



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS**  
**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA**  
**DE ALIMENTOS**

**NAJARA SOUSA DA SILVA**

**OTIMIZAÇÃO DA OBTENÇÃO DE HIDROLISADO PROTEICO DE SAPUCAIA**  
**(*LECYTHIS PISONIS* CAMB.) PARA APLICAÇÃO COMO ANTIOXIDANTE EM**  
**PRODUTOS ALIMENTÍCIOS**

**Palmas – TO**

**2024**

**Najara Sousa da Silva**

**Otimização da obtenção de hidrolisado proteico de sapucaia (*lecythis pisonis* camb.)  
Para aplicação como antioxidante em produtos alimentícios**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) da Universidade Federal do Tocantins para obtenção do título de Mestre.

**Linha de Pesquisa:** Desenvolvimento de Novos Produtos

**Orientadora:** Profa. Dra. Caroline Roberta Freitas Pires

**Coorientador:** Prof. Dr. Anderson Ferreira Vilela

**Palmas – TO**

**2024**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins**

---

- S586o Silva, Najara Sousa da.  
Otimização da obtenção de hidrolisado proteico de sapucaia (*lecythis pisonis camb.*) Para aplicação como antioxidante em produtos alimentícios. / Najara Sousa da Silva. – Palmas, TO, 2024.  
96 f.
- Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2024.  
Orientadora : Caroline Roberta Freitas Pires  
Coorientador: Anderson Ferreira Vilela
1. *Lecythis pisonis* Camb. 2. Estabilidade oxidativa. 3. Atividade antioxidante. 4. Hidrólise enzimática. I. Título

**CDD 664**

---

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

**Najara Sousa da Silva**

**Otimização da obtenção de hidrolisado proteico de sapucaia (*lecythis pisonis* camb.)  
Para aplicação como antioxidante em produtos alimentícios**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Foi avaliado para a obtenção do título de Mestra em Ciência e Tecnologia de Alimentos e aprovada em sua forma final pela Orientadora e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação: 12/ 07 / 2024

Banca Examinadora

---

Prof.<sup>a</sup>. Dra. Caroline Roberta Freitas Pires (Orientadora)  
UFT

---

Prof. Dr. Abraham Damian Zuniga  
UFT

---

Prof. Dr. José Luis Ramirez Ascheri  
EMBRAPA

*À minha amada avó Maria, em memória de uma vida cheia de sabedoria, carinho e força. Sua presença iluminou meu caminho e suas palavras, sempre cheias de amor e conselhos valiosos, ecoam em minha mente e coração. Esta dissertação é uma pequena homenagem ao legado que você deixou e ao impacto profundo que teve na minha vida.*

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, pelas oportunidades concedidas, pela força e sabedoria para vencer mais uma etapa e pela presença constante em minha vida.

Gostaria de expressar minha profunda gratidão à minha família por seu apoio inabalável durante minha jornada acadêmica. Sem o amor, encorajamento e compreensão constantes, este trabalho não teria sido possível.

À professora e orientadora Profa. Dra Caroline Roberta Freitas Pires, por seu exemplo de profissionalismo e competência, por todos os ensinamentos, paciência, apoio, carinho, extrema dedicação e orientação ao longo destes anos.

Aos técnicos Anielli e Douglas, pelo auxílio nas análises, orientações, apoio, estímulo, sugestões e paciência.

Minha sincera gratidão aos professores do PPGCTA-UFT que contribuíram significativamente para a realização desta dissertação. Em particular, agradeço ao Professor, Anderson Ferreira Vilela meu coorientador, pela sua orientação acadêmica excepcional, paciência e encorajamento ao longo deste processo.

Aos amigos que tornaram a caminhada mais leve graças à companhia, carinho, amizade, conselhos e encontros.

À banca examinadora, que se dispôs a enriquecer este trabalho com toda a sabedoria que lhes cabe. E a todos aqueles não citados que direta ou indiretamente contribuíram de forma positiva para a realização deste trabalho. A todos vocês, muito obrigada!

## RESUMO

O interesse na utilização de proteínas vegetais e seus derivados pela indústria de alimentos têm crescido nos últimos anos, fazendo com que a utilização de sementes comestíveis como fonte de proteína aumente significativamente. Neste sentido as castanhas têm recebido atenção especial, pois são fontes naturais de vitaminas, minerais, proteínas e ácidos graxos essenciais, podendo assim contribuir para a dieta humana. Diante disso, o objetivo desse estudo foi a obtenção de hidrolisado proteico da castanha de sapucaia para adição em produtos cárneos como antioxidante natural. A composição nutricional da castanha de sapucaia mostra um potencial nutritivo promissor pelo seu elevado teor de proteínas e lipídios. A torta de sapucaia também apresentou elevado percentual de proteína e alto teor de minerais como cálcio, ferro e magnésio. O óleo da sapucaia apresentou elevada composição de ácidos graxos insaturados, com destaque para o ácido oléico e linoléico. A melhor condição de hidrólise proteica da castanha de sapucaia com a utilização da enzima bromelina foi obtida com concentração enzimática de 1,0% (E/S) na temperatura de 60 °C por 120 min. O hidrolisado proteico mostrou ter capacidade antioxidante de inibir os radicais livres e, ainda, capacidade de redução do complexo férrico/ferroso e também a capacidade de retardar a oxidação lipídica identificada pelo método de TBAR's (substância reativa ao ácido tiobarbitúrico) e índice de peróxido. Quanto ao retardo da oxidação lipídica em modelos cárneos, os tratamentos contendo maior concentração do hidrolisado proteico (3 g de hidrolisado/ g de amostra) apresentou melhores resultados. A atividade antioxidante do hidrolisado obtido da castanha de sapucaia foi comprovada por testes de capacidade antioxidante, e também pela redução da oxidação lipídica, podendo assim atuar, como potencial aditivo natural na conservação de alimentos.

Palavras-chave: *Lecythis pisonis* Camb, hidrólise enzimática, estabilidade oxidativa, atividade antioxidante.

## ABSTRACT

Interest in the use of vegetable proteins and their derivatives by the food industry has grown in recent years, causing the use of edible seeds as a source of protein to increase significantly. In this sense, chestnuts have received special attention, as they are natural sources of vitamins, minerals, proteins and essential fatty acids, and can therefore contribute to the human diet. Therefore, the objective of this study was to obtain protein hydrolyzate from sapucaia nuts for addition to meat products as a natural antioxidant. The nutritional composition of sapucaia nuts shows promising nutritional potential due to its high protein and lipid content. The sapucaia pie also had a high percentage of protein and a high content of minerals such as calcium, iron and magnesium. Sapucaia oil had a high composition of unsaturated fatty acids, especially oleic and linoleic acid. The best condition for protein hydrolysis of sapucaia nuts using the bromelain enzyme was obtained with an enzyme concentration of 1.0% (E/S) at a temperature of 60 °C for 120 min. The protein hydrolyzate showed to have the antioxidant capacity to inhibit free radicals and also the ability to reduce the ferric/ferrous complex and also the ability to delay lipid oxidation identified by the TBAR's method (substance reactive to thiobarbituric acid) and peroxide index. Regarding the delay in lipid oxidation in meat models, treatments containing a higher concentration of protein hydrolyzate (3 g of hydrolyzate/g of sample) showed better results. The antioxidant activity of the hydrolyzate obtained from sapucaia nuts was proven by antioxidant capacity tests, and also by the reduction of lipid oxidation, thus being able to act as a potential natural additive in food preservation.

Keywords: *Lecythis pisonis* Camb, enzymatic hydrolysis, oxidative stability, antioxidant activity.



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1-</b> (A)-Ouriço da Castanha de sapucaia, (B)- Castanha de sapucaia com casca, (C)- Castanha de sapucaia sem casca. Fonte: Autora (2024).....	17
<b>Figura 2-</b> (2A)- Amostra de carne moída bovina acondicionada em bandejas de poliestireno revestidas com filme de policloreto de vinila (PVC), (2B)-Amostra de filé de tilápia moído acondicionado em bandejas de poliestireno revestidas com filme de policloreto de vinila(PVC), (2C)- amostras armazenadas em freezer horizontal a $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Fonte: Autora (2024). .....	34
<b>Figura 3.</b> Superfícies de resposta para a variável percentual de grau de hidrólise em função do Tempo x Concentração enzimática (A), Tempo x Temperatura (B), Concentração enzimática x Temperatura (C). .....	48
<b>Figura 4.</b> Superfícies de resposta para a variável percentual de sequestro de radicais livres (%SRL) em função do Tempo x Temperatura (A), Tempo x Concentração enzimática (B), Concentração enzimática x Temperatura (C). .....	51
<b>Figura 5.</b> Superfícies de resposta para a avaliação da atividade antioxidante utilizando o protocolo ABTS em função do Tempo e Temperatura (A), Concentração enzimática e Tempo (B), Concentração enzimática e Temperatura (C). .....	53
<b>Figura 6.</b> Superfícies de resposta para a avaliação da atividade antioxidante utilizando o protocolo FRAP em função do Tempo e Temperatura (A), Concentração enzimática e Tempo (B), Concentração enzimática e Temperatura (C). .....	55
<b>Figura 7.</b> Valores de pH de carne moída bovina com adição de diferentes concentrações de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia durante armazenamento sob refrigeração a $4^{\circ}\text{C}$ . .....	60
<b>Figura 8.</b> Valores de pH de carne moída de tilápia com adição de diferentes concentrações de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia durante armazenamento sob refrigeração a $4^{\circ}\text{C}$ . .....	61
<b>Figura 9.</b> Valores de índice de peróxido (mEq/kg) em carne bovina moída com adição de diferentes concentrações de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia durante armazenamento sob refrigeração a $4^{\circ}\text{C}$ . .....	62
<b>Figura 10.</b> Valores de índice de peróxido (mEq/kg) em carne de tilápia moída com adição de diferentes concentrações de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia durante armazenamento sob refrigeração a $4^{\circ}\text{C}$ . .....	63

<b>Figura 11.</b> Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em carne bovina moída com adição de diferentes concentrações de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia durante armazenamento sob refrigeração a 4°C.....	65
<b>Figura 12.</b> Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em carne moída de tilápia com adição de diferentes concentrações de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia durante armazenamento sob refrigeração a 4°.....	67
Figura 13. Estão representados graficamente os valores referentes as variáveis de cor L, a*, b*, croma e h* da carne moída bovina com adição de diferentes concentrações de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia.....	70
<b>Figura 14.</b> Fotografia das amostras da carne bovina moída com adição de diferentes concentrações de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia durante o período de armazenamento a 4°C.....	72
<b>Figura 15.</b> Estão representados os valores referentes as variáveis de cor L, a*, b*, croma e h* da carne de tilápia moída, com adição de diferentes concentrações de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia.....	75
<b>Figura 16.</b> Fotografias das amostras da carne de tilápia moída com adição de diferentes concentrações de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia durante o período de armazenamento a 4°C.....	77

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Fórmulas aplicadas para calcular a qualidade nutricional do óleo da castanha de sapucaia .....	29
<b>Tabela 2.</b> Valores codificados e valores reais dos ensaios para hidrólise enzimática da torta da castanha da sapucaia com utilização da enzima comercial bromelina. ....	31
<b>Tabela 3.</b> Composição nutricional da castanha e da torta de sapucaia. ....	37
<b>Tabela 4.</b> Perfil de minerais da torta da castanha de sapucaia. ....	40
<b>Tabela 5.</b> Composição de ácidos graxos da castanha de sapucaia. ....	41
<b>Tabela 6.</b> Índices baseados na qualidade nutricional do óleo da castanha de sapucaia. ....	43
<b>Tabela 7.</b> Atividade antioxidante dos extratos da torta da castanha de sapucaia utilizando os protocolos DPPH, ABTS, FRAP e TAC. ....	44
<b>Tabela 8.</b> Valores do percentual de grau de hidrólise obtidos após atividade da enzima bromelina sobre a torta da castanha de sapucaia. ....	46
<b>Tabela 9.</b> Análise de variância (ANOVA) das variáveis grau de hidrólise (GH%) e atividade antioxidante (DPPH, ABTS e FRAP) do hidrolisado proteico da castanha de sapucaia. ....	47
<b>Tabela 10.</b> Atividade antioxidante de hidrolisados da torta da castanha de sapucaia utilizando os protocolos DPPH, ABTS e FRAP. ....	49
<b>Tabela 11.</b> Análise de variância (ANOVA) para o %SRL de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia. ....	50
<b>Tabela 12.</b> Análise de variância (ANOVA) para avaliação da atividade antioxidante utilizando o protocolo ABTS de hidrolisado proteico de castanha de sapucaia com enzima bromelina. ....	52
<b>Tabela 13.</b> Análise de variância (ANOVA) para avaliação de atividade antioxidante utilizando o protocolo FRAP de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia com a enzima bromelina. ....	54
<b>Tabela 14.</b> Dados do rendimento da fração solúvel, fração insolúvel e fração mista do hidrolisado proteico da castanha de sapucaia. ....	56
<b>Tabela 15.</b> Composição nutricional das frações do hidrolisado proteico da torta de castanha de sapucaia. ....	57
<b>Tabela 16.</b> Atividade antioxidante dos extratos das frações do hidrolisado da torta da	

castanha de sapucaia utilizando os protocolos DPPH, ABTS, FRAP e TAC. ....58

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ABTS•+</b>	Radical Cátion 2,2'-Azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
<b>ANOVA.</b>	Análise de Variância
<b>ANVISA.</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>AOAC.</b>	Associação de Químicos Analíticos Oficiais
<b>DCCR.</b>	Delineamento de Composição Central Rotacional
<b>DPPH.</b>	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
<b>FAO.</b>	Food and Agriculture Organization of the United Nations
<b>Fe<sup>2+</sup>.</b>	Íon Ferroso
<b>Fe<sup>3+</sup>.</b>	Íon Férrico
<b>FRAP.</b>	Poder Antioxidante de Redução do Íon Férrico (Fe <sup>3+</sup> ) ( <i>Ferric Ion Reducing Antioxidant Power</i> )
<b>GH%.</b>	Grau de hidrólise
<b>GL.</b>	Graus de Liberdade
<b>IAL.</b>	Instituto Adolfo Lutz
<b>IDR.</b>	Ingestão Diária Recomendada
<b>OMS.</b>	Organização Mundial da Saúde
<b>PVC.</b>	Polímero Policloreto de Vinila
<b>QM:</b>	Quadrado Médio
<b>R•.</b>	Radical Livre
<b>R<sup>2</sup>.</b>	Coeficiente de Determinação
<b>SRL%.</b>	Sequestro de radicais livres
<b>TAC.</b>	Capacidade Antioxidante Total
<b>TBARS.</b>	Ácido Tiobarbitúrico
<b>Trolox.</b>	Ácido (±)-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromana-2-carboxílico

