers with fat replacement by chia oil emulsion during shelf life storage at 2 °C. **Food Research International**, v. 125, p. 108554, 2019.

DE CARVALHO, F. A. L. et al. Turmeric (*Curcuma longa* L.) extract on oxidative stability, physicochemical and sensory properties of fresh lamb sausage with fat replacement by tiger nut (*Cyperus esculentus* L.) oil. **Food Research International**, v. 136, p. 109487, 2020.

DE CATERINA, R.; LIAO, J. K.; LIBBY, P. Fatty acid modulation of endothelial activation. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, n. 1, p. 213–223, 2000.

DOMÍNGUEZ, R. et al. Effect of slaughter age on foal carcass traits and meat quality.

Animal, v. 9, n. 10, p. 1713–1720, 2015.

DOMÍNGUEZ, R. et al. Immobilization of oils using hydrogels as strategy to replace animal fats and improve the healthiness of meat products. **Current Opinion in Food Science**, v. 37, p. 135–144, 2021.

ECHEGARAY, N. et al. Chestnuts and by-products as source of natural antioxidants in meat and meat products: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 82, p. 110–121, 2018.

EFSA. European Food Safety Authority. Scientific opinion on dietary reference values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. **EFSA Journal**, v. 8, n. 3, 2010.

ESTÉVEZ, M. et al. Influence of the addition of rosemary essential oil on the volatiles pattern of porcine frankfurters. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 21, p. 8317–8324, 2005.

FAO. Food and Agriculture Organization. Fats and fatty acids in human nutrition. Report of an Expert Consultation. **FAO Food and nutrition paper**, p. 91, 2010.

GALLEGOS-INFANTE, J. A. et al. Effect of air flow rate on the polyphenols content and antioxidant capacity of convective dried cactus pear cladodes (*Opuntia ficus indica*).

International Journal of Food Sciences and Nutrition, v. 60, n. sup2, p. 80–87, 2009.

GÓMEZ, M.; LORENZO, J. M. Effect of fat level on physicochemical, volatile compounds and sensory characteristics of dry-ripened “chorizo” from Celta pig breed. **Meat Science**, v. 95, n. 3, p. 658–666, 2013.

HAMIDIOGLU, I. et al. Characterization of the quality and oxidative stability of hemp-oil-based oleogels as an animal fat substitute for meat patties. **Foods**, v. 11, n. 24, p. 4030, 2022.

HECK, R. T. et al. Is it possible to produce a low-fat burger with a healthy n–6/n–3 PUFA ratio without affecting the technological and sensory properties? **Meat Science**, v. 130, p. 16–25, 2017.

HUANG, D. et al. High-Throughput assay of Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 16, p. 4437–4444, 2002.

ISO 936. International Standards Meat and Meat Products - Determination of Ash Content. **International Organization for Standardization**: Geneva, Switzerland, 1998.

ISO 937. International Standards Meat and Meat Products - Determination of Nitrogen Content. **International Organization for Standardization**. Geneva, Switzerland, 1978.

ISO 1442. International Standards Meat and Meat Products - Determination of Moisture Content. **International Organization for Standardization**: Geneva, Switzerland, 1997.

JORGE, P.; TRONCOSO, L. Capacidad antioxidante del fruto de la *Opuntia apurimacensis* (ayrampo) y de la *Opuntia ficus-indica* (tuna). **Anales de la Facultad de Medicina**, v. 77, n. 2, p. 105, 2016.

KREPPER, G. et al. Determination of fat content in chicken hamburgers using NIR spectroscopy and the Successive Projections Algorithm for interval selection in PLS regression (iSPA-PLS). *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 189, p. 300–306, 2018.

KURĆUBIĆ, V. et al. “Clean label” meat products – how to gain consumer confidence? Zbornik radova / XXVII savetovanje o biotehnologiji sa međunarodnim učešćem. **Anais University of Kragujevac**, Faculty of Agronomy, 2022.

MEILGAARD, M. C.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. Affective tests: consumer tests and in-house panel acceptance tests. Em: MEILGAARD, M. C.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T.

(Eds.) **Sensory Evaluation Techniques**. 4. ed. Boca Raton, FL: CRC Press, Inc., 2007. cap. 12, p. 255–309.

NIKI, E. Antioxidant capacity: Which capacity and how to assess it? **Journal of Berry Research**, v. 1, n. 4, p. 169–176, 2011.

OECD. Organisation for Economic Co-operation and Development. **Meat consumption (indicator)**. Paris: França, 2022. Disponível em: <<https://data.oecd.org/agroutput/meat-consumption.htm>>. Acesso em: 13 dez. 2022.

OSUNA-MARTÍNEZ, U.; REYES-ESPARZA, J.; RODRÍGUEZ-FRAGOSO, L. Cactus (*Opuntia ficus-indica*): A review on its antioxidants properties and potential pharmacological use in chronic diseases. **Natural Products Chemistry & Research**, v. 2, n. 6, p. 1–8, 2014.

PIRES, M. A. et al. The antioxidant capacity of rosemary and green tea extracts to replace the carcinogenic antioxidant (BHA) in chicken burgers. **Journal of Food Quality**, v. 2017, p. 1–6, 2017.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9–10, p. 1231–1237, 1999.

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

SÁENZ, C. et al. Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). **Food Chemistry**, v. 114, n. 2, p. 616–622, 2009.

SANTOS, E. M. et al. Antioxidant effect of pumpkin flower (*Cucurbita maxima*) in chicken patties. **Foods**, v. 11, n. 15, p. 2258, 2022.

SÁYAGO-AYERDI, S. G.; BRENES, A.; GOÑI, I. Effect of grape antioxidant dietary fiber on the lipid oxidation of raw and cooked chicken hamburgers. **LWT – Food Science and Technology**, v. 42, n. 5, p. 971–976, 2009.

SHARMA, H. et al. Evaluation of anti-oxidant and anti-microbial activity of various essential oils in fresh chicken sausages. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 2, p. 279–292, 2017.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1965.

SMERIGLIO, A. et al. *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. fruit as source of betalains with antioxidant, cytoprotective, and anti-angiogenic properties. **Phytotherapy Research**, v. 33, n. 5, p. 1526–1537, 2019.

VAN DE VIJVER, L. et al. Association between trans fatty acid intake and cardiovascular risk factors in Europe: the TRANSFAIR study. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 54, n. 2, p. 126–135, 2000.

VYNCKE, W. Evaluation of the direct thiobarbituric acid extraction method for determining oxidative rancidity in mackerel (*Scomber scombrus* L.). **Fett-lipid**, v. 77, n. 6, p. 239–240, 1975.

WHO/FAO. World Health Organization. Food and Agriculture Organization. Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Geneva: Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation, **WHO Technical Report Series**, v. 916, 2003.

ZAKYNTHINOS, G.; VARZAKAS, T. Lipid profile and antioxidant properties of selected pear cactus (*Opuntia ficus-indica*) ecotypes from Southern Greece. **Current Research in Nutrition and Food Science Journal**, v. 4, n. 1, p. 54–57, 2016.

6 CHAPTER 3: FRUIT AND AGRO-INDUSTRIAL WASTE EXTRACTS AS POTENTIAL ANTIMICROBIALS IN MEAT PRODUCTS: A BRIEF REVIEW

Leticia Aline GONÇALVES¹; José Manuel LORENZO^{2,3}; Marco Antonio TRINDADE¹

¹ Universidade de São Paulo. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Av. Duque de Caxias Norte, 13635-900, Pirassununga, Sao Paulo, Brazil;

² Centro Tecnológico de la Carne de Galicia, Rúa Galicia N-4, Parque Tecnológico de Galicia, San Cibrao das Viñas, 32900 Ourense, Spain;

³ Área de Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ciencias de Ourense, Universidad de Vigo, 32004 Ourense, Spain

This article was published in ‘Foods’ (Impact Factor: 5.561 (2021); 5-Year Impact Factor: 5.940 (2021)) on June 25, 2021 (ANEXO C). Foods is an Open Access journal indexed in PubMed, ISSN: 2304-8158, with JCR - Q1 (Food Science & Technology) / CiteScore - Q1 (Health Professions (miscellaneous)).