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>14</b>
2.1 Objetivo geral .....	14
2.2 Objetivos específicos .....	14
<b>3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....</b>	<b>15</b>
3.1 Bioma amazônico .....	15
3.2 Castanha de sapucaia ( <i>Lecythis pisonis</i> Cambess).....	16
3.3 Hidrolisado proteico .....	18
3.4 Compostos bioativos em alimentos .....	19
3.5 Peptídeos antioxidantes.....	20
3.6 Aditivos naturais .....	21
3.7 Oxidação lipídica .....	22
3.8 Matrizes alimentares com potencial para oxidação lipídica .....	24
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>27</b>
4.1 Obtenção da matéria-prima.....	27
4.2 Obtenção do óleo e da torta da castanha de sapucaia .....	27
4.3 Caracterização das matérias primas .....	28
4.3.1 Composição nutricional da castanha e da torta da castanha de sapucaia .....	28
4.3.2 Composição de minerais da torta da castanha de sapucaia.....	28
4.3.3 Determinação do perfil de ácidos graxos do óleo da castanha de sapucaia.....	28
4.3.4 Índices de qualidade nutricional .....	29
4.3.5 Determinação da capacidade antioxidante dos extratos da torta da castanha de sapucaia e das frações dos hidrolisados.....	29
4.4 Obtenção do hidrolisado proteico da torta da castanha de sapucaia.....	30
4.4.1 Otimização das Condições de Hidrólise Enzimática .....	30
4.4.2 Determinação do grau de hidrólise (%GH) .....	31
4.4.3 Capacidade antioxidante .....	32
4.5 Obtenção das frações do hidrolisado proteico da torta da castanha de sapucaia. .	32
4.5.1 Rendimento das frações do hidrolisado proteico da torta da castanha de sapucaia	32

4.5.2 Composição nutricional das frações do hidrolisado proteico da torta da castanha de sapucaia.....	33
4.5.3 Determinação da capacidade antioxidante das frações do hidrolisado proteico da torta da castanha de sapucaia .....	33
4.6 Aplicação do hidrolisado proteico como antioxidante natural em matrizes alimentar de carne bovina moída e filé de tilápia moído.....	33
4.7 Estabilidade oxidativa das matrizes alimentares carne bovina moída e filé de tilápia moído .....	34
4.7.1 Análise de reação ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) .....	34
4.7.2 Índice de peróxido .....	34
4.7.3 Determinação do pH .....	35
4.7.5 Análise colorimétrica.....	35
4.8 Delineamento estatístico .....	36
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>37</b>
5.1 Composição nutricional da castanha e da torta da castanha de sapucaia.....	37
5.1.2 Composição de minerais da torta da castanha de sapucaia.....	39
5.2 Perfil dos ácidos graxos do óleo da castanha de sapucaia .....	41
5.3 Otimização das condições de hidrólise enzimática para produção do hidrolisado da torta da castanha de sapucaia .....	46
5.4 Capacidade Antioxidante dos hidrolisados.....	49
5.5 Rendimento das frações dos hidrolisados.....	56
5.5.1 Análise da composição nutricional das frações do hidrolisado proteico da torta da castanha de sapucaia .....	57
5.6 Avaliação da estabilidade oxidativa das matrizes alimentares .....	59
5.6.1 Determinação do pH .....	59
5.6.3 Determinação do índice de peróxidos.....	62
5.6.4 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) .....	64
5.6.5 Análise colorimétrica das matrizes alimentares.....	68
5.6.6 Análise de cor da carne moída bovina com adição de diferentes concentrações de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia .....	68
5.6.7 Análise de cor na carne de filé de tilápia moída com adição de diferentes concentrações de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia .....	73
<b>6. CONCLUSÃO .....</b>	<b>79</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>80</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As sementes, nozes e castanhas comestíveis de plantas têm recebido atenção principalmente de pesquisadores, visto que são fontes naturais de vitaminas, minerais, proteínas e ácidos graxos essenciais, capazes de contribuir para a dieta humana, sendo valorizadas por suas características sensoriais podendo ser consumidas cruas ou torradas e utilizadas normalmente como lanches, aperitivo, em saladas ou em sobremesas (Chang *et al.*, 2018).

As castanhas de maior produção e comercialização mundial são castanhas de caju, nozes, pistache, avelã, noz pecan, macadâmia e castanha do Brasil (INC, 2017). No entanto, existem outras sementes comestíveis com características nutricionais semelhantes a elas, mas com classificação botânica diferente, como o amendoim, a amêndoa de baru e a castanha de sapucaia (Barboza *et al.*, 2019; Rodrigues *et al.*, 2022; Almeida *et al.*, 2022).

A sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess) é uma planta pertencente à família *Lecythidaceae* e originária da região Amazônica, podendo ser encontrada nos estados do Amazonas, Pará, Rondônia, Piauí, Pernambuco, Maranhão, Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Santa Catarina (Usda, 2017; Itto, 2018), e em países como Colômbia, Guiana, Peru e Suriname (Itto, 2018).

A castanha de sapucaia se mostra como uma excelente fonte de lipídeos, tendo uma concentração variando de 34,2 a 61,3%, e também apresenta em sua composição teores proteicos que podem variar entre 19,62 a 26,8% (Valillo *et al.*, 1998; Carvalho *et al.*, 2018).

As proteínas são importantes macronutrientes em alimentos, sendo fonte de aminoácidos, contribuindo para o crescimento e manutenção do corpo. Além disso, são responsáveis por várias propriedades físico-químicas e sensoriais dos alimentos, e podem atuar como ingredientes funcionais e promotores da saúde (Sánchez *et al.*, 2017).

Uma alternativa viável para a utilização de fontes proteicas consiste na obtenção de hidrolisados proteicos, já que os peptídeos bioativos derivados da hidrólise proteica representam uma nova oportunidade de aproveitamento de sementes comestíveis pouco exploradas (De Melo *et al.*, 2021).

De forma geral, os hidrolisados proteicos são produtos resultantes da quebra das cadeias de proteínas em ligações peptídicas menores e aminoácidos livres, podendo ser obtidos após hidrólise fermentativa, enzimática ou química, a partir de substratos naturais de origem animal ou vegetal (Hau *et al.*, 2021).

A hidrólise enzimática é o método mais utilizado para obtenção de hidrolisados proteicos, pois garante maior especificidade, produz peptídeos com massas moleculares



variáveis e utiliza condições moderadas de tratamento, sendo possível sua inativação após o uso, entretanto, as condições de reação como o tempo, a temperatura, o pH e a relação enzima/substrato devem ser otimizadas para cada enzima (Babji *et al.*, 2012).

A hidrólise enzimática tem sido utilizada para otimizar as propriedades físicas, químicas e funcionais dos alimentos, sem prejudicar seu valor nutritivo, melhorando, particularmente, as propriedades de solubilidade, dispersibilidade, formação de espuma e emulsificação (Oliveira *et al.*, 2014; Damodaran *et al.*, 2017).

Dentre as características alimentícias dos hidrolisados, podem ser citadas a fácil digestibilidade e elevada taxa de absorção pelo organismo, o fornecimento de funcionalidades biológicas capazes de desencadear impactos benéficos à saúde e sua aplicação tecno-funcional na formulação de outros produtos (Cai *et al.*, 2021).

Os hidrolisados proteicos têm sido incorporados nos alimentos, para obtenção de melhores propriedades nutricionais dos mesmos, visto que são compostos que podem ser usados como ingredientes funcionais ou nutricionais para alimentos de baixa eficiência proteica (Pereira *et al.*, 2019).

Com base na atividade biológica dos peptídeos, diversos estudos de pesquisa têm sido conduzidos para entender suas funções, utilizando ensaios reconhecidos pela literatura. Esses estudos estão associados à possível prevenção de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), tais como doenças cardiovasculares, certos tipos de câncer, diabetes Mellitus, Alzheimer, entre outras (Niknam *et al.*, 2022; Prevedello *et al.*, 2021; Oliveira *et al.*, 2022).

Os peptídeos bioativos também podem demonstrar propriedades antioxidantes, que ajudam a neutralizar as espécies reativas de oxigênio produzidas durante a respiração celular, auxiliando assim o corpo a lidar com o estresse oxidativo. Além disso, esses peptídeos têm sido associados a uma série de outros benefícios, como atividade antibiótica, redução dos níveis de colesterol no sangue, prevenção de coágulos sanguíneos, entre outros (Arihara *et al.*, 2021).

No entanto, é importante destacar que a capacidade de prevenir reações oxidativas não está limitada apenas aos antioxidantes naturais conhecidos. Os peptídeos resultantes da digestão de proteínas também podem exibir atividade antioxidante, utilizando os mesmos mecanismos observados em outros antioxidantes. No entanto, a exploração desses peptídeos antioxidantes requer tecnologias adicionais para liberar as sequências de aminoácidos ativos das proteínas, uma vez que as proteínas precursoras podem não apresentar o mesmo efeito antioxidante (Kieliszek *et al.*, 2021).

Deste modo, com a finalidade de retardar esses processos oxidativos, antioxidantes vem sendo utilizados como aditivos alimentares para garantir a qualidade dos produtos e,

principalmente, em alimentos com alto lipídico, para preservação do sabor, textura e a coloração do produto durante seu período de estocagem e armazenamento (Vieira *et al.*, 2021).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Otimizar a obtenção do hidrolisado proteico da torta da castanha de sapucaia e avaliar sua atuação como antioxidante em modelos cárneos.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Caracterizar a castanha e a torta da castanha de sapucaia quanto à composição nutricional;
- Avaliar o perfil de ácidos graxos da castanha de sapucaia;
- Avaliar o perfil de minerais da torta advinda da castanha de sapucaia;
- Avaliar a capacidade antioxidante da torta da castanha de sapucaia;
- Otimizar a produção do hidrolisado proteico da torta da castanha de sapucaia, considerando os fatores tempo, temperatura e concentração enzimática;
- Determinar o percentual de grau de hidrólise dos hidrolisados proteicos;
- Avaliar a capacidade antioxidante dos hidrolisados proteicos pelos protocolos de DPPH, FRAP e ABTS;
- Analisar as características físico-químicas e antioxidante do hidrolisado proteico obtido a partir das melhores condições de hidrólise;
- Aplicar o hidrolisado proteico em diferentes concentrações em matrizes alimentares e avaliar a estabilidade oxidativa durante 8 dias de armazenamento.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 Bioma amazônico

O Brasil possui uma vasta extensão territorial e uma diversidade de biomas, tornando-se uma das maiores reservas globais de espécies de plantas nativas ainda não catalogadas ou pouco estudadas (Demoliner *et al.*, 2018).

A flora brasileira, especialmente na Região Meio-Norte, também conhecida como Nordeste Ocidental, abriga espécies pouco conhecidas que frequentemente apresentam matéria-prima de alta qualidade e potencialidades diversas. O Cerrado, localizado no Nordeste, é a segunda maior reserva genética de espécies nativas, sendo a Amazônia a primeira (Carvalho *et al.*, 2018).

Com uma área de distribuição que abrange 9 estados brasileiros (Acre, Amapá, Pará, Roraima, Rondônia, Amazonas, Tocantins, Mato Grosso e parte do Maranhão), a região da Amazônia Legal representa aproximadamente 58,9% do território do Brasil, totalizando 5.015.067.749 km<sup>2</sup> (IBGE - GEOCIÊNCIAS, 2020). O bioma Amazônia, por sua vez, cobre cerca de 49,3% do território brasileiro, o que equivale a uma área de aproximadamente 4,2 milhões de km<sup>2</sup>. Esta região possui 11 mil km de fronteiras internacionais e 25 mil km de rios navegáveis (Silva, 2018)

A Amazônia é uma região de grande diversidade, composta por uma variedade de ecossistemas, incluindo florestas abertas e densas, várzeas, florestas estacionais, florestas de igapó, entre outros. Os diferentes tipos de florestas presentes na região estão associados às suas bacias hidrográficas, o que resulta em uma divisão entre florestas inundáveis (como várzea e igapó) e florestas de terra firme, o que pode influenciar na composição das árvores (Silva, 2018).

Há uma crescente conscientização global sobre o desmatamento na Amazônia, que tem levado à perda de parte de sua cobertura florestal. Isso tem gerado preocupações significativas em relação à perda de biodiversidade, alterações nos padrões hidrológicos e, conseqüentemente, mudanças climáticas (Machado *et al.*, 2017).

Por meio do extrativismo, em especial, as florestas, tem a possibilidade de contribuir para a produção de alimentos que chegam ao mercado consumidor. A floresta amazônica é responsável pela maior produção de castanhas no Brasil. Ao longo do tempo, o conhecimento

de sementes, castanhas e amêndoas permitiu o desenvolvimento da diversidade medicinal, ornamental e alimentar (Silva *et al.*, 2019).

Os benefícios para as populações locais estão relacionados ao manejo sustentável dos recursos florestais, à manutenção da estrutura e funcionalidade da floresta e, conseqüentemente, à conservação dos ecossistemas (Santos *et al.*, 2016)

Com maior diversidade nas Guianas e na Região Amazônica, com espécies endêmicas encontradas no bioma Mata Atlântica, as Lecythidaceae, com aproximadamente 17 gêneros e 300 espécies, tem uma distribuição pantropical. Apresenta cinco subfamílias: Foetidioideae, Planchonoideae, Napoleonaeoideae, Scytopetaloideae e Lecythidoideae. Presente na Bacia Amazônica, a família das Lecythidaceae, é composta pelas árvores produtoras das seguintes sementes: Sapucaia, Sapucaia-açu – (*Lecythis usitata* Miers = *L. pisonis* Cambess), Castanha-do-pará – (*Bertholletia excelsa* Bonpl.), e Churu – (*Goeldinia riparia* Huber. = *Allantoma lineata* (Mart. & O. Berg) Miers) (Pesce, 2009).

### **3.2 Castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess)**

A castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess) é uma espécie pertencente à família *Lecythidaceae* e originária da região Amazônica. É uma espécie que abrange os biomas Amazônia e Mata Atlântica (Lorenzi, 2002), podendo ser encontrada principalmente nos estados do Amazonas, Pará, Rondônia, Piauí, Pernambuco, Maranhão, Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Santa Catarina (USDA, 2017; ITTO, 2018). Além de ser encontrada no Brasil, também possui distribuição natural em países como Colômbia, Guiana, Peru e Suriname (ITTO, 2018).

A planta da sapucaia tem porte elevado, seus frutos são grandes, possuem formato arredondado ou achatado, casca muito dura, permanecem presos nos galhos das árvores e, quando amadurecem, caem no chão dentro de um ouriço (Figura 1A) com uma borda na abertura. A extremidade do ouriço se solta quando os frutos estão maduros, liberando as castanhas. Estas são comestíveis e muito saborosas, apresentando coloração marrom claro ou branca (Figura 1B e 1C). São normalmente consumidas cruas, podendo também ser consumidas cozidas ou torradas (Teixeira *et al.*, 2018). As castanhas de sapucaia possuem sabor bastante parecido com o das amêndoas de castanha-do-Brasil (Demoliner *et al.*, 2018).



**Figura 1.** A - Ouriço da Castanha de sapucaia, B - Castanha de sapucaia com casca, C - Castanha de sapucaia sem casca. Fonte: Autora (2024)

Na região da Amazônia, é possível encontrar e comprar essa espécie em feiras livres, porém, como muitas outras frutas da região, ainda não é totalmente aproveitada. No passado, essa fruta já foi exportada para países como Estados Unidos e Inglaterra, onde era usada na confeitaria e para extrair seu suco leitoso, semelhante ao leite de coco, em combinação com outros produtos (Rosatlm *et al.*, 2019).

Embora o preço que alcança pela exportação da castanha de sapucaia seja pouco superior que o da castanha-do-brasil, a sua exportação não é superior que poucos hectares por ano, sendo esse um dos motivos que a semente não é transformada em óleo, pois é considerada rara e cara (Lima *et al.*, 2022).

Embora atualmente seja encontrada em quase todo o país, sua disponibilidade é limitada. Vários motivos explicam essa escassez no consumo e na comercialização do fruto, incluindo a extinção das árvores devido à exploração madeireira, dificuldades na colheita (pois, ao contrário da Castanha do Brasil os frutos maduros se soltam de sua cúpula e caem no chão, precisando ser colhidos antes que os animais silvestres se alimentem deles, contribuindo também para a propagação da espécie ao dispersar as sementes (Cavalcantepb, 1972).

A castanha de sapucaia se mostra como uma excelente fonte de lipídeos, tendo uma concentração variando de 34,2 a 61,3%, também apresenta em sua composição teores proteicos que podem variar entre 19,62 a 26,8% sendo que esta faixa de variação pode ser explicada pela procedência dos frutos que diferem entre si, pela forma de plantio, tipo de solo, colheita e pós-colheita, dentre outras características que se modificam (Valillo *et al.*, 1998; Carvalho *et al* 2018). Eles também contêm compostos antioxidantes, incluindo compostos fenólicos ácidos tais como ácido vanílico, ácido ferúlico, flavonóides, ácido elágico, catequina, epicatequinaemiricetina (Demoliner *et al.*, 2018).

A partir da castanha, são produzidos o óleo e o extrato hidrossolúvel (leite de castanha), sendo que, ambos os processos geram uma quantidade elevada de resíduos conhecido por torta. Este co-produto apresenta grande valor nutricional, baseado em seus elevados valores em lipídios (49,95 a 27,42%), proteínas (24,16 a 27,12%), altas proporções de ácido linoleico, ácido oleico e concentrações notáveis de vários minerais, especialmente selênio (Kato *et al.*, 2016; Sartori *et al.*, 2020).

A literatura também indicam que a torta da castanha de sapucaia pode ser aproveitada para a produção de isolado proteico e hidrolisados utilizando a técnica de ultrassom de alta intensidade (Assumpção, 2023) Essas aplicações destacam a importância econômica global deste subproduto dentro do setor agroindustrial e da economia circular, visando a minimização de perdas e resíduos ao transformar esses subprodutos em insumos para novos ciclos (Foundation, 2019).

A castanha da sapucaia está entre os frutos nativos do Brasil que apresentam potencial promissor para industrialização e exportação, da mesma forma que ocorreu com a castanha do Pará. Uma das formas de incentivar o consumo de sua amêndoa é a oferta em maior escala de seus produtos derivados, óleo, como fonte de ácidos graxos essenciais, e a torta, esta como fonte de proteínas isentas de glúten (Lopes *et al.*, 2021).

### **3.3 Hidrolisado proteico**

A hidrólise proteica pode ocorrer por vários tipos de processos, tais como processo enzimático, térmico e químico. No entanto, a hidrólise térmica e/ou química não apresenta um padrão de quebra da proteína e produz peptídeos sem qualquer uniformidade e especificidade, não sendo possível atribuir efeitos biológicos como peptídeo bioativo (Ohara *et al.*, 2020).

A hidrólise enzimática é comumente a mais empregada devido à especificidade das enzimas na quebra das ligações peptídicas em aminoácidos específicos, fornecendo maior controle tanto no peso dos peptídeos, sequência e composição dos aminoácidos no produto final (Schmidt *et al.*, 2020).

Este é um método bem conhecido para aumentar o valor agregado de proteínas de alimentos, modificando suas propriedades físicas e nutricionais. Durante o processo de hidrólise enzimática, ocorre a quebra de ligações peptídicas, o que pode alterar as propriedades das proteínas de três maneiras: reduzindo o peso molecular, aumentando o número de grupos ionizáveis e causando a exposição de grupos hidrofóbicos (Razi *et al.*, 2023).

A hidrólise proteica consiste no rompimento das ligações peptídicas das proteínas, promovendo a liberação de peptídeos bioativos, que possuem geralmente de 2 a 20 resíduos de aminoácidos por molécula, facilitando sua digestibilidade e absorção (Evangelho *et al.*, 2016; Malomo *et al.*, 2020; Marçal *et al.*, 2021). Neste processo emprega-se o uso de enzimas comerciais derivadas de plantas, animais ou microrganismos (Toldrá *et al.*, 2020).

Dentre as enzimas comerciais mais utilizadas para produção de hidrolisados estão a papaína, bromelina e ficina de origem vegetal, a tripsina e quimotripsina de origem animal, a alcalase e a Protamex de origem microbiana. Tais enzimas caracterizam-se pelo potencial de desempenho e importância tecnológica devido à alta eficácia de hidrólise peptídica que elas possuem (Hau *et al.*, 2022).

A enzima bromelina consiste em uma única cadeia polipeptídica composta por 212 aminoácidos, organizados em dois domínios estruturais estabilizados por pontes dissulfeto e diversas pontes de hidrogênio (Soares *et al.*, 2012). Essa enzima mantém sua atividade biológica em uma faixa de temperatura entre 35°C e 60°C, apresentando atividade enzimática eficaz em diferentes faixas de pH, variando de 5 a 9. Sua temperatura de desnaturação está compreendida entre 70°C e 75°C (Abreu e Figueiredo, 2019).

Na indústria alimentícia, a bromelina é utilizada para amaciar carnes vermelhas ao quebrar as fibras do colágeno. Em produtos como pães e biscoitos feitos com farinhas de alto teor proteico, ela melhora a textura e o volume. Também é empregada na produção de ovos desidratados para evitar a formação de grumos e facilitar a reidratação, além de aumentar a solubilidade e a digestibilidade das proteínas no preparo de leite de soja e isolados proteicos. Na clarificação de cervejas, a bromelina atua na hidrólise de complexos proteína-taninos que causam turvação na bebida (Kaur e Gill, 2019; Nanda *et al.*, 2020; Xu *et al.*, 2022).

### **3.4 Compostos bioativos em alimentos**

O interesse dos consumidores na prevenção de problemas de saúde, o aumento do custo dos cuidados com a saúde, o aumento da expectativa de vida e o desejo por melhorar a qualidade de vida tem motivado a busca por alimentos com propriedades funcionais (Neves *et al.*, 2020).

Nesse contexto, os compostos bioativos atraem a atenção dos pesquisadores devido às suas propriedades funcionais, como atividade anti-inflamatória, antioxidante, antimicrobiana e anticancerígena (Da Costa *et al.*, 2020).



A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) define compostos bioativos com alegação de propriedade funcional e/ou de saúde como nutrientes e não nutrientes que possuem ação fisiológica ou metabólica específica e classifica esses compostos bioativos como carotenoides, flavonoides, fito esteróis, fosfolipídios, compostos organossulfurados, probióticos e poli fenóis (ANVISA, 2022).

Já no Japão, o Ministério da Saúde e Bem-estar, divide os compostos bioativos que se acredita ter propriedades funcionais, nos seguintes grupos: aminoácidos, fibras dietéticas, peptídicos e proteínas, oligossacarídeos, glicosídeos, isoprenos e vitaminas, bactérias ácido lácticas, ácidos graxos poli-insaturados, minerais e outros (antioxidantes e fitoquímicos) (Pereira *et al.*, 2020).

Muitos desses compostos bioativos estão sendo identificados e extraídos de diferentes fontes para sua aplicação em alimentos. Alguns exemplos de alimentos com adição de compostos bioativos são o suco de laranja com adição de ácidos graxos poli-insaturados encapsulados (Fernandes *et al.*, 2019), ácido linolênico (Nieuwenhove *et al.*, 2019), iogurte adicionado de vitamina D (Jafari *et al.*, 2019).

Bernardi (2024), observou que com a adição de hidrolisado proteico de castanha-do-Brasil, em biscoito de farinha de pupunha, que houve um aumento no teor proteico, e no teor de fibra, além do melhoramento das funções tecnológicas, como solubilidade, e capacidade de formação de espuma.