This article belongs to the Special Issue: Novel Strategies for the Development of Healthier Meat and Meat Products and Determination of Their Quality Characteristics.

Publisher's clearance and consent for publication as part of the dissertation by “Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).”.

Citation: GONÇALVES, L. A.; LORENZO, J. M.; TRINDADE, M. A. Fruit and Agro-Industrial Waste Extracts as Potential Antimicrobials in Meat Products: A Brief Review. **Foods**, v. 10, n. 7, p. 1469, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods10071469>

ABSTRACT

The use of antimicrobials in meat products is essential for maintaining microbiological stability. The reformulation by substituting synthetic additives for natural ones is an alternative to provide clean label products. Therefore, this work performed a literature search about extracts from fruits and agro-industrial waste with antimicrobial activity that can be applied in meat products. Jabuticaba waste extracts are excellent sources of anthocyanins with antimicrobial and pigmentation potential, capable of being applied in meat products such as fresh sausage, without compromising sensory attributes. Residue from grapes is rich in antimicrobial phytochemicals, mainly catechins, epicatechins, gallic acid and procyanidins. Extracts from different grape by-products and cultivars showed inhibition of *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* O157:H7 and other bacterial strains. Antimicrobial effects against *L. monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *S. aureus* and *E. coli* O157:H7 were identified in *Opuntia* extracts. In addition, its application in hamburgers reduced ($P<0.05$) aerobic mesophilic bacteria, *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas* sp. counts, and at a concentration of 2.5%, improved the microbiological stability of salami without causing sensory and texture changes. These data reinforce the possibility of substituting synthetic preservatives for natural versions, a growing trend that requires researching effective concentrations to maintain the sensory and technological properties.

Keywords: *Opuntia ficus-indica*; *Myrciaria cauliflora*; *Vitis* sp.; microbiological stability; sensory properties; clean label

6.1 INTRODUCTION

Since antiquity, even without being aware of the proliferation of microorganisms, when observing the high perishability of meat and the need for its immediate consumption, man began to use techniques of physical and chemical changes capable of delaying spoilage and improving the flavor of this and other food classes, which allowed the significant extension of the availability period of certain foods. One of the oldest forms of meat processing is the manufacture of by-products from the processing of meat pieces, which started around 1500 BC in the Mediterranean region, whose climate was favorable for the maturation of products, when several procedures that resulted in the reduction in water activity and consequently the prolongation of their shelf life, such as desiccation, drying, curing, smoking, salting and/or mixture of aromatic herbs, were also Applied (ORDOÑEZ et al., 2005; SINDELAR; MILKOWSKI, 2012).

As they are nutritionally rich foods with a large amount of available water in their composition, meats become susceptible to contamination by pathogenic and spoiling microorganisms. In order to overcome this problem and offer safe meat products to consumers, it is necessary to adopt measures for their conservation, such as good manufacturing practices, use of low temperatures during storage, heat treatment and use of aditives (TERRA, 1998).

Processing has the purpose of extending the shelf life of meat, adding value to deboning by-products, which are generally not marketed in the fresh form, in addition to generating a wide variety of differentiated products in terms of color, flavor, aroma and texture (PARDI et al., 2006). Due to the low cost and easy preparation, a considerable part of the population developed the habit of regularly consuming meat derivatives such as sausages, bologna and hamburgers, contributing to a significant expansion of the meat products market (MARTINS et al., 2008; MELO FILHO; BISCONTINI; ANDRADE, 2004).

The quality of meat derivatives is directly related to the origin of raw materials and ingredients and to the sanitary conditions of the manufacturing process. Products are classified according to the types of meat used, fat content, offal or edible by-products from slaughter, and may or may not be added with condiments and additives permitted by legislation (ORDOÑEZ et al., 2005). In the meat production process, meat comminution increases the contact surface area, favoring microbial contamination and proliferation (MALAVOTA et al., 2006). Therefore, the incorporation of preservatives in processing can considerably contribute to the maintenance of quality and safety characteristics during shelf life (BALDIN et al., 2016). The

use of these substances in meat products is regulated in Brazil by RDC No. 272/2019, which regulates the use of food additives for each class of meat derivative, their conditions of use and maximum limits (BRASIL, 2019a).

For a long time, the food industry has incorporated various ingredients into formulations that do not have the function of nourishing, but rather have a technological purpose, while they can also make the food more attractive to consumers. These ingredients are called food additives and are classified according to their technological function (LAMAS et al., 2016). The class of preservatives is one of them, the main purpose of which is to reduce the effect of spoilage caused by the multiplication of microorganisms or chemical reactions during the storage period (CLEMENTE et al., 2014; HASIAK et al., 1984). Synthetic substances that have their use approved within an acceptable daily intake limit, such as nitrite and sodium nitrate, preservatives most commonly used in the production of meat derivatives, are also used, which in addition to their antimicrobial capacity, particularly for the control and prevention of the growth of anaerobic bacteria, especially *Clostridium botulinum*, also promote a protective effect against lipid oxidation and act in the development and fixation of the pink color and flavor characteristics of cured meat products (CLEMENTE et al., 2014; LAMAS et al., 2016; SINDELAR; MILKOWSKI, 2012).

The application of sodium nitrite in the production of cured meats allows obtaining differentiated products with regard to color and flavor, safe and stable during storage. However, a discussion that started around the 1970s showed the great risk to human health from the generation of a class of substances considered potentially carcinogenic, the nitrosamines, when high nitrite concentrations are exposed to high temperature conditions, as usually occurs in the manufacture of cured meat products, and since then, its use has been considered increasingly controversial (CASSENS, 1997; SINDELAR; MILKOWSKI, 2012).

Although they are substances that significantly contribute to the conservation of products and have their use officially regulated, there are indications of negative health implications associated with the excessive consumption of these and other synthetic additives, such as carcinogenic effects and generation of toxic and mutagenic compounds, and, consequently, the maximum acceptable limits of their use have been gradually changed or prohibited in several countries (MARTÍNEZ et al., 2019; VERMA; SHARMA; BANERJEE, 2010).

Diet is one of the important factors that affect the well-being and health of human beings, and today, there is great concern among consumers about the correlation between eating habits and health problems (DO NASCIMENTO et al., 2007; PIRES et al., 2017). The

reformulation of meat products through the substitution of ingredients, such as sodium nitrite, is an alternative to provide these products with a “clean label” in order to reduce the negative consumer perception about the excessive use of synthetic additives and their carcinogenic potential, decreasing the association between consumption of meat products and possible health problems (DO NASCIMENTO et al., 2007; PIRES et al., 2017). For these reasons, many studies have been conducted in order to substitute synthetic antimicrobials for natural versions.

6.1.1 Phenolic Compounds

Phenolic compounds are phytochemicals with functions in pigmentation, astringency, protection against ultraviolet rays and antioxidant activity, being widely found in natural sources such as fruits, teas, spices, wine and honey (LIMA et al., 2019). These compounds have received much attention in recent decades due to evidence related to positive health effects, such as anti-inflammatory, antimicrobial, antithrombotic, vasodilatory and cardioprotective activity, contributing to the improvement in metabolic markers associated with diabetes, hypertension and obesity (BALASUNDRAM; SUNDARAM; SAMMAN, 2006; RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1997).