### 3.5 Peptídeos antioxidantes

Ultimamente, os pesquisadores têm se concentrado em peptídeos antioxidantes e seu papel importante nos produtos alimentares. De acordo com a Resolução n. 2, de 7 de janeiro de 2002, uma substância ativa biologicamente é uma substância que, além dos nutrientes, tem um determinado efeito metabólico ou fisiológico e pode ser de origem natural ou sintética, desde que comprovadamente segura para consumo humano (Santana *et al.*, 2022).

Os peptídeos são compostos formados pela união de dois ou mais aminoácidos e podem apresentar alguma atividade biológica, no entanto, para extraí-los, é necessário um processo, como o de hidrólise enzimática (Costa *et al.*, 2021).

Os antioxidantes são substâncias que reduzem ou previne a oxidação. Eles protegem o corpo contra espécies reativas de oxigênio que atacam biomoléculas que levam ao envelhecimento degenerativo, morbidades associadas, como diabetes, Alzheimer,

aterosclerose, etc. (Zarrabi *et al.*, 2024). Cisteína, lisina, histidina, metionina, triptofano e tirosina são todos eficazes como eliminadores de radicais e podem ser eficazes na proteção o corpo humano contra espécies reativas de oxigênio (Akbarian *et al.*, 2022).

Eles podem ser sintéticos ou naturais, porém para serem utilizados em fármacos, suplementos nutricionais ou alimentos, não podem representar algum perigo à saúde humana. Os antioxidantes podem atuar reduzindo os radicais livres (antioxidante primário) ou por um mecanismo que não envolve a redução direta dos radicais livres (antioxidante secundário) (De Souza *et al.*, 2019).

A importância dos antioxidantes é reconhecida pela Organização Mundial da Saúde desde o ano de 1990, a qual recomenda um aumento do consumo de fontes alimentares ricas em antioxidantes, sendo a ingestão alimentar a principal forma de aquisição desses compostos (WHO, 1990).

No entanto, a indústria alimentícia tem sido criticada pelo uso de antioxidantes sintéticos, como BHA (2,3-terc-butil-4-hidroxianisol) e BHT (2,6-diterc-butil-p-creso), cuja utilização tem sido restrita devido aos potenciais riscos à saúde, como danos as moléculas de proteínas e ao DNA (Wang *et al.*, 2012). Sendo assim, conseqüentemente, há um interesse em antioxidantes provenientes de fontes naturais, especificamente os peptídeos bioativos, que destacam-se pela formação estrutural simples podendo gerar maior estabilidade e apresentar propriedades funcionais como emulsificação e formação de espumas, além da capacidade em inibir a oxidação lipídica em alimentos, vantagens estas que se destacam frente a outros antioxidantes (López-García *et al.*, 2022).

Nas matrizes alimentares, os antioxidantes são moléculas que protegem macromoléculas, neutralizando o processo de oxidação, conseguindo fazê-lo de diferentes maneiras como, protegendo os lipídeos do contato com os precursores do processo oxidativo ou agindo como agentes que previnem a oxidação lipídica, paralisando a fase de propagação (Lidon *et al.*, 2007).

### **3.6 Aditivos naturais**

Diferentemente dos seres vivos, os alimentos sofrem uma decomposição permanente em suas qualidades, que pode ocorrer em períodos que variam de algumas horas a vários meses e até anos, quando estratégias apropriadas são aplicadas. Assim, a utilização de antioxidantes como aditivos alimentares tornou-se comum na indústria alimentícia (Das *et al.*, 2020).

No entanto, o aumento da conscientização sobre os riscos dos aditivos sintéticos para a saúde levou a indústria alimentar e os pesquisadores a buscar novas fontes de antioxidantes naturais. Além disso, há um crescente interesse na ingestão adequada de nutrientes e compostos bioativos, devido aos seus efeitos preventivos contra o desenvolvimento de doenças não transmissíveis, o que ressalta a importância de se obter e utilizar aditivos alimentares de origem natural, que também possuem atividade bioativa (Sorrenti *et al.*, 2023).

Nesse contexto, peptídeos antioxidantes têm sido investigados como possíveis aditivos alimentares em estudos de laboratório. No entanto, a avaliação de seu efeito em alimentos reais é limitada, o que dificulta a confirmação de sua eficácia como aditivos. Produtos cárneos, em particular, são propensos à oxidação lipídica e exigem proteção adicional contra substâncias reativas. Embora haja estudos contraditórios sobre a eficácia dos peptídeos antioxidantes, alguns pesquisadores exploraram o uso de culturas iniciadoras para liberar esses peptídeos das proteínas da carne e reduzir a oxidação em presuntos curados (Munekata *et al.*, 2022).

Resultados semelhantes foram observados em estudos que adicionaram culturas iniciadoras a salsichas curadas a seco, resultando em uma diminuição significativa da oxidação lipídica e um aumento geral do status antioxidante (Petrón *et al.*, 2021).

Além disso, uma pesquisa recente demonstrou a aplicação bem-sucedida de um peptídeo derivado da hemoglobina bovina, denominado TSKYR, em carne moída, resultando em inibição da oxidação lipídica comparável ao butilado, um antioxidante sintético (Chai *et al.*, 2020). Esses estudos reforçam o potencial dos peptídeos antioxidantes como aditivos alimentares, embora mais pesquisas sejam necessárias para entender completamente seu mecanismo de ação e eficácia em diversas matrizes alimentares.

### **3.7 Oxidação lipídica**

A oxidação lipídica é um processo bastante complexo, composto por múltiplos mecanismos que interagem entre si. Em termos simples, os ácidos graxos insaturados reagem com o oxigênio molecular por meio de radicais livres. Como resultado dessa reação, são formados hidroperóxidos, os quais representam os primeiros produtos da oxidação. Em contraste com outros produtos derivados de lipídios, os hidroperóxidos são inodoros e não contribuem com nenhum aroma. No entanto, estes compostos são altamente instáveis, pelo que se decompõem rapidamente, resultando num grande número de compostos secundários que incluem hidrocarbonetos, aldeídos, cetonas, álcoois, ésteres e ácidos (Grebenteuch *et al.*, 2021).

A oxidação lipídica envolve uma variedade de processos reativos que são altamente complexos e dependentes da estrutura dos lipídios e do ambiente em que se encontram. Além disso, fatores como o tipo e quantidade de insaturações presentes, a exposição à luz e ao calor, bem como a presença de pró-oxidantes metálicos ou antioxidantes, influenciam significativamente a estabilidade oxidativa dos lipídios (Tarapoulouzi *et al.*, 2022).

Os processos de oxidação podem se desencadear por diferentes vias, dependendo das condições ambientais e dos catalisadores envolvidos. Nos sistemas biológicos, os lipídios podem ser oxidados por meio de três principais mecanismos: Autooxidação, oxidação catalisada por enzimas e fotooxidação (Amaral *et al.*, 2018).

A autooxidação é um processo puramente químico e altamente complexo, que envolve reações radicais com capacidade de autogerar-se, dependendo do tipo de ação catalítica (como temperatura, pH, íons metálicos e radicais livres). Durante a sequência reacional, é possível distinguir três etapas da evolução oxidativa: a) a redução dos substratos de oxidação, como oxigênio e ácidos graxos; b) a formação de peróxidos e hidroperóxidos, que são os produtos primários da oxidação; e c) a formação de produtos secundários da oxidação, como aldeídos, álcoois e outros compostos voláteis e não voláteis (Mei *et al.*, 2022).

A oxidação enzimática é desencadeada pela atividade das lipoxigenases, que são enzimas responsáveis por catalisar a adição de oxigênio às cadeias hidrocarbonadas dos ácidos graxos. Isso resulta na formação de hidroperóxidos e peróxidos com ligações duplas conjugadas, os quais podem induzir várias reações degenerativas, resultando em uma variedade de produtos (Glišić *et al.*, 2024).

A fotooxidação é promovida essencialmente pela radiação ultravioleta em presença de sensibilizadores, como a mioglobina, por exemplo, e envolve a participação de reações radicalares, cujo resultado é a formação de hidroperóxidos diferentes dos observados na ausência de luz e sensibilizadores (Gómez & Lorenzo, 2012).

Em todos os processos de oxidação lipídica, é comum a presença de um radical livre que interage com a cadeia hidrocarbonada do ácido graxo, resultando na formação de um peróxido. Esse peróxido, por sua vez, reage com outra cadeia hidrocarbonada, removendo hidrogênios e gerando um hidroperóxido. A cadeia carbonada da qual os hidrogênios foram removidos atua como um novo peróxido, continuando assim o ciclo (Amaral *et al.*, 2018).

Os processos de oxidação podem ser controlados através de métodos alternativos, tais como embalagens que utilizam vácuo ou atmosfera modificada, além do emprego de substâncias antioxidantes (Sanfelice *et al.*, 2010).

Antioxidantes são compostos que, em quantidades menores que os substratos oxidáveis, retardam ou impedem a oxidação desses substratos, evitando a formação de compostos oxidantes (Halliwell *et al.*, 2015). A utilização desses aditivos é regulada por agências como a FAO (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura), FDA (Administração de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos) e, no Brasil, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), que estabelecem as substâncias permitidas e as concentrações aceitáveis para uso em alimentos.

A utilização de antioxidantes naturais em produtos cárneos vem sendo avaliada há anos com o objetivo de substituir ou, ao menos, minimizar o uso de aditivos sintéticos, e a oxidação lipídica, satisfazendo a demanda de consumidores ávidos por produtos de características naturais (De Smet *et al.*, 2016; Beriain *et al.*, 2018; Garrido *et al.*, 2011; Maqsood *et al.*, 2011).

### **3.8 Matrizes alimentares com potencial para oxidação lipídica**

Os alimentos estão sujeitos a influências externas como luz, variações de temperatura, atividade microbiana e exposição ao ar, o que pode resultar em alterações em suas características e composição. A oxidação é o processo natural responsável por essas mudanças, levando à formação de compostos potencialmente prejudiciais que afetam a qualidade nutricional e sensorial dos alimentos. Isso representa um grande desafio econômico para a indústria alimentar (Domínguez *et al.*, 2018; Saleh *et al.*, 2023).

A composição dos alimentos desempenha um papel crucial no processo de oxidação. Especificamente em relação aos lipídios, há uma correlação entre o grau de insaturação das gorduras e sua susceptibilidade à oxidação. Alimentos com maior proporção de lipídios insaturados são mais propensos a esse processo devido às ligações duplas entre átomos de carbono, que são mais instáveis e permitem uma maior reação com moléculas de oxigênio, resultando em maior oxidação (Zeb *et al.*, 2020).

A oxidação lipídica acarreta consequências como a destruição de ácidos graxos essenciais (como o ácido linoleico e linolênico) e vitaminas lipossolúveis, além da redução do valor calórico dos alimentos e o desenvolvimento de rancidez, que produz aromas indesejáveis, altera a coloração e compromete o sabor. Como resultado, a vida útil dos alimentos é significativamente reduzida (Saleh *et al.*, 2023).

O interesse da indústria em relação ao pescado vem sendo despertado à medida que o perfil do consumidor passa por mudanças, juntamente com a demanda de produtos alimentícios provenientes da pesca que cresce a cada dia. A tilapicultura no ano de 2018 representava 40% da despesca nacional, contudo, em 2023 os valores chegaram a 60% do total produzido pela piscicultura (IBGE, 2023).

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é a espécie de tilápia mais cultivada em todo o mundo, sua distribuição mundial ocorreu durante os anos 1940 e 1980, sendo que no Brasil foi introduzida no ano de 1971 (FAO, 2008). Essa espécie possui facilidade de adaptação, rápido desenvolvimento, reprodução rápida em cativeiro, facilidade no seu manejo com tolerância as mais diversas condições ambientais, resistência a estresse e a diversas doenças, grande rusticidade, além de sua carne ser de ótima qualidade e de grande aceitabilidade (Mattje, 2018).

Entretanto, devido à sua composição química específica (incluindo potencial de íons hidrogênio, atividade da água, nutrientes, estrutura muscular delicada e tecido conjuntivo menos firme), foi observado que o pescado tende a se contaminar e deteriorar mais rapidamente do que as carnes de aves e mamíferos (Carvalho Filho, 2009).

Após ser retirado da água, o peixe passa por uma série de mudanças bioquímicas que levam à sua deterioração. Estas mudanças começam com a ação autolítica de enzimas musculares, que degradam proteínas e gorduras, seguidas pela ação de microrganismos, que causam alterações químicas e físicas profundas resultando em odor e sabor desagradáveis (SILVA, 2015).

A carne bovina é uma fonte valiosa de nutrientes essenciais, incluindo proteínas de alta qualidade, lipídios, vitaminas e minerais necessários para o bom funcionamento do corpo. A carne é especialmente rica em nutrientes como ferro, vitamina B12 e ácido fólico, os quais são encontrados em quantidades limitadas em outros alimentos (Madhu *et al.*, 2022).

Os lipídeos representam uma parte significativa da composição da carne bovina. A carne comum contém aproximadamente 30% de gordura, enquanto a carne magra tem cerca de 23%, e a extramagra chega a 17%. Essa gordura consiste principalmente em ácidos graxos saturados (SFAs) e ácidos graxos monoinsaturados (MUFAs), com uma pequena proporção de ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) e ácidos graxos trans (Horakova *et al.*, 2023).