Phenolic molecules are structurally characterized by the presence of at least one aromatic ring containing one or more hydroxyl radicals, the main groups being phenolic acids, flavonoids and polyphenols, whose main source is fruits (LIMA et al., 2019). In addition, recent studies have reported antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds, indicating that their chemical nature, especially the presence of hydroxyl groups in the molecule, may be associated with inhibitory mechanisms through interaction with the cytoplasmic membrane, cell wall and nucleic acids of bacteria, impairing vital functions such as protein synthesis and DNA transport or replication (SANHUEZA et al., 2017; XIE et al., 2015).

The generation of large amounts of waste from the processing of fruits and vegetables is one of the main challenges that the food industry has faced due to the need for large investment by companies to properly treat and dispose of this type of material in order to cause minimal negative impacts on the environment (MARTÍNEZ et al., 2019). These agro-industrial waste products from fruits are rich in phenolic compounds and other bioactive substances that can add antioxidant and antimicrobial properties to foods and provide health benefits (BREWER, 2011). Thereby, the use of this raw material as a natural substitute for synthetic additives can be a great alternative, because in addition to providing compounds with functional properties, it reduces the environmental impact caused by the disposal of a

significant part of the fruit, such as seeds and peels that are generally not used by the industry (MARTIN et al., 2012).

Thus, this review searched the scientific literature for reports of extracts obtained from fruits or their agro-industrial waste rich in antimicrobial bioactive compounds and that have potential applications in meat products, being able to maintain microbiological stability and safety during storage. More specifically, this review focused on the natural extracts obtained from jabuticaba, grape and prickly pear.

6.1.2 Fruit Extracts with Potential Application in Meat Products

6.1.2.1 Jabuticaba (Myrciaria cauliflora)

Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), belonging to the *Myrtaceae* family, is a fruit tree native to Brazil, whose cultivation extends throughout the national territory, with greater productivity in the Southeastern region. From the nutritional point of view, jabuticaba varieties are considered excellent sources of dietary fibers, carbohydrates, vitamins and minerals such as iron, calcium and phosphorus, arousing great interest for its considerable amount of phenolic compounds with antioxidant and antimicrobial potential (ASCHERI; ASCHERI; CARVALHO, 2006; DONADIO, 2000). Among these compounds, anthocyanins and flavonoids are mainly concentrated in fruit peel, being the main components responsible for the development of its characteristic dark color. The anthocyanin content, of approximately 315 mg per 100 g of jabuticaba, is considered high compared to other fruits, demonstrating great potential as a substitute for synthetic dyes in several food classes, in addition to the benefits for the conservation of these products (BALDIN et al., 2016; BORDIGNON-LUIZ et al., 2007).

The most attractive source for obtaining these natural pigments from jabuticaba, rich in antioxidant and antimicrobial bioactive compounds, is the use of residues from jelly- and liquor-processing industries, since peels and seeds represent approximately 50% of the fruit and are in general discarded by the industry (OLIVEIRA et al., 2003; PEREIRA et al., 2000).

Baldin et al. (2016) studied the application of microencapsulated jabuticaba extract in fresh sausage, evaluating the antimicrobial and antioxidant potential of this natural dye. Firstly, an in vitro experiment was carried out, which demonstrated an inhibitory effect on Gram-positive and Gram-negative bacteria, showing its antimicrobial potential. The minimum inhibitory concentration (MIC) results for the microencapsulated extract were 18.75 g/L (~2%)

for both *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Escherichia coli* ATCC 25922. These results can be attributed to the high concentration of phenolic compounds (anthocyanins) in fruit peel, which are mainly responsible for the antimicrobial activity in this case (CAILLET et al., 2012).

When applying microencapsulated jabuticaba extract in fresh sausage, Baldin et al. (2016) observed a reduction in the counts of mesophilic bacteria and of thermotolerant coliforms in treatments with 2 and 4% extract on the first and fifteenth days of cold storage. For *S. aureus*, treatments with 2 and 4% microencapsulated extract also showed lower counts when compared to the control (without addition of extract or dye) and with the treatment with added cochineal carmine dye. The addition of 4% extract caused the elimination of *S. aureus* on the last day of storage (15 days). In the total count of aerobic psychrotrophic microorganisms, a reduction of 1 log cycle was observed at the end of the fourth day of storage of treatments with additions of 2 and 4% of jabuticaba extract; however, from the eighth day, all treatments tested exceeded the limit of 10^7 CFU/g recommended by the International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) (ICMSF, 1986), indicating spoilage that can lead to sensory loss in the attributes of odor, color and taste. The count of lactic bacteria increased from 4 log CFU/g at time zero (beginning of storage) to 6 log CFU/g at the end of storage in all treatments, not exceeding the limit of 10^7 CFU/g established by ICMSF (ICMSF, 1986). *Salmonella* sp. tested negative in 25 g for all treatments, being in accordance with Brazilian legislation (BRASIL, 2019b).

Thus, the study recommended the addition of 2% of microencapsulated jabuticaba extract in fresh sausage, as it did not compromise the sensory attributes evaluated, except for the purplish color, which was slightly less accepted because it is not characteristic of the product. The aforementioned extract can be considered a good alternative for the production of clean label meat products as it satisfies the demand for the use of natural pigments with antimicrobial capacity and low cost, taking advantage of residues from the jabuticaba processing and with the appeal of health benefits.

6.1.2.2 Grape (*Vitis* sp.)

Grape (*Vitis* sp.) is one of the fruits most cultivated around the world, occupying an area of 7.5 million hectares of vineyards, with emphasis on the production of species *Vitis vinifera* in most countries (BAYDAR et al., 2006; FAO, 2009). In Brazil, the most commonly found cultivars are *Vitis labrusca*, *Vitis bourquina*, *Vitis vinifera* and several interspecific

hybrids, occupying an area of 78 thousand hectares from the extreme south of the country to near the equator, showing characteristic poles of temperate, subtropical and tropical climates due to its expressive environmental diversity (IBGE, 2018). Brazilian grape production reached 1.5 million tons per year in 2018, with 50% destined for processing — wine making (42% table wines and 7% fine wines), juices (49%) and other derivatives (2%) — and the other half of the national volume marketed as grapes for fresh consumption (IBGE, 2018).

The generation of waste from the processing of this high volume of grapes is significant, and may correspond to 30% of the fruit when used for the production of wines, for example, consisting of by-products such as pomace, peels and seeds (NARDOIA et al., 2018). This waste is considered a source of phenolic compounds with antioxidant and antimicrobial effects, mainly catechins, epicatechins, gallic acid and procyanidins (ADÁMEZ et al., 2012; MONAGAS et al., 2003; NARDOIA et al., 2018).

Martin et al. (2012) evaluated the in vitro antimicrobial capacity of ethanolic grape extracts from lyophilized seeds or agro-industrial waste. For the extract obtained from lyophilized pomace of “Pinot Noir” (*Vitis vinifera*) cultivar, the authors found MIC against Gram-positive *S. aureus* ATCC 25923 and *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 pathogens of 6.25 and 12.5 g/L, respectively. “Petit Verdot” (*Vitis vinifera*) seeds ethanolic extract presented an MIC of 6.25 g/L for *L. monocytogenes* and 1.56 g/L for *S. aureus* (Table 13).