A quantidade de gordura na carne pode variar conforme o tipo de músculo, tecido, espécie animal e método de produção, o que pode influenciar suas características nutricionais, sensoriais e tecnológicas. Além disso, a proporção de ácidos graxos influencia as propriedades

físicas e a textura, assim como a estabilidade e sua tendência à oxidação, o que impacta na cor, sabor, suculência e tonalidade muscular (Henchion *et al.*, 2021).

Devido às suas características nutricionais, sua elevada atividade de água e pH próximo ao da neutralidade, a carne é um alimento de fácil deterioração química, enzimática e microbiana. O armazenamento sob refrigeração ou congelamento, são os principais procedimentos para aumentar a validade comercial desse tipo de produto, principalmente para transportes de longas distâncias, a fim de garantir sua vida de prateleira por um longo período de tempo. Porém, durante o armazenamento refrigerado, ocorrem alterações químicas, sofridas por lipídeos e proteínas. Tais alterações são conhecidas como oxidação lipídica. Verifica-se a formação de hidrocarbonetos, aldeídos e cetonas, que são compostos responsáveis pelo off-flavour e descoloração da carne, impactando assim de forma negativa na qualidade do produto (Chen *et al.*, 2018).

Um dos tipos de carne mais consumido pela população é a carne moída, pois o consumidor atual prefere alimentos de rápido e fácil preparo, nutritivos e saborosos e esse produto atende a essas expectativas, porém deve-se atentar em relação à carga de contaminação microbiana que pode estar presente no momento da compra, pois a excessiva manipulação da carne moída e seu fracionamento com maior exposição de área de contato favorece a contaminação patogênica diminuindo a qualidade microbiológica do produto (Pardi *et al.*, 2021; Mantilla, 2006; Antunes, 2016)

A principal estratégia adotada pela indústria da carne para evitar a oxidação dos lipídios é incluir antioxidantes nos produtos cárneos. Contudo, a demanda crescente por produtos naturais entre os consumidores tem restringido o uso de antioxidantes sintéticos permitidos atualmente, o que limita as opções disponíveis para os fabricantes (Barden *et al.*, 2018; Cunha *et al.*, 2018; Pateiro *et al.*, 2018).

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Obtenção da matéria-prima**

As castanhas de sapucaia foram obtidas na fazenda São Bento, no município de São Francisco do Braço localizado no estado do Maranhão. As castanhas foram acondicionadas em caixas de papelão e encaminhadas para o Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Tocantins, sendo posteriormente selecionadas considerando a ausência de podridões e de injúrias mecânicas. Após seleção, as castanhas foram lavadas em água corrente e sanitizadas com hipoclorito de sódio, com concentração de 100 mg.L<sup>-1</sup> por 15 minutos e em seguida foram enxaguadas e deixadas sobre superfície limpa para secagem. Sequencialmente as castanhas foram quebradas e submetidas à secagem em estufa com circulação de ar à 50 ± 2°C por 24 horas até a retirada da umidade.

### **4.2 Obtenção do óleo e da torta da castanha de sapucaia**

Para a obtenção da torta, as castanhas de sapucaia foram trituradas em liquidificador e posteriormente envolvidas por tecido 100% poliamida e acondicionadas em cilindro de aço inoxidável vazado posicionado em prensa hidráulica digital elétrica 100T I-3025-B da marca Conteco, previamente higienizada. Sobre a farinha envolvida pelo tecido, foi realizada a pressão até atingir 15 toneladas, que foi mantida constante até a eliminação do óleo. Tal procedimento foi repetido com 17 toneladas até o esgotamento da escoagem de óleo originado da matéria-prima.

A torta obtida, foi acondicionada em recipiente de vidro hermeticamente fechado e armazenado sob refrigeração em freezer doméstico até o momento das análises. O óleo extraído no processo de prensagem foi armazenado em frasco âmbar ao abrigo da luz à temperatura ambiente.



### **4.3 Caracterização das matérias primas**

#### **4.3.1 Composição nutricional da castanha e da torta da castanha de sapucaia**

Todas as análises descritas a seguir foram realizadas conforme Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2012) e Instituto Adolfo Lutz (2008). O teor de umidade foi determinado pelo método de secagem em estufa a 105°C, até peso constante, já o teor de cinzas foi realizado pelo método gravimétrico de incineração em mufla a 550°C (AOAC, 2012). Para a determinação do teor de lipídios totais utilizou-se o extrator Soxhlet e o solvente hexano, já o teor proteína total foi determinado pelo método de Kjeldahl (AOAC, 2012). A fibra bruta foi analisada conforme metodologia oficial do Instituto Adolfo Lutz (2008) e o teor de carboidratos foi obtido por diferença dos demais nutrientes (AOAC, 2012).

#### **4.3.2 Composição de minerais da torta da castanha de sapucaia**

Para a determinação dos minerais adotou-se a metodologia descrita por Silva (1999). A amostra da torta da castanha de sapucaia foi submetida à digestão úmida em solução composta por ácido nítrico e ácido perclórico na proporção HNO<sub>3</sub>: HClO<sub>4</sub> (3:1 v/v). Para a determinação dos minerais Ferro (Fe), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Zinco (Zn), Cobre (Cu) e Fósforo (P) construiu-se uma curva padrão conforme Silva (1999) e os resultados foram expressos em mg/100g<sup>-1</sup>.

#### **4.3.3 Determinação do perfil de ácidos graxos do óleo da castanha de sapucaia**

O conteúdo total de ácidos graxos da castanha de sapucaia foi determinado por cromatografia em fase gasosa usando um cromatógrafo de marca Thermo Fisher CG (série 12550060) e uma coluna TR-FAME 120 m x 0,25 mm. Em relação as condições cromatográficas, a temperatura do injetor foi de 225°C, e do detector de 285°C. A temperatura da coluna foi inicialmente ajustada para 100 °C (isoterma), e mantida nessa temperatura por 4 minutos, posteriormente aumentada a 240°C em velocidade de 3°C/minuto (AOCS, 2005).

#### 4.3.4 Índices de qualidade nutricional

Os índices aplicados para calcular a qualidade nutricional das amostras estão detalhadas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Fórmulas aplicadas para calcular a qualidade nutricional do óleo da castanha de sapucaia

Índice	Fórmula	Referência
IA	$[(C12:0 + (4 \times C14:0) + C16:0)] / (\sum AGMI + \sum \omega 6 + \sum \omega 3)$	Ulbricht; Southgate (1991)
IT	$(C14:0 + C16:0 + C18:0) / [(0,5 \times \sum AGMI) + (0,5 \times \sum \omega 6) + (3 \times \sum \omega 3) + (\sum \omega 3 / \sum \omega 6)]$	
P/S	$\sum AGP / \sum AGS$	DHSS (1984)
h/H	$(C18:1 \text{ cis-9} + C18:1 \text{ trans-15} + \omega\text{-6} + \omega\text{-3}) / (C12:0 + C14:0 + C16:0)$	Santos-Silva <i>et al.</i> (2002)
$\omega 6/\omega 3$	$\sum \omega 6 / \sum \omega 3$	Sobotka <i>et al.</i> (2008)

IA: índices de aterogenicidade; IT: índice de trombogenicidade; P/S: Relação AGP e AGS; h/H: razão entre AG hipocolesterolêmicos / AG hipercolesterolêmicos;  $\omega 6/\omega 3$ : razão entre os  $\omega 6/\omega 3$ . Fonte: Autora (2024)

#### 4.3.5 Determinação da capacidade antioxidante dos extratos da torta da castanha de sapucaia e das frações dos hidrolisados

A obtenção dos extratos para determinação da capacidade antioxidante da torta da sapucaia, seguiu a metodologia proposta por Rufino *et al.* (2027) onde foram utilizados diferentes solventes na extração (Solução de álcool metílico a 50%, Solução de acetona a 70% e Solução controle de álcool metílico, acetona e água) para se verificar a influência dos solventes na capacidade antioxidante. Inicialmente pesou-se 5 g de amostra, e adicionou-se 80 ml do solvente, homogeneizou-se e manteve ao abrigo da luz por uma hora à temperatura ambiente ( $27 \pm 2^\circ\text{C}$ ). O extrato foi então filtrado e transferido para um balão volumétrico, e armazenados em frascos âmbar.

Para determinar a atividade antioxidante pelo protocolo do DPPH, utilizou-se a metodologia proposta por Rufino *et al.* (2007), com algumas modificações, analisando-se a capacidade do sequestro do radical DPPH de cada um dos ensaios. Após uma hora de reação e em ambiente escuro, a leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro à 515 nm. Os dados de atividade antioxidante obtidos, foram expressos em porcentagem de sequestro de radicais livres (SRL%), através da Equação 1:

$$SRL (\%) = \frac{[(Abscontrole - Absamostra) \times 100]}{Abscontrole}$$

A avaliação da atividade antioxidante quanto ao poder de redução do ferro, foi medida de acordo com Rufino *et al.* (2006). Os resultados foram expressos em  $\mu\text{M}$  de sulfato ferroso/g de amostra, enquanto a capacidade de redução do radical ABTS+ foi realizada segundo a metodologia proposta por Rufino *et al.* (2007b) e os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol}$  de Trolox/g de amostra.

A capacidade antioxidante total (TAC) foi determinada conforme descrito por De Castro *et al.* (2017). Uma alíquota de 0,1 mL das amostras ( $20 \text{ mg mL}^{-1}$ ) foi transferido para tubos Eppendorf e misturado com 1,0 mL de solução reagente. O reagente foi composto por ácido sulfúrico (600 mmol/L), fosfato de sódio monobásico (28 mmol/L) e molibdato de amônio (4 mmol/L). Os tubos foram incubados a  $90^{\circ}\text{C}$  por 90 min. Depois de esfriar até temperatura ambiente, foram realizadas as leituras de cada amostra em espectrofotômetro a absorvância foi medida a 695 nm. Um branco foi constituído com 1,0 ml da solução reagente, acrescentada a 0,1 de metanol. A curva de calibração foi elaborada com ácido ascórbico. A atividade antioxidante foi expressa em relação ao (%) de ácido ascórbico.

#### **4.4 Obtenção do hidrolisado proteico da torta da castanha de sapucaia**

##### **4.4.1 Otimização das Condições de Hidrólise Enzimática**

O processo de hidrólise com a enzima comercial bromelina foi realizado após a determinação do teor de proteína da torta da castanha da sapucaia. A torta foi posteriormente pesada e adicionada em tubo falcon, onde foi homogeneizada com água destilada na proporção 1:10 (sólidos/mL de água), em seguida adicionou-se a enzima após o ajuste da temperatura na proporção proteína da enzima/proteína do substrato. Para a otimização da produção do hidrolisado proteico foi adotado um delineamento estatístico de Composição Central Rotacional (DCCR), os quais todos os parâmetros avaliados estão descritos na Tabela 2.

**Tabela 2.** Valores codificados e valores reais dos ensaios para hidrólise enzimática da torta da castanha da sapucaia com utilização da enzima comercial bromelina.

Ensaio	Tempo ( min)		Temperatura °C		E/S (%)	
	Cod		Real	Cod	Real	
1	-1	40	-1	35	-1	0,5
2	+1	120	-1	35	-1	0,5
3	-1	40	+1	60	-1	0,5
4	+1	120	+1	60	-1	0,5
5	-1	40	-1	35	+1	1,0
6	+1	120	-1	35	+1	1,0
7	-1	40	+1	60	+1	1,0
8	+1	120	+1	60	+1	1,0
9	0	80	0	47,5	0	0,75
10	0	80	0	47,5	0	0,75
11	0	80	0	47,5	0	0,75

[E]:[S] % = Relação enzima: substrato (g de proteína/g de proteína). Fonte: Autora (2024)

Ao início da hidrólise foi realizado o ajuste da temperatura, adicionada a enzima e realizado o controle do tempo da reação. Ao término da reação, a enzima foi inativada em temperatura de 90°C por 15 minutos, a fração solúvel foi separada da fração insolúvel por centrifugação a 12.000 rpm por 10 minutos.

#### 4.4.2 Determinação do grau de hidrólise (%GH)

Para a determinação do grau de hidrólise adotou-se metodologia proposta por Church *et al.* (1983). A reação de derivatização foi realizada de acordo com o método proposto por Spellman *et al.* (2003) e a leitura da absorbância foi realizada a 340 nm.

#### **4.4.3 Capacidade antioxidante**

A capacidade antioxidante (DPPH, FRAP, ABTS e TAC) foi avaliada de acordo com os procedimentos metodológicos descritos no item 4.3.5, utilizando os solventes metanol e água, para obtenção dos extratos.

#### **4.5 Obtenção das frações do hidrolisado proteico da torta da castanha de sapucaia.**

Após determinação do percentual de grau de hidrólise e da capacidade antioxidante dos hidrolisados, procedeu-se com a seleção do ensaio para a obtenção das frações do hidrolisado. As frações do hidrolisado foram submetidas à secagem em estufa com circulação forçada de ar à 60° C por 18 horas, moídas, peneiradas e acondicionadas em embalagens laminadas, fechada para posteriormente serem analisadas quanto à sua qualidade nutricional e capacidade antioxidante.

##### **4.5.1 Rendimento das frações do hidrolisado proteico da torta da castanha de sapucaia**

Para realizar o cálculo da proporção de rendimento dos hidrolisados proteicos da torta da castanha de sapucaia, utilizou-se o seguinte cálculo:

$$Rendimento (\%) = \frac{\text{Peso final (g)}}{\text{Peso inicial (g)}} \times 100$$

Onde o peso inicial refere-se à massa da torta desengordurada de castanha de sapucaia utilizada como substrato para a hidrólise enzimática e o peso final, a quantidade de amostra (g) obtida ao final do processo de elaboração dos hidrolisados proteicos.

#### **4.5.2 Composição nutricional das frações do hidrolisado proteico da torta da castanha de sapucaia**

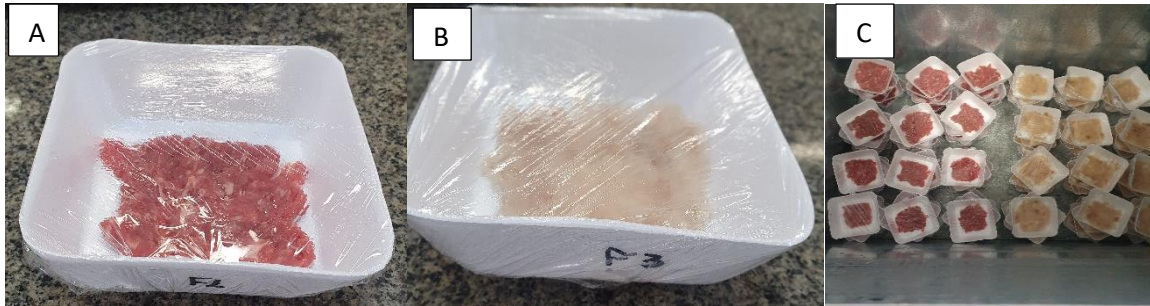
A caracterização nutricional das frações do hidrolisado proteico foi realizada conforme descrito no item 3.3.1.

#### **4.5.3 Determinação da capacidade antioxidante das frações do hidrolisado proteico da torta da castanha de sapucaia**

A capacidade antioxidante (DPPH, FRAP, ABTS e TAC) foi avaliada de acordo com os procedimentos metodológicos descritos no item 4.3.5

#### **4.6 Aplicação do hidrolisado proteico como antioxidante natural em matrizes alimentar de carne bovina moída e filé de tilápia moído**

O hidrolisado proteico obtido foi adicionado e homogeneizado diretamente na carne bovina moída e no filé de tilápia moído, nas quantidades de 1, 2 e 3 mg/g da matriz alimentar, para posterior avaliação de sua capacidade como antioxidante natural. Uma amostra de cada matriz sem adição de hidrolisado foi utilizada como controle. Em seguida da adição, as amostras foram colocadas em bandejas de poliestireno e revestidas com filme de policloreto de vinila (PVC), armazenadas a  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$  em freezer horizontal, conforme demonstrado na figura 2A, 2B e 2C.



**Figura 2-** 2A - Amostra de carne moída bovina acondicionada em bandejas de poliestireno revestidas com filme de policloreto de vinila (PVC), 2B - Amostra de filé de tilápia moído acondicionado em bandejas de poliestireno revestidas com filme de policloreto de vinila(PVC), 2C - Amostras armazenadas em freezer horizontal a  $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Fonte: Autora (2024).

#### **4.7 Estabilidade oxidativa das matrizes alimentares carne bovina moída e filé de tilápia moído**

A estabilidade oxidativa das amostras de carne moída bovina e filé de tilápia moído foram determinadas pelos ensaios de TBARS, índice de peróxido, acidez titulável, pH, e análise colorimétrica, nos tempos de 0, 2, 4, 6 e 8 dias de armazenamento refrigerado a  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

##### **4.7.1 Análise de reação ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)**

A análise de TBARS foi realizada de acordo com o método descrito por Heath e Packer (1968) com modificações, realizando-se a leitura dos extratos em espectrofotômetro a 532 nm e os resultados expressos pela quantidade de malonaldeído (MDA) por quilo (Kg) na amostra, utilizando-se da curva padrão de 1,1,3,3-tetrazoxipropano (TEP).

##### **4.7.2 Índice de peróxido**

A oxidação lipídica determinada pelo índice de peróxido foi executada de acordo com a metodologia descrita pela American Oil Chemists Society (AOCS, 1990) citada por IAL (2008). Os resultados encontrados foram expressos em miliequivalentes de peróxido em 1000 g de amostra através da aplicação da seguinte fórmula:

$$\text{Índice de Peróxido} = \frac{(A - B) \times N \times f \times 1000}{P}$$

Onde,

A = n° de mL da solução de tiosulfato de sódio 0,1 (ou 0,01 N) gasto na titulação da amostra;

B = n° de mL da solução de tiosulfato de sódio 0,1 (ou 0,01 N) gasto na titulação do branco;

N = normalidade da solução de tiosulfato de sódio;

f = fator da solução de tiosulfato de sódio;

P = n° de g da amostra.

#### **4.7.3 Determinação do pH**

A determinação do pH das amostras com diferentes concentrações de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia foi realizada com a utilização de pHmetro de bancada previamente calibrado (IAL, 2008).

#### **4.7.5 Análise colorimétrica das matrizes alimentares**

Os parâmetros instrumentais de cor foram determinados utilizando um colorímetro (Konica Minolta, CR 410), e os resultados expressos utilizando-se a escala CIELAB: L \*, a\*, b \*, croma (C \*) e ângulo hue (° h). Onde foram medidos 6 pontos diferentes em cada amostra, para elaboração das médias, utilizadas no tratamento estatístico.



#### 4.8 Delineamento estatístico

Os dados da composição nutricional foram obtidos a partir de três repetições e os resultados expressos em média e desvio padrão. Para a produção do hidrolisado proteico da torta da castanha de sapucaia foi adotado um Delineamento Central de Composto Rotacional (DCCR), e os dados obtidos foram submetidos ao teste estatístico F, utilizando a Análise de Variância para determinar o nível de significância entre as amostras. Para esta análise estatística foi utilizado o software estatístico STATISTICA 13.0. Para análise do efeito antioxidante do hidrolisado proteico aplicado nas matrizes alimentares adotou-se um delineamento inteiramente casualizado com esquema fatorial 3x5, sendo que o primeiro fator se refere às três concentrações do hidrolisado (1, 2 e 3 mg/g) e o segundo fator se refere aos cinco tempos de armazenamento (0, 2, 4, 6, e 8 dias) com três repetições. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e para comparação das médias adotou-se o teste de tukey a 5% de significância utilizando o programa SISVAR (FERREIRA, 2011).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Composição nutricional da castanha e da torta da castanha de sapucaia

Na tabela 3 podem ser observados os resultados obtidos para a composição nutricional da castanha e da torta de sapucaia.

**Tabela 3.** Composição nutricional da castanha e da torta de sapucaia.

Componentes (%)	Porções do fruto	
	Integral	Torta da sapucaia
Umidade	23,2 ± 1,50	22,5 ± 0,80
Cinzas	3,9 ± 0,07	4,7 ± 0,01
Lipídeos	40,1 ± 0,94	36,2 ± 0,68
Proteínas	22,3 ± 0,40	24,6 ± 0,38
Fibra bruta	2,4 ± 0,38	3,13 ± 0,50
Carboidratos	8,1 ± 0,11	8,87 ± 1,54

Dados reportados como média ± desvio padrão. Fonte: Autora (2024).

De acordo com os resultados apresentados na tabela 3, observou-se que a castanha de sapucaia apresentou um valor médio de umidade de 23,2%, enquanto a torta apresentou um valor médio de 22,5%. A umidade tanto da castanha integral quanto da torta foram considerados altos, visto que, de acordo com o recomendado pelo Codex Alimentarius (CAC/IPC, 2005) a umidade das castanhas após a coleta deve ser reduzida até um limite de segurança, que conforme preconizado pelo Programa de Alimentos Seguros (PAS, 2004), a castanha é considerada segura quando apresenta teores de umidade abaixo de 13%. Sendo assim, este alto teor de umidade pode ser um fator prejudicial ao armazenamento tanto da castanha quanto da torta da castanha de sapucaia, já que o teor de umidade é um parâmetro fundamental em alimentos, pois está relacionado com a sua estabilidade e qualidade composicional (Duarte *et al.*, 2017).

Pighinelli *et al.* (2019) também afirmam que a umidade tem um efeito significativo e negativo sobre o processo de prensagem e que menores valores de umidade exerce um efeito benéfico na obtenção da torta, no entanto, a matriz do alimento também pode influenciar nos resultados.

No que se refere ao teor de cinzas, a castanha de sapucaia apresentou uma média de 3,85g/100g de amostra, enquanto a torta apresentou um valor médio de 4,7g/100g, sendo esses valores próximo ao encontrado por Carvalho (2021) para castanha de sapucaia, e superior aos encontrados por Lima *et al.* (2014) (2,50%) e Melo *et al.* (1998) (2,52%) para castanha-de-caju e dos valores citados por USDA (2007) para macadâmia (1,14%), noz-pecã (1,49%), avelã (2,29%) e noz-moscada (2,34%), sendo um indicativo de que a castanha de sapucaia é rica em minerais e apresenta valor nutricional, e conseqüentemente gera segurança alimentar para o consumo

A quantidade de cinzas em alimentos está relacionada aos resíduos inorgânicos deixados após a queima da matéria orgânica em altas temperaturas (500-600°C) em forno chamado mufla. Esses resíduos minerais incluem elementos como sódio, potássio, magnésio, cálcio, ferro, fósforo, cobre, cloreto, alumínio, zinco, manganês e outros compostos minerais (Zambiasi *et al.*, 2018).

De acordo com Demoliner *et al.* (2020) fatores ambientais, composição do solo, localização, período de colheita e fatores genéticos podem interferir nos resultados da composição nutricional da castanha de sapucaia.

Com relação ao teor de lipídios na torta, observou-se que este percentual ainda foi elevado mesmo após a prensagem (36,2%), o que pode estar associado à extração à frio e também ao teor elevado de umidade da castanha, uma vez que a eficiência de extração é afetada pela umidade da amostra (Rabadán *et al.*, 2017).

A prensagem não é um processo de remoção completa do óleo da matriz e, algumas matérias-primas que apresentam teores de umidade elevados não obtiveram o mesmo desempenho na prensagem, com altos teores residuais de óleo na torta (Magalhães *et al.*, 2018).

A eficiência da prensagem a frio de amêndoas pode variar dependendo de diversos fatores, incluindo o equipamento utilizado, a qualidade das amêndoas e as condições específicas de processamento. No entanto, em geral, a prensagem a frio é considerada menos eficiente na extração de óleo em comparação com métodos que envolvem o uso de calor ou solventes, e isso ocorre devido à maior viscosidade do óleo de amêndoas e à dificuldade em quebrar as células vegetais para liberar o óleo sem o uso de calor (Kugler *et al.*, 2023).

Os valores médios obtidos para o teor de proteína das amostras da castanha e da torta da sapucaia foram de 22,3 e 24,6%, respectivamente. Esse resultado mostra que a torta e a castanha de sapucaia é uma rica fonte desse macronutriente essencial para a manutenção de uma dieta balanceada, podendo ser utilizada para o enriquecimento proteico em preparações

diversas. Demoliner *et al.* (2019) encontraram um teor de proteína na castanha de sapucaia maior (26,78%) que na castanha-do-pará (14,3%) e na castanha de caju (18,2%).

Denadai (2009), ao fazer a caracterização da castanha de sapucaia quanto ao teor de aminoácidos presentes em sua composição encontraram elevados teores de fenilalanina (106,6 mg/g), lisina (82,1 mg/g), metionina (89,6 mg/g) e valina (62 mg/g).

A ingestão diária recomendada (IDR) de proteínas para adultos é de 50 g, e para ser considerado um alimento de alto conteúdo proteico deve apresentar um teor de no mínimo 10 % do valor diário de proteínas para cada 100 g de alimento, de acordo com RDC nº429 de 8 de outubro de 2020, logo tanto a castanha da sapucaia quanto a torta podem ser consideradas um alimento de alto conteúdo proteico (BRASIL, 2020).

De acordo com os valores encontrados para os teores de fibra bruta, observou-se que a castanha de sapucaia apresentou um valor médios de 2,4% e a torta 3,13%. Segundo a instrução normativa, IN nº 75, de 08 de outubro de 2020 quando um alimento apresenta a cada 100 gramas, 3 gramas de fibra alimentar ou 2,5 gramas por porção, ele é considerado uma fonte de fibra.