Adámez et al. (2012) estimated the in vitro antibacterial activity of aqueous grape seed extract (*Vitis vinifera* L.), Tempranillo cultivar, obtained after wine manufacture, and reported efficiency in inhibiting Gram-positive 976 *S. aureus subsp. aureus* and 910 *Listeria innocua* (Table Table 13). Similar results were obtained by Baydar et al. (2006) in seeds from “Hasandede”, “Emir” and “Kalecik” cultivars (all *Vitis vinifera* L. species), which demonstrated a relationship between increased extract concentration and reduced growth of 15 bacterial strains, including the pathogens *E. coli* O157: H7 KUEN 1461, *Aeromonas hydrophila* ATCC 7965 and *S. aureus* Cowan 1. Additionally, extracts at concentrations of 0.5 and 1% showed a bacteriostatic effect on *E. coli*, while concentrations of 2.5 and 5% provided bactericidal activity.

Despite the good in vitro results, data on the incorporation of this class of extract to guarantee microbiological stability in meat products were not found in the scientific literature. Carpes et al. (2020) obtained lyophilized hydroethanolic (GPWL: grape pomace wine lyophilized) and microencapsulated (GPWM: grape pomace wine microencapsulated) extracts made with grape pomace from the processing of *Vitis labrusca* L. Bordeaux varieties and applied them to chicken pate in order to evaluate the effects of the addition of natural

compounds on oxidative stability compared to negative control treatment (T1; no antioxidant added) and with the use of 300 ppm of the synthetic antioxidant sodium erythorbate (T2).

Table 13 – Minimum inhibitory concentration *in vitro* of Grape Extracts on bacteria.

Strain	Gram	MIC	Grape cultivar	Reference
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	6.25 g/L	Pinot Noir (<i>V. vinifera</i>)	Martin <i>et al.</i> (2012)
		1.56 g/L	Petit Verdot (<i>V. vinifera</i>)	Martin <i>et al.</i> (2012)
		100.0 mL/L	Tempranillo (<i>V. vinifera</i>)	Adámez <i>et al.</i> (2012)
<i>Listeria innocua</i>	+	100.0 mL/L	Tempranillo (<i>V. vinifera</i>)	Adámez <i>et al.</i> (2012)
<i>L. monocytogenes</i>	+	12.5 g/L	Pinot Noir (<i>V. vinifera</i>)	Martin <i>et al.</i> (2012)
		6.25 g/L	Petit Verdot (<i>V. vinifera</i>)	Martin <i>et al.</i> (2012)

MIC: Minimal Inhibitory Concentration. Source: Own authorship.

The study reported satisfactory results for the inhibition of lipid oxidation in treatments with 3000 ppm of GPWL (T3) and GPWM (T4) extracts, analyzed by the index of substances reactive to 2-thiobarbituric acid (TBARS) during 42 days of cold storage (4°C). At the end of the storage period, all treatments showed a significant difference from each other ($P < 0.05$) in relation to the TBARS assay, with the best results being observed for T3, followed by T4, T2 and T1, respectively. All treatments, except for T1, had results below 3 mg of malondialdehyde/kg of sample, a value considered the limit for the meat product to be considered adequate and safe for consumption according to some authors (AL-KAHTANI *et al.*, 1996; SELANI *et al.*, 2011). Both GPWL and GPWM demonstrated an effective reduction in lipid oxidation when compared to treatment elaborated with commercial synthetic antioxidant, an activity that can be attributed mainly to the presence of phenolic compounds such as gallic, caffeic, vanillic, ferulic and coumaric acids and trans-resveratrol (CARPES *et al.*, 2020).

Thus, it appears that the extracts obtained from grape processing waste can be considered an interesting and innovative strategy for the incorporation of bioactive compounds in meat products with the substitution of synthetic preservatives for natural ones, since studies have shown their efficiency in inhibiting the growth of microorganisms related to outbreaks of foodborne diseases, such as *Listeria*, *E. coli* and *S. aureus*. However, studies on the *in vivo* influence on the sensory characteristics and antimicrobial action of meat products are necessary, since in general, studies have essentially evaluated the antioxidant activity.

6.1.2.3 Prickly Pear (*Opuntia ficus-indica*)

Opuntia ficus-indica, popularly known as prickly pear, is the fruit of a cactus species (*Cactaceae* family) native to tropical and subtropical regions of the Americas and currently also being cultivated in Europe, Africa and Australia, with approximately 300 known varieties (ZAKYNTHINOS; VARZAKAS, 2016). The literature contains plenty of information about the chemical composition of its pulp, seeds and peel, as well as some properties of interest for the pharmaceutical and food industry, because it is a natural source of bioactive compounds.

Brazil has the largest *Opuntia ficus-indica* cultivation system in South America, with a planting area of 500,000 hectares located mainly in the Northeastern region and recently extended to other regions. Cultivation is performed in general by small producers and a large part of the production is destined for animal fodder, when it is called forage palm or cattle palm (TAGUCHI et al., 2017). In the region of Valinhos, state of São Paulo, production is destined for the generation of fruit for fresh consumption, aimed at export to Europe and the domestic market (MAIORANO, 2016). In 2017, around 18.01 tons of the fruit were sold at “Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo” (CEAGESP), ranking 326th among products sold by the company (CEAGESP, 2018).

In recent years, there has been a remarkable interest from the scientific community regarding the regular consumption of the genus *Opuntia* and its positive correlation with the treatment and prevention of chronic diseases related to oxidative stress (OSUNA-MARTÍNEZ; REYES-ESPARZA; RODRÍGUEZ-FRAGOSO, 2014; STINTZING et al., 2005). Benefits such as reduction in triglycerides and total cholesterol in the bloodstream (PALUMBO et al., 2003), antiulcerogenic activity (GALATI et al., 2003), improved platelet aggregation (WOLFRAM et al., 2003) and reduced renal dysfunction (PARK et al., 2001; SREEKANTH et al., 2007) are some of the pieces of clinical and/or experimental evidence associated with the consumption of fig varieties. Other authors have found that extracts from the fruit and its peel and seeds have appreciable amounts of unsaturated fatty acids (CHOUGUI et al., 2013), with antioxidant activity (LIU et al., 2010; MATTHÄUS; ÖZCAN, 2011), anticancer effects (ABOU-ELELLA; ALI, 2014) and cardioprotective, antithrombotic, anti-inflammatory, antiarrhythmic, hypolipidemic and anti-hyperglycemic activities (BERRAAOUAN et al., 2014; MOBRATEN et al., 2013).

Seo and Lee (2002) identified the antimicrobial effects of *Opuntia ficus-indica* extract on two important pathogens related to foodborne diseases, *L. monocytogenes* and *E. coli* O157:H7, suggesting that the extract can be used as a natural preservative in food products.

Zito et al. (2013) detected the presence of eleven substances with antimicrobial activities in peels, seeds and pulps of the yellow (Surfarina) and red (Sanguigna) fruit varieties. Of these, major components were carvacrol, limonene, squalene and hexadecanoic acid, which in addition to their antimicrobial capacity are also antioxidants.

Parafati al. (2019) applied aqueous pulp extract of the purple and red *Opuntia ficus-indica* varieties in bovine hamburgers, testing the direct addition of the extract and the version encapsulated in sodium alginate. Microbiological analyses conducted after 8 days of cold storage (4°C) showed the preservative effect in hamburgers with added prickly pear extract, which significantly reduced ($P<0.05$) the count of mesophilic bacteria, *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas* sp., when compared to control sample with the addition of sterile distilled water. The authors concluded that the application of the extract, encapsulated or not, is an effective method for conservation of bovine hamburgers. However, studies are necessary to verify the influence of this component on the sensory and technological properties of products.

The antibacterial activity of the hydroethanolic extract obtained from the whole *Opuntia stricta* fruit, another species of the genus *Opuntia*, was quantified by determining the MIC and the minimum bactericidal concentration (MBC) by Kharrat et al. (2018). The results in Table 14 show that the extract from the red variety of *Opuntia stricta* showed high antibacterial activity, with an MIC and MBC less than or equal to sodium nitrite, which is the synthetic preservative commonly used in meat products, demonstrating that the extract can be as or more effective than sodium nitrite. This finding is mainly due to the presence of the pigment betalain and other phenolic compounds in the fruit.

Table 14 – Minimum inhibitory concentration and Minimum Bactericidal concentration *in vitro* of *Opuntia* Extract and Sodium Nitrite on bacteria.

Strain	Gram	MIC (mg/L)		MBC (mg/L)	
		OE	E250	OE	E250
<i>Bacillus cereus</i>	+	62.5	125.0	500.0	500.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	62.5	62.5	250.0	500.0
<i>Escherichia coli</i>	-	125.0	250.0	500.0	>1000.0
<i>Salmonella enteric</i>	-	125.0	500.0	1000.0	1000.0

MIC: Minimal Inhibitory Concentration; MBC: Minimal Bactericidal Concentration; OE: *Opuntia* Extract; E250: Sodium Nitrite. Source: Adapted from Kharrat et al. (2018).

When incorporating 2.5% of *Opuntia* extract in salami, replacing sodium nitrite preservative and the cochineal carmine dye, Kharrat et al. (2018) obtained an improvement in the microbiological stability of products and in the water retention capacity without causing sensory and texture changes. The microorganisms surveyed were mesophiles, molds and yeasts, *S. aureus*, *Clostridium perfringens* and *Salmonella*, and all counts were within limits established by the legislation for both the control treatment and salami with added natural extract, concluding that this is a good alternative for maintaining shelf life during cold storage of this type of meat product.

Prickly pear and other *Opuntia* species, although showing an impressive profile of bioactive compounds, are not well valued in the country and in other parts of the world. Therefore, research on the antimicrobial capacity and the application of extracts from this fruit in meat products can be a good option for offering safe and clean label products.

6.2 CONCLUSIONS

The data shown in the present study reinforce the possibility of substituting, or at least reducing, the use of synthetic preservatives with natural versions, such as those from fruits and agro-industrial waste, such as peels and seeds. In addition to reducing the environmental impact through the reuse of residues that would initially be discarded, the use of preservatives from natural sources meets the demand of consumers who are increasingly concerned with the possible relationship between the indiscriminate use of synthetic additives and the incidence of health problems. Therefore, the search for plant extracts with antimicrobial activity is an area of study on the rise and there are several reports in the literature on natural alternatives, both for application in meat products and in other food classes, which, therefore, generates a challenge regarding the use of these ingredients in concentrations that are significantly effective against microbiological proliferation, while maintaining the sensory and technological properties of products without compromising their safety.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Conceptualization, L.A.G., J.M.L. and M.A.T.; writing—original draft preparation, L.A.G.; writing—review and editing, M.A.T. and J.M.L.; visualization, J.M.L.; supervision, M.A.T. and J.M.L.; project administration, M.A.T. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

FUNDING

This research received no external funding.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to the São Paulo Research Foundation (FAPESP, Brazil) for financial support (grant number #2020/04544-9). This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior–Brasil (CAPES)—Finance Code 001. Authors (M.A.T., J.M.L) are members of the HealthyMeat network, funded by CYTED (ref. 119RT0568).

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

- ABOU-ELELLA, F. M.; ALI, R. F. M. Antioxidant and anticancer activities of different constituents extracted from egyptian prickly pear cactus (*Opuntia ficus-indica*) peel. **Biochemistry & Analytical Biochemistry**, v. 3, n. 02, p. 1–9, 2014.
- ADÁMEZ, J. D. et al. In vitro estimation of the antibacterial activity and antioxidant capacity of aqueous extracts from grape-seeds (*Vitis vinifera* L.). **Food Control**, v. 24, n. 1–2, p. 136–141, 2012.
- AL-KAHTANI, H. A. et al. chemical changes after irradiation and post-irradiation storage in tilapia and Spanish Mackerel. **Journal of Food Science**, v. 61, n. 4, p. 729–733, jul. 1996.
- ASCHERI, D. P. R.; ASCHERI, J. L. R.; CARVALHO, C. W. P. DE. Caracterização da farinha de bagaço de jabuticaba e propriedades funcionais dos extrusados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, p. 897–905, 2006.
- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191–203, 2006.
- BALDIN, J. C. et al. Microencapsulated jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) extract added to fresh sausage as natural dye with antioxidant and antimicrobial activity. **Meat Science**, v. 118, p. 15–21, 2016.
- BAYDAR, N. G. et al. Determination of antibacterial effects and total phenolic contents of grape (*Vitis vinifera* L.) seed extracts. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 41, p. 799–804, 2006.
- BERRAAOUAN, A. et al. Evaluation of antidiabetic properties of cactus pear seed oil in rats. **Pharmaceutical Biology**, v. 52, n. 10, p. 1286–1290, 2014.

BORDIGNON-LUIZ, M. T. et al. Colour stability of anthocyanins from Isabel grapes (*Vitis labrusca* L.) in model systems. **LWT – Food Science and Technology**, v. 40, n. 4, p. 594–599, 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução 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**, 18 mar. 2019, Brasília, DF, 2019a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Diretoria Colegiada. Resolução RDC nº 331, de 23 de dezembro de 2019. Dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação. **Diário Oficial da União**, 26 dez. 2019, Brasília, DF, 2019b. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-331-de-23-de-dezembro-de-2019-235332272>>. Acesso em: 15 abr. 2021

BREWER, M. S. Natural antioxidants: Sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 10, n. 4, jul. 2011.

CAILLET, S. et al. Antimicrobial effects of fractions from cranberry products on the growth of seven pathogenic bacteria. **Food Control**, v. 23, p. 419–428, 30 abr. 2012.

CARPES, S. T. et al. Lyophilized and microencapsulated extracts of grape pomace from winemaking industry to prevent lipid oxidation in chicken pâté. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 23, n. e2019112, p. 1–13, 2020.

CASSENS, R. G. Composition and safety of cured meats in the USA. **Food Chemistry**, v. 59, n. 4, p. 561–566, 1997.

CEAGESP. COMPANHIA DE ENTREPOSTOS E ARMAZÉNS GERAIS DE SÃO PAULO. Guia CEAGESP: Figo da Índia. 2018. Disponível em: <<http://www.ceagesp.gov.br/guia-ceagesp/figo-da-india/>>. Acesso em: 2 mar. 2020.

CHOUGUI, N. et al. Oil composition and characterisation of phenolic compounds of *Opuntia ficus-indica* seeds. **Food Chemistry**, v. 139, n. 1–4, p. 796–803, 2013.

CLEMENTE, F. et al. Verificação do teor de nitrito e nitrato em salsichas tipo *hot dog* em função dos métodos de cocção. **Revista Analytica**, p. 72–78, 2014.

DO NASCIMENTO, R. et al. Substituição de cloreto de sódio por cloreto de potássio: influência sobre as características físico-químicas e sensoriais de salsichas. **Alimentos e Nutrição - Brazilian Journal of Food and Nutrition**, v. 18, n. 3, p. 297–302, 2007.

DONADIO, L. C. Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* (Vell) Berg). Jaboticabal: Funep, 2000.

FAO. Food And Agriculture Organization Of The United Nations. **Agribusiness Handbook: Grapes Wine**. Roma, Itália: FAO Investment Centre Division, 2009. 39p.

GALATI, E. M. et al. Chemical Characterization and Biological Effects of Sicilian *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Fruit Juice: Antioxidant and Antiulcerogenic Activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 17, p. 4903–4908, 2003.