A castanha de sapucaia apresenta baixos teores de fibras quando consideramos a recomendação dietética de no mínimo 25 g/dia, no entanto, podem ser consideradas como fonte suplementar de fibras alimentares (Meira *et al.*, 2021).

Quanto ao teor de carboidratos observou-se que a castanha apresentou um valor médio de 8,1% e a torta 8,87%, indicando que a castanha e sua torta contém um alto valor de carboidratos, pois conforme consta na RDC nº429 de 8 de outubro de 2020 (BRASIL, 2020), alimentos que possuem valores de até 5 g de açúcares /100 g do alimento são considerados com baixo teor de açúcares.

### **5.1.2 Composição de minerais da torta da castanha de sapucaia.**

A composição do perfil de minerais da torta da castanha de sapucaia está descrita na Tabela 4.

De acordo com os resultados obtidos na composição mineral, a torta da castanha de sapucaia apresenta elevados valores de cálcio (Ca) (194,1 mg/100 g<sup>-1</sup>), quando comparada com as principais amêndoas disponíveis no mercado, como macadâmia (40-85 mg/100 g<sup>-1</sup>), avelã (144-155 mg/100 g<sup>-1</sup>), pistache (103-115 mg/100 g<sup>-1</sup>) e castanha-do-brasil (160 - 172 mg/100

$\text{g}^{-1}$ ) (Lopes *et al.*, 2021; Magalhães *et al.*, 2018; Hashimoto *et al.*, 2019).

**Tabela 4.** Perfil de minerais da torta da castanha de sapucaia.

<b>Minerais</b>	<b>Quantidade (mg/100g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Valores de Referência (mcg* ou mg/dia)</b>
Cálcio	194,1	1000
Magnésio	252,6	260
Zinco	2,4	7
Cobre	2,1	900*
Ferro	6,4	14
Fósforo	162,1	700

Fonte: Autora (2024).

O cálcio é um mineral presente em quantidades consideráveis no organismo humano e sua importância está relacionada à saúde óssea e à prevenção da osteoporose (Demoliner, 2019). A ingestão do Ca está ligada a diversas funções no organismo, como auxílio no relaxamento e contração dos músculos, saúde do sistema imunológico, coagulação sanguínea, regulação da pressão arterial e saúde dos ossos e dentes (Minighin *et al.*, 2019).

Quanto ao teor de magnésio foi encontrado um valor de 252,6 mg/100 g<sup>-1</sup>. O magnésio desempenha um papel fundamental na ativação de mais de 300 sistemas enzimáticos, sendo necessário para a formação de proteína, contração muscular, saúde do sistema imunológico e transmissão nervosa (Gharibzahedi *et al.*, 2017). No entanto, nos últimos anos, tem havido uma diminuição no consumo de magnésio, o que tem sido atribuído ao aumento do consumo de alimentos processados, ricos em calorias e pobres em micronutrientes (Demoliner, 2019).

Em relação aos teores de zinco (Zn) e cobre (Cu), a castanha de sapucaia apresentou valores de 2,4 e 2,1 mg/100 g<sup>-1</sup>, respectivamente. O Zinco e o cobre são minerais essenciais em quantidades mínimas para diversas funções fisiológicas. O zinco desempenha um papel importante no funcionamento adequado do sistema imunológico e atua como sinalizador iônico em várias células (Wani *et al.*, 2017), já o cobre é um co-fator essencial e um componente estrutural de várias enzimas importantes envolvidas em reações redox (Scheiber *et al.*, 2014).

Os teores de ferro (6,4 mg/100g<sup>-1</sup>) e fósforo (162,1mg/100g<sup>-1</sup>), encontrados no presente estudo, foram menores, comparados aos resultados encontrados por Lopes (2021), em castanhas de sapucaia. A falta de ferro é considerada como uma das deficiências de micronutrientes mais

comuns no mundo, afeta mais de 30% da população mundial, principalmente mulheres e crianças (Pinheiro *et al.*, 2020)

## 5.2 Perfil dos ácidos graxos do óleo da castanha de sapucaia

O perfil de ácidos graxos do óleo da castanha de sapucaia revelou elevado teor de ácidos graxos insaturados, totalizando 34,87% de ácidos graxos monoinsaturados e 40,18% de ácidos graxos poli-insaturados (Tabela 05). Entre os monoinsaturados, destaca-se o ácido oléico, presente em 34,76% dos lipídios da amostra, e entre os poliinsaturados, o ácido linoléico predomina com 39,81% do total de lipídios (Tabela 05).

O ácido oleico é um dos ácidos graxos insaturados altamente valiosos na dieta humana, isso se deve principalmente aos baixos níveis de saturação e efeitos preventivos sobre doenças cardiovasculares e potencial para diminuir colesterol sérico, já o ácido graxo linoléico tem como principal função auxiliar no crescimento e manutenção do corpo (Mrabet *et al.*, 2020).

**Tabela 5.** Composição de ácidos graxos da castanha de sapucaia.

Ácidos graxos	Resultado (%)
<b>Ácidos graxos saturados (AGS)</b>	
Ácido Butírico (C4:00)	<0,0003
Ácido Capróico (C6:0)	0,04
Ácido Caprílico (C8:0)	0,11
Ácido Cáprico (C10:0)	0,44
Ácido Undecanóico (C11:0)	0,01
Ácido Láurico (C12:0)	3,21
Ácido Tridecanóico (C13:0)	<0,0003
Ácido Mirístico (C14:0)	0,23
Ácido Pentadecanóico (C15:0)	0,01
Ácido Palmítico (C16:0)	12,89
Ácido Esteárico (C18:0)	7,45
Ácido Araquídico (C20:0)	0,09
Ácido Heneicosanóico (C21:0)	0
Ácido Behênico (C22:0)	0,01
Ácido Tricosanóico (C23:0)	0,01
Ácido Lignocérico (C24:0)	0,05
Ácido Margárico (C17:0)	0,01
<b>Σ AGS</b>	<b>24,56</b>
<b>Ácidos graxos monoinsaturados (AGM)</b>	
Ácido Oleico (C18:1n9c)	34,76
Ácido Erúcico (C22:1n9)	<0,0003
Ácido Cis-11-Eicosenóico (C20:1n9)	0,1
Ácido cis-10-Ácido Heptadecenóico (C17:1)	<0,0003
Ácido Miristoleico (C14:1)	<0,0003
Ácido Nervonico (C24:1n9)	<0,0003
Ácido Palmitoleico (C16:1n7)	0,01
<b>Σ AGMI</b>	<b>34,87</b>

<b>Ácidos graxos poliinsaturados (AGPI)</b>	
Ácido AraquidônicoAA (C20:4n6)	<0,0003
Ácido cis-8,11,14-Eicosatrienóico	<0,0003
Ácido cis-11,14- Eicosadienóico (C20:2)	<0,0003
Ácido cis-11,14,17-Eicosatrienóico	<0,0003
Ácido 5,8,11,14,17- EPA (C20:5n3)	<0,0003
Ácido Gama-Linolênico GLA (C18:3n6)w6	<0,0003
Ácido cis-13,16-Docosadienóico (C22:2) AGP	<0,0003
Ácido Linoleico LA (C18:2n6c) AGP	39,81
Ácido Docosahexaenóico DHA(C22:6n3)	<0,0003
Ácido Alfa LinolenicoLNA (C18:3n3)w3	0,37
$\Sigma$ <b>Ômega 3</b>	0,37
$\Sigma$ <b>Ômega 6</b>	39,81
$\Sigma$ <b>AGPI</b>	40,18
$\Sigma$ <b>Ácidos graxos insaturadas (AGI)</b>	
<b>(AGMI + AGPI)</b>	75,05
<hr/>	
<b>Ácidos graxos trans</b>	
Ácido Elaidico (C18:1n9t)	<0,0003
Ácido Linolelaídico (C18:2n6t)	<0,0003
$\Sigma$ <b>Ácidos graxos trans</b>	<0,0003

Fonte: Autora (2024).

Entre os ácidos graxos saturados, os ácidos palmítico e esteárico foram os principais ácidos graxos encontrados na castanha de sapucaia (12,89 e 7,45%, respectivamente), esses resultados foram próximos aos relatados por Teixeira *et al.* (2018) que encontraram os ácidos graxos saturados ácido palmítico (13,95 %) e ácido esteárico (5,45%) como componente principal no óleo da castanha de sapucaia.

O óleo da castanha de sapucaia apresentou 3,21% de ácido láurico e 0,23% de ácido mirístico. Barreto (2020) afirmou que o ácido láurico desempenha um papel crucial no fortalecimento do sistema imunológico dos recém-nascidos, ao promover a liberação de IL-2, que está associada à estimulação da medula óssea para produzir mais linfócitos, o que é benéfico para pacientes com problemas de imunidade. Já o ácido mirístico está presente em pequenas quantidades nos alimentos, sendo mais abundante em óleo de coco e na gordura do leite. Este ácido graxo apresenta maior efeito sobre o aumento dos níveis de colesterol no sangue, sendo incorporado nos triglicerídeos celulares (Rioux *et al.*, 2000; Lottenberg, 2009).

No entanto, é importante ressaltar que, apesar de suas propriedades anti-inflamatórias, o alto consumo de ácido láurico na dieta pode aumentar o risco de desenvolvimento de doença arterial coronariana, devido ao fato de ser um ácido graxo saturado (Valente *et al.*, 2020).

Os ácidos graxos mono e poliinsaturados desempenham um papel importante na saúde, pois ajudam a reduzir as frações de Lipoproteína de Baixa Densidade (LDL) e Lipoproteína de Muito Baixa Densidade (VLDL), que são parcialmente responsáveis pelo aumento do colesterol

no sangue. Alguns estudos confirmam o efeito positivo do consumo de sementes comestíveis na melhoria do perfil lipídico do sangue (USLU *et al.*, 2019; Choy-Lye Chei, *et al.*, 2018).

Os ácidos graxos constituintes e os índices de qualidade de lipídios revelam o potencial de qualidade funcional de determinados alimentos, ou seja, a função de promover a saúde ou prevenir doenças. Baixos níveis de índice de aterogenicidade (AI) e índice de trombogenicidade (IT) indicam boa composição nutricional e qualidade funcional, ajudando a reduzir os riscos de doenças cardiovasculares (Sant'ana *et al.*, 2019).

O óleo obtido da castanha de sapucaia apresentou um índice de aterogenicidade de 0,22 e um índice de trombogenicidade de 0,98 (tabela 6), esses valores foram superiores aos encontrados por Dos Santos (2019), que registraram um valor de IA de 0,21 e de IT de 61 para óleos de castanhas de sapucaia, advindos da extração sólido-liquido (Tabela 06)

**Tabela 6.** Índices baseados na qualidade nutricional do óleo da castanha de sapucaia.

Índice aterogenicidade (AI)	0,22
índice de trombogenicidade (IT)	0,98
hH: razão entre AG hipocolesterolêmicos / AG hipercolesterolêmicos;	2,45
P/S: Relação AGP e AGS	1,79
$\omega 6/\omega 3$ : razão entre os $\omega 6/\omega 3$ .	4,4

Fonte: Autora (2024)

A relação dos ácidos graxos hipocolesterolêmicos/Hipercolesterolêmicos (h/H) apresentou o valor de 2,67. Matos *et al.* (2019) afirmaram que quanto maior o valor da relação, melhor é a porção de ácidos mono e poli-insaturados, o qual é benéfico para a promoção da saúde humana.

O valor encontrado para a relação ácidos graxos poliinsaturados /saturados foi de 1,79. A razão entre os ácidos graxos poliinsaturados e saturados (P/S) é muito utilizada pela indústria de alimentos, e os alimentos que apresentam resultado da razão P/S inferior a 0,45 são considerados pela FAO/OMS (2010) como pouco desejáveis na dieta humana, devido ao seu potencial para induzir aumentos no colesterol sanguíneo.

Atualmente, tem-se voltado a atenção sobre a proporção no consumo de  $\omega 6$  e  $\omega 3$ , e recomenda-se uma baixa proporção entre esses ácidos graxos para a obtenção de benefícios à saúde humana (Dinicolantonio *et al.*, 2018). O óleo da castanha de sapucaia obteve o valor de 4,4 na razão  $\omega 6$  e  $\omega 3$ , sendo este valor inferior ao recomendado por Sobotka *et al.* (2008) de 5.1 para a relação  $\omega 6/\omega 3$ .



Martin *et al.* (2006), avaliaram a razão  $\omega 6/\omega 3$  em alguns alimentos, e obtiveram o maior índice no milho in natura (32,5), seguido pela aveia (22), soja (7,5), ervilha (4,9), arroz (4,8), lentilha (3,7) e com a menor razão  $\omega 6/\omega 3$ , o feijão (0,7). Os mesmos autores obtiveram no salmão a relação  $\omega 6/\omega 3$  de 0,08, e na sardinha de 2,4.

Na tabela 7 estão expressos os valores médios para atividade antioxidante dos extratos da torta de castanha de sapucaia, considerando a extração com diferentes solventes, sendo CE o extrato obtido pela extração com álcool etílico 80%, CA extração com água destilada, CAC extração com água + acetona 70% e CM extração com metanol 50%.

**Tabela 7.** Capacidade antioxidante dos extratos da torta da castanha de sapucaia utilizando os protocolos DPPH, ABTS, FRAP e TAC.

Amostras	DPPH (%SRL)	FRAP ( $\mu$ M de sulfato ferroso/g de amostra)	ABTS ( $\mu$ M de trolox/g de amostra)	TAC ( $\mu$ gEAA/g de amostra)
CE	5,30 $\pm$ 1,29 <sup>b</sup>	34,44 $\pm$ 0,0 <sup>c</sup>	12,71 $\pm$ 0,02 <sup>c</sup>	8222,43 $\pm$ 1,4 <sup>b</sup>
CA	10,24 $\pm$ 0,77 <sup>ab</sup>	31,74 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>	10,75 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>	2242,98 $\pm$ 1,8 <sup>d</sup>
CAC	14,35 $\pm$ 2,71 <sup>a</sup>	38,97 $\pm$ 0,0 <sup>b</sup>	13,86 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	9378,94 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>
CM	17,09 $\pm$ 1,42 <sup>a</sup>	58,92 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	15,14 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	8054,38 $\pm$ 0,9 <sup>c</sup>

CE: extrato obtido com álcool etílico (80%); CA: extrato obtido com água destilada; CAC: extrato obtido com água destilada + acetona (70%); CM: extrato obtido com metanol. Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ( $p \leq 0,05$ ). Resultados expressos em média e  $\pm$  desvio padrão. Fonte: Autora (2024).

De acordo com a tabela 7 para os valores médios do percentual de sequestro do radical DPPH observou-se que o extrato utilizando álcool etílico como solução extratora, diferiu estatisticamente ( $p < 0,05$ ) dos tratamentos CAC e CM.

Os melhores resultados obtidos para o sequestro de radical DPPH foram encontrados nos extratos CA, CAC e CM com valores médios variando de 10,24% a 17,09% respectivamente.

Lima *et al.* (2023) observaram em seu estudo utilizando diferentes soluções extratoras na obtenção de compostos bioativos em cereais, que o metanol apresentou os melhores resultados em comparação aos outros solventes. Observou que a água apresentou efeito sinérgico com os demais solventes, sendo o maior efeito observado com a interação água + acetona, corroborando os resultados obtidos no presente estudo.

Ao avaliar a atividade antioxidante pelo protocolo FRAP observou-se que todos diferiram estatisticamente ( $p < 0,05$ ), o maior valor médio encontrado foi para o tratamento CM (58,92  $\mu\text{M}$  de sulfato ferroso/g de amostra) enquanto o menor o menor valor foi obtido pelo tratamento CA (31,74 $\mu\text{M}$  de sulfato ferroso/g de amostra).

Segundo Santos-Sánchez *et al.* (2019) o uso de diferentes solventes influencia o poder redutor da amostra analisada, sendo que a eficiência antioxidante determinada pelo método FRAP depende do potencial redox dos compostos analisados, caracterizado pela complexidade de suas moléculas.

Os resultados da atividade antioxidante pelo ensaio ABTS+ são expressos em valor de TEAC (capacidade antioxidante total do composto equivalente ao Trolox), que é definido como a concentração de  $\mu\text{M}$  trolox/ g de fruta. Assim, quanto maior for o valor de TEAC, mais forte é o potencial antioxidante (Lima *et al.*, 2014).

De acordo com a tabela 7 a atividade antioxidante mensurada pelo protocolo ABTS observa-se que houve diferença entre todos os tratamentos, com variação de médias entre 10,75  $\mu\text{M}$  de trolox/g (tratamento CA) a 15,14  $\mu\text{M}$  de trolox/g (tratamento CM) o extrato utilizando metanol como solvente apresentou o melhor resultado.

De acordo com Pérez-Jiménez *et al.* (2006), as variações na capacidade antioxidante podem ser mais pronunciadas ao se utilizar diferentes solventes na extração, especialmente quando se analisa alimentos. Isso ocorre devido à complexidade da matriz alimentar e diferentes componentes presentes nos alimentos, que podem interagir de maneiras diversas tanto entre si quanto com os solventes. Além disso, os autores observaram diferenças significativas na atividade antioxidante medida pelo método ABTS, sendo influenciadas pela polaridade e pelo pH do solvente utilizado, sendo que, os valores são geralmente mais altos em solventes com maior polaridade e em pH mais elevados.

Pastrana-Bonilla *et al.* (2003), observaram que os melhores resultados para capacidade antioxidante utilizando o protocolo ABTS foram obtidos utilizando extratos metanólicos (80% em 6 N HCl) ao avaliar sementes de uva de diferentes variedades.

Em relação a capacidade antioxidante total (TAC) dos extratos, pode-se observar que houve diferença estatística entre todos os tratamentos, diferente dos demais protocolos analisados, para TAC os melhores resultados encontrados foram para o tratamento CAC (9378,94  $\mu\text{gEAA/g}$  de amostra), o que pode estar relacionado a interação da solução extratora, com os reagentes da TAC.

### 5.3 Otimização das condições de hidrólise enzimática para produção do hidrolisado da torta da castanha de sapucaia

A tabela 8 apresenta os valores obtidos para a variável dependente grau de hidrólise (GH%).

**Tabela 8.** Valores do percentual de grau de hidrólise obtidos após atividade da enzima bromelina sobre a torta da castanha de sapucaia.

Ensaio	Tempo (min)	Temperatura °C	E/S (%)	GH (%)
1	40	35	0,5	20,01
2	120	35	0,5	60,12
3	40	60	0,5	46,74
4	120	60	0,5	54,81
5	40	35	1,0	62,01
6	120	35	1,0	62,72
7	40	60	1,0	65,18
8	120	60	1,0	70,80
9	80	47,5	0,75	45,23
10	80	47,5	0,75	49,02
11	80	47,5	0,75	40,71

Fonte: Autora (2024).

Como observado na Tabela 8, os valores do percentual de grau de hidrólise obtidos nos ensaios do DCCR variaram entre 20,01% e 70,80%.

Dentre os ensaios de hidrólise da torta da castanha de sapucaia com a enzima bromelina, o ensaio de número 8 (E/S: 1,0%; Temperatura: 60 C°; Tempo de hidrólise: 120 minutos), foi o que apresentou melhor desempenho, com grau de hidrólise de 70,80%.

Nikhita e Sachindra (2021) observaram que tanto a temperatura quanto a concentração enzimática exercem uma influência marcante no percentual de grau de hidrólise, destacando que a enzima bromelina apresenta seu desempenho maior a uma temperatura de 60°C, o que corrobora com os resultados observados no presente estudo.

A tabela 9 apresenta a análise de variância (ANOVA) para a variável grau de hidrólise dos hidrolisados proteicos de torta da castanha de sapucaia.

**Tabela 9.** Análise de variância da variável grau de hidrólise (GH%) do hidrolisado proteico da castanha de sapucaia.

<b>Fator</b>	<b>SS</b>	<b>df</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>(1) Tempo</b>	363,59*	1*	363,596*	21,005*	0,04445*
<b>(2) Temperatura</b>	222,33	1	222,3333	12,84477	0,069800
<b>(3) Concentração enzimática</b>	35,449	1	35,4495	2,04801	0,288713
<b>1 e 2</b>	435,56*	1*	435,5676*	25,163*	0,03751*
<b>1 e 3</b>	456,70*	1*	456,702*	26,384*	0,03587*
<b>2 e 3</b>	227,662	1	227,6622	13,15264	0,068330
<b>Falta de ajuste</b>	428,522	2	214,2608	12,37840	0,074747
<b>Erro Puro</b>	34,618	2	17,3092		
<b>Total SS</b>	2204,451	10			
<b>R<sup>2</sup></b>	0,78				

Coefficientes com \* são significativos  $p \leq 0,05$  Fonte: Autora (2024).

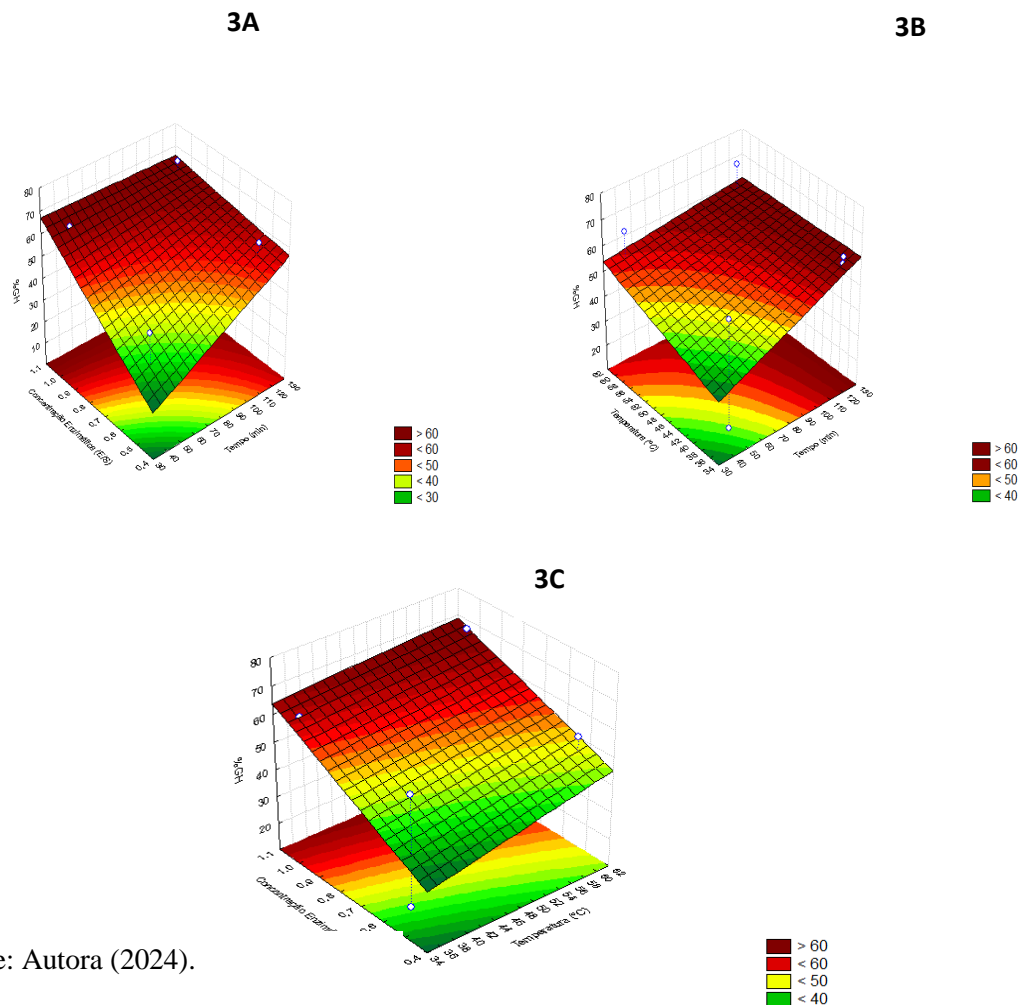
Pela análise de variância, verifica-se que a variável tempo influenciou significativamente no resultado da hidrólise enzimática. Noman *et al.*, (2022) analisaram a influência de variáveis como tempo, temperatura, pH e concentração enzimática, na obtenção de hidrolisados de esturjão chinês através da enzima bromelina, observando que o tempo de reação influenciou diretamente no grau de hidrólise.

Noman *et al.*, (2022) utilizando um tempo de hidrólise que variou de 0,25 - 8h, relataram que um tempo de hidrólise longo permite que a enzima bromelina atue mais extensivamente sobre a proteína, resultando em um incremento no grau de hidrólise, mas que ao prolongar o tempo de reação além de 8h, não ocorreu aumento significativo no grau de hidrólise e que com base nos resultados obtidos o tempo de 6h foi escolhido como o tempo de reação adequado.

Também foi possível observar na tabela 9 um coeficiente de determinação de  $R^2=0,78$ , indicando que o modelo adotado explica 78% de variância da variável dependente a partir das variáveis independentes incluídas no modelo. É sabido que quanto mais próximo de 1, mais o modelo consegue ajustar o conjunto de dados ao modelo estatístico proposto e prever de maneira correta os dados analisados.

Com os dados obtidos, as superfícies de resposta foram construídas para evidenciar a análise dos efeitos, permitindo visualizar as variações do %GH em função das variáveis independentes (Figura 3).

**Figura 3.** Superfícies de resposta para a variável percentual de grau de hidrólise em função do Tempo x Concentração enzimática (A), Tempo x Temperatura (B), Concentração enzimática x Temperatura (C).



Fonte: Autora (2024).

As figuras 3A e 3B apresentam as relações entre o tempo