HASIAK, R. J. et al. Effect of sodium nitrite and sodium erythorbate on the chemical, sensory and microbiological properties of water-added turkey ham. **Poultry Science**, v. 63, p. 1364–1371, 1984.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Inteligência e Mercado de Uva e Vinho: a viticultura no Brasil**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/cim-inteligencia-e-mercado-uva-e-vinho/a-viticultura-no-brasil>>. Acesso em: 20 abr. 2020.

ICMSF. INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS. **Microorganisms in foods - Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications**. Toronto: University of Toronto Press, 1986.

KHARRAT, N. et al. Synergistic effect of polysaccharides, betalain pigment and phenolic compounds of red prickly pear (*Opuntia stricta*) in the stabilization of salami. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 111, p. 561–568, 2018.

LAMAS, A. et al. An Evaluation of alternatives to nitrites and sulfites to inhibit the growth of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in meat products. **Foods**, v. 5, n. 74, p. 1–11, 2016.

LIMA, M. C. et al. A review of the current evidence of fruit phenolic compounds as potential antimicrobials against pathogenic bacteria. **Microbial Pathogenesis**, v. 130, p. 259–270, 2019.

LIU, H. G. et al. Hypoglycemic effect of extracts of cactus pear fruit polysaccharide in rats. **Zhong Yao Cai**, v. 33, n. 2, p. 240–242, 2010.

MAIORANO, J. A. **Figo da Índia - Ficha Técnica**. 2016. Disponível em: <<https://www.todafruta.com.br/figo-da-india/>>. Acesso em: 2 mar. 2020.

MALAVOTA, L. C. M. et al. Análise micológica de linguiça de frango embalada em atmosfera modificada. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 13, n. 1, 2006.

MARTIN, J. G. P. et al. Antimicrobial potential and chemical composition of agro-industrial wastes. **Journal of Natural Products**, v. 5, p. 27–36, 2012.

MARTÍNEZ, L. et al. Green alternatives to synthetic antioxidants, antimicrobials, nitrates, and nitrites in clean label spanish chorizo. **Antioxidants**, v. 8, n. 6, p. 184, 19 jun. 2019.

MARTINS, L. L. et al. Avaliação do perfil bacteriológico de salsichas tipo *hot dog* comercializadas em embalagens a vácuo e a granel em supermercados dos municípios Rio de Janeiro e Niterói, RJ/Brasil. **Revista Do Instituto Adolfo Lutz**, v. 67, n. 3, p. 215–220, 2008.

MATTHÄUS, B.; ÖZCAN, M. M. Habitat effects on yield, fatty acid composition and tocopherol contents of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) seed oils. **Scientia Horticulturae**, v. 131, p. 95–98, 2011.

MELO FILHO, A. B. DE; BISCONTINI, T. M. B.; ANDRADE, S. A. C. Níveis de nitrito e nitrato em salsichas comercializadas na região metropolitana do Recife. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 3, p. 390–392, 2004.

MOBRATEN, K. et al. Omega-3 and omega-6 PUFAs induce the same GPR120-mediated signalling events, but with different kinetics and intensity in Caco-2 cells. **Lipids in Health and Disease**, v. 12, n. 101, p. 1–7, 2013.

MOGHTADAEI, M.; SOLTANIZADEH, N.; GOLI, S. A. H. Production of sesame oil oleogels based on beeswax and application as partial substitutes of animal fat in beef burger. **Food Research International**, v. 108, p. 368–377, 2018.

MONAGAS, M. et al. Monomeric, oligomeric, and polymeric flavan-3-ol composition of wines and grapes from *Vitis vinifera* L. Cv. *Graciano*, *Tempranillo*, and *Cabernet Sauvignon*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 22, p. 6475–6481, 2003.

NARDOIA, M. et al. Effect of polyphenols dietary grape by-products on chicken patties. **European Food Research and Technology**, v. 244, n. 2, p. 367–377, 2018.

OLIVEIRA, A. L. DE et al. Caracterização tecnológica de jabuticabas “Sabará” provenientes de diferentes regiões de cultivo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 3, p. 397–400, 2003.

ORDOÑEZ, J. A. et al. **Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal**. Porto Alegre: Artmed, 2005. v. 2

OSUNA-MARTÍNEZ, U.; REYES-ESPARZA, J.; RODRÍGUEZ-FRAGOSO, L. Cactus (*Opuntia ficus-indica*): A review on its antioxidants properties and potential pharmacological use in chronic diseases. **Natural Products Chemistry & Research**, v. 2, n. 6, p. 1–8, 2014.

PALUMBO, B. et al. Prickly pear induces upregulation of liver LDL binding in familial heterozygous hypercholesterolemia. **Nuclear Medicine Review**, v. 6, n. 1, p. 35–39, 2003.

PARAFATI, L. et al. Quality maintenance of beef burger patties by direct addition or encapsulation of a prickly pear fruit extract. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 2019.

PARDI, M. C. et al. **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne**. Goiania: UFG e Universidade Federal Fluminense (Eduff), 2006.

PARK, E. H. et al. An anti-inflammatory principle from cactus. **Fitoterapia**, v. 72, n. 3, p. 288–290, 2001.

PEREIRA, M. C. T. et al. Atributos físicos e químicos de frutos de oito clones de jabuticabeiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, p. 16–21, 2000.

PIRES, M. A. et al. The antioxidant capacity of rosemary and green tea extracts to replace the carcinogenic antioxidant (BHA) in chicken burgers. **Journal of Food Quality**, v. 2017, p. 1–6, 2017.

RICE-EVANS, C.; MILLER, N.; PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science**, v. 2, n. 4, p. 152–159, 1997.

SANHUEZA, L. et al. Synergistic interactions between phenolic compounds identified in grape pomace extract with antibiotics of different classes against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **PLOS ONE**, v. 12, n. 2, p. 1–15, 2017.

SELANI, M. M. et al. Wine industry residues extracts as natural antioxidants in raw and cooked chicken meat during frozen storage. **Meat Science**, v. 88, n. 3, p. 397–403, 2011.

SEO, M. Y.; LEE, S. M. Protective effect of low dose of ascorbic acid on hepatobiliary function in hepatic ischemia/reperfusion in rats. **Journal of Hepatology**, v. 36, n. 1, p. 72–77, 2002.

SINDELAR, J. J.; MILKOWSKI, A. L. Human safety controversies surrounding nitrate and nitrite in the diet. **Nitric Oxide**, v. 26, p. 259–266, 2012.

SREEKANTH, D. et al. Betanin a betacyanin pigment purified from fruits of *Opuntia ficus-indica* induces apoptosis in human chronic myeloid leukemia Cell line-K562. **Phytomedicine**, v. 14, n. 11, p. 739–746, 2007.

STINTZING, F. C. et al. Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 2, p. 442–451, 2005.

TAGUCHI, M. et al. **Crop Ecology, Cultivation and Uses of Cactus Pear**. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/i7012e/i7012e.pdf>>. Acesso em: 16 abr. 2020.

TERRA, N. N. **Apontamentos de tecnologia de carnes**. São Leopoldo: Unisinos, 1998.

VERMA, A. K.; SHARMA, B. D.; BANERJEE, R. Effect of sodium chloride replacement and apple pulp inclusion on the physico-chemical, textural and sensory properties of low fat chicken nuggets. **LWT – Food Science and Technology**, v. 43, n. 4, p. 715–719, 2010.

WOLFRAM, R. et al. Daily prickly pear consumption improves platelet function. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 69, n. 1, p. 61–66, 2003.

XIE, Y. et al. Antibacterial activities of flavonoids: structure-activity relationship and mechanism. **Current Medicinal Chemistry**, v. 22, n. 1, p. 132–149, 2015.

ZAKYNTHINOS, G.; VARZAKAS, T. Lipid profile and antioxidant properties of selected pear cactus (*Opuntia ficus-indica*) ecotypes from Southern Greece. **Current Research in Nutrition and Food Science Journal**, v. 4, n. 1, p. 54–57, 2016.

ZITO, P. et al. Essential oils composition of two Sicilian cultivars of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (*Cactaceae*) fruits (prickly pear). **Natural Product Research**, v. 27, n. 14, 2013.



7 CONCLUSÕES GERAIS

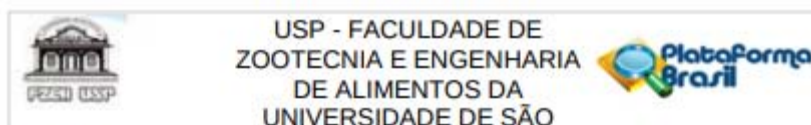
A condução deste trabalho de mestrado permitiu apontar benefícios à utilização de extratos naturais de *Opuntia ficus-indica* para a conservação de produtos cárneos através de atividades antioxidantes e antimicrobianas, reforçando sua possibilidade de emprego para substituir aditivos sintéticos apontados como causadores de malefícios à saúde. No Capítulo 1, a utilização do extrato em altas concentrações (1,88 e 3,75%) provocou um aumento na leitura dos índices de oxidação lipídica em linguças frescas de frango, fato que provavelmente decorreu de fatores adversos que levaram à superestimação do teor de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico pela metodologia utilizada para mensurar a oxidação lipídica e/ou por atividades pró-oxidantes decorrentes da alta concentração de componentes do extrato, como os compostos fenólicos, o que não está propriamente ligado ao desenvolvimento de reações de oxidação lipídica. Os resultados da análise de oxidação proteica reforçam esta possibilidade, uma vez que os tratamentos formulados tanto com antioxidante natural quanto sintético apresentaram concentrações de carbonila inferiores ao tratamento controle no fim da vida útil, e diversos autores apontam que os dois mecanismos (oxidação proteica e lipídica) estão interligados, ou seja, um processo catalisa a propagação do outro. Adicionalmente, a incorporação do extrato não provocou alterações em outros parâmetros dos produtos, como composição centesimal, pH e perda de peso por cocção, afetando em menor grau a dureza, luminosidade (L^*), índice de amarelo (b^*) e a aceitação sensorial, embora todos os tratamentos tenham sido bem aceitos sensorialmente. Além disso, reduções na contagem de microrganismos foram observadas com a utilização do extrato de figo da índia nas linguças frescas, o que, juntamente com os dados disponibilizados na literatura científica (Capítulo 3), corroboram sua capacidade antimicrobiana. Após a verificação do ocorrido com os valores de TBARs no Capítulo 1, no Capítulo 2 foi utilizada outra estratégia para estabelecer a concentração de extrato a ser aplicada, sendo definida uma concentração igual à do aditivo sintético comumente utilizado (eritorbato de sódio em 500 ppm) e um nível superior (750 ppm). Com esta modificação, foi possível observar os efeitos protetores do extrato quanto ao desenvolvimento de reações de oxidação lipídica em hambúrgueres de frango formulados com substituição total da gordura animal por uma emulsão-gel rica em ácidos graxos poliinsaturados. Isto foi constatado pela redução dos índices de TBARs nos tratamentos incorporados de extrato natural em comparação com o tratamento controle (sem antioxidantes) e o tratamento formulado com antioxidante sintético, ocasionando também melhor estabilidade

oxidativa dos pigmentos, sem afetar o pH, composição centesimal e perfil de ácidos graxos (33,7% de poliinsaturados, 42,5% de monoinsaturados e 23,8% de saturados), bem como a adição destas quantidades de extrato não provocou diferenças significativas na aceitação sensorial entre os tratamentos. Portanto, pode-se concluir que a utilização de extrato natural de figo da índia para substituir antioxidantes e antimicrobianos sintéticos pode ser considerada uma boa estratégia para o desenvolvimento de produtos cárneos *clean label*.

ANEXOS

ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
PARA A REALIZAÇÃO DE ANÁLISE SENSORIAL (SITUAÇÃO: APROVADO).

	USP - FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS DA UNIVERSIDADE DE SÃO											
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP												
DADOS DO PROJETO DE PESQUISA												
Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE EXTRATO DE FIGO DA ÍNDIA (<i>Opuntia ficus-indica</i>) APLICADO EM EMBUTIDOS À BASE DE FRANGO												
Pesquisador: LETICIA ALINE GONCALVES												
Área Temática:												
Versão: 2												
CAAE: 32485120.2.0000.5422												
Instituição Proponente: UNIVERSIDADE DE SAO PAULO												
Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO												
DADOS DO PARECER												
Número do Parecer: 4.254.749												
Apresentação do Projeto:												
O projeto é passível de submissão ao CEPH, pois envolve análise sensorial de alimentos com 120 participantes.												
Objetivo da Pesquisa:												
Avaliar o efeito da adição do extrato natural de figo da Índia (<i>Opuntia ficus-indica</i>) em embutidos à base de carne de frango (mortadela e linguiça fresca) sobre as características organolépticas de aparência, aroma, textura, sabor e qualidade global.												
Avaliação dos Riscos e Benefícios:												
Não há benefícios diretos aos participantes. Os riscos são comparáveis aos do consumo de quaisquer alimentos processados disponíveis no mercado.												
Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:												
A análise sensorial segue protocolos estabelecidos na área de conhecimento.												
Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:												
O TCLE é conciso e está redigido de forma precisa e informativa. Foram indicadas expressamente os meios de contato com o responsável pela pesquisa e com o CEPH.												
Recomendações:												
Adequar a redação do TCLE ao contexto da análise sensorial, substituindo a expressão "sem												
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="border: none;">Endereço: Avenida Duque de Caxias Norte, 225</td> <td style="border: none;">CEP: 13.635-900</td> </tr> <tr> <td style="border: none;">Bairro: Campus Universitário da USP</td> <td style="border: none;"></td> </tr> <tr> <td style="border: none;">UF: SP</td> <td style="border: none;">Município: PIRASSUNINGA</td> </tr> <tr> <td style="border: none;">Telefone: (19)3565-4299</td> <td style="border: none;">Fax: (19)3565-4114</td> </tr> <tr> <td colspan="2" style="border: none;">E-mail: cepzrea@usp.br</td> </tr> </table>			Endereço: Avenida Duque de Caxias Norte, 225	CEP: 13.635-900	Bairro: Campus Universitário da USP		UF: SP	Município: PIRASSUNINGA	Telefone: (19)3565-4299	Fax: (19)3565-4114	E-mail: cepzrea@usp.br	
Endereço: Avenida Duque de Caxias Norte, 225	CEP: 13.635-900											
Bairro: Campus Universitário da USP												
UF: SP	Município: PIRASSUNINGA											
Telefone: (19)3565-4299	Fax: (19)3565-4114											
E-mail: cepzrea@usp.br												



Continuação do Parecer: 4.254.749

prejuízo ao seu cuidado", na 9a linha, por "sem qualquer prejuízo", uma vez que não se trata de procedimento clínico.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências ou inadequações que impeçam o desenvolvimento da pesquisa.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este CEPH FZEA aprova o desenvolvimento do projeto, a partir desta data.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_1554534.pdf	08/07/2020 11:03:47		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_alterado.pdf	08/07/2020 11:00:22	LETICIA ALINE GONCALVES	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_detalhado.pdf	20/05/2020 22:11:15	LETICIA ALINE GONCALVES	Aceito
Orçamento	Orcamento_financeiro.pdf	20/05/2020 22:08:53	LETICIA ALINE GONCALVES	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	20/05/2020 22:08:33	LETICIA ALINE GONCALVES	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rostoassinada.pdf	20/05/2020 22:04:17	LETICIA ALINE GONCALVES	Aceito
Brochura Pesquisa	projeto.pdf	20/05/2020 22:03:50	LETICIA ALINE GONCALVES	Aceito

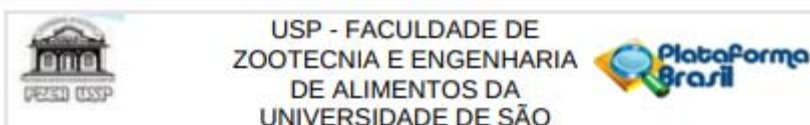
Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Avenida Duque de Caxias Norte, 225
 Bairro: Campus Universitário da USP CEP: 13.635-900
 UF: SP Município: PIRASSUNUNGA
 Telefone: (19)3565-4299 Fax: (19)3565-4114 E-mail: cepfzea@usp.br



Continuação do Parecer: 4.258.749

PIRASSUNUNGA, 02 de Setembro de 2020


Assinado por:
Judite das Graças Lapa Guimarães
(Coordenador(a))


Endereço: Avenida Duque de Caxias Norte, 225
Bairro: Campus Universitário da USP **CEP:** 13.635-900
UF: SP **Município:** PIRASSUNUNGA
Telefone: (19)3565-4299 **Fax:** (19)3565-4114 **E-mail:** ceptzea@usp.br


Página 02 de 03

ANEXO B – COMPROVANTES DE SUBMISSÃO DE ARTIGO EM PERIÓDICO CIENTÍFICO INDEXADO INTERNACIONALMENTE.

09/01/2023 22:57 ScholarOne Manuscripts


 British Food Journal

 Home

 Author

Please click the "Return to Dashboard" button below to view your submitted manuscript OR click the link "Log Out" at the upper right side of the screen to log out of your account.

Submission Confirmation

 Print

Thank you for your submission

Submitted to
British Food Journal

Manuscript ID
BFJ-01-2023-0019

Title
EFFECT OF *Opuntia ficus-indica* EXTRACT IN PRO-HEALTHY CHICKEN BURGERS: OXIDATIVE STABILITY, PHYSICOCHEMICAL AND SENSORY PROPERTIES

Authors
Aline Gonçalves, Leticia
Lorenzo Rodriguez, Jose Manuel
Bermúdez, Roberto
Pateiro, Mirian
Trindade, Marco

Date Submitted
10-Jan-2023

17/01/2023 16:54

E-mail de Universidade de São Paulo - British Food Journal - Manuscript ID BFJ-01-2023-0019



Leticia Aline Gonçalves <goncalves.leticia@usp.br>

British Food Journal - Manuscript ID BFJ-01-2023-0019

1 mensagem

British Food Journal <onbehalfof@manuscriptcentral.com>

9 de janeiro de 2023 às 22:57

Responder a: gabriele.baima@unito.it

Para: goncalves.leticia@usp.br, jmlorenzo@ceteca.net, robertobermudez@ceteca.net, mirianpateiro@ceteca.net, trindadema@usp.br

10-Jan-2023

Dear Miss Aline Gonçalves:

Your manuscript entitled "EFFECT OF <i>Opuntia ficus-indica</i> EXTRACT IN PRO-HEALTHY CHICKEN BURGERS: OXIDATIVE STABILITY, PHYSICOCHEMICAL AND SENSORY PROPERTIES" has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the British Food Journal.

Your manuscript ID is BFJ-01-2023-0019.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to ScholarOne Manuscripts at <https://mc.manuscriptcentral.com/bfj> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Centre after logging in to <https://mc.manuscriptcentral.com/bfj>.

Please note that Emerald requires you to clear permission to re-use any material not created by you. If there are permissions outstanding, please upload these when you submit your revision or send directly to Emerald if your paper is accepted immediately. Emerald is unable to publish your paper with permissions outstanding.

Thank you for submitting your manuscript to the British Food Journal.

Yours sincerely,
Gabriele Baima
British Food Journal Editorial Office

ANEXO C – COMPROVANTE DE PUBLICAÇÃO DE ARTIGO EM PERIÓDICO CIENTÍFICO INDEXADO INTERNACIONALMENTE.



Review

Fruit and Agro-Industrial Waste Extracts as Potential Antimicrobials in Meat Products: A Brief Review

Leticia Aline Gonçalves ^{1,*}, José M. Lorenzo ^{2,3} and Marco António Trindade ¹

¹ Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Av. Duque de Caxias Norte, Pirassununga 13635-90, São Paulo, Brazil; trindadem@usp.br

² Área de Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ciencias de Ourense, Universidad de Vigo, 32004 Ourense, Spain; jmlorenzo@ccitca.net

³ Centro Tecnológico de la Carne de Galicia, Rúa Galicia N-4, Parque Tecnológico de Galicia, San Cibrao das Viñas, 32900 Ourense, Spain

* Correspondence: leticia.aline.goncalves@usp.br

Abstract: The use of antimicrobials in meat products is essential for maintaining microbiological stability. The reformulation by substituting synthetic additives for natural ones is an alternative to provide cleaner label products. Therefore, this work performed a literature search about extracts from fruits and agro-industrial waste with antimicrobial activity that can be applied in meat products. Jabuticaba waste extracts are excellent sources of anthocyanins with antimicrobial and pigmentation potential, capable of being applied in meat products such as fresh sausage, without compromising sensory attributes. Residue from grapes is rich in antimicrobial phytochemicals, mainly catechins, epicatechins, gallic acid and procyanidins. Extracts from different grape by-products and cultivars showed inhibition of *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* O157: H7 and other bacterial strains. Antimicrobial effects against *L. monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *S. aureus* and *E. coli* O157: H7 were identified in *Opuntia* extracts. In addition, its application in hamburgers reduced ($p < 0.05$) aerobic mesophilic bacteria, *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas* sp. counts, and at a concentration of 2.5%, improved the microbiological stability of salami without causing sensory and texture changes. These data reinforce the possibility of substituting synthetic preservatives for natural versions, a growing trend that requires researching effective concentrations to maintain the sensory and technological properties.

Keywords: *Opuntia ficus-indica*; *Myrciaria cauliflora*; *Vitis* sp.; microbiological stability; sensory properties; cleaner label



Citation: Gonçalves, L.A.; Lorenzo, J.M.; Trindade, M.A. Fruit and Agro-Industrial Waste Extracts as Potential Antimicrobials in Meat Products: A Brief Review. *Foods* **2021**, *10*, 1469. <https://doi.org/10.3390/foods10071469>

Academic Editors:
Claudia Ruiz-Capillas and Ana Herrero Herranz

Received: 13 May 2021

Accepted: 21 June 2021

Published: 25 June 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Since antiquity, even without being aware of the proliferation of microorganisms, when observing the high perishability of meat and the need for its immediate consumption, man began to use techniques of physical and chemical changes capable of delaying spoilage and improving the flavor of this and other food classes, which allowed the significant extension of the availability period of certain foods. One of the oldest forms of meat processing is the manufacture of by-products from the processing of meat pieces, which started around 1500 BC in the Mediterranean region, whose climate was favorable for the maturation of products, when several procedures that resulted in the reduction in water activity and consequently the prolongation of their shelf life, such as desiccation, drying, curing, smoking, salting and/or mixture of aromatic herbs, were also applied [1,2].

As they are nutritionally rich foods with a large amount of available water in their composition, meats become susceptible to contamination by pathogenic and spoiling microorganisms. In order to overcome this problem and offer safe meat products to consumers, it is necessary to adopt measures for their conservation, such as good manufacturing practices, use of low temperatures during storage, heat treatment and use of additives [3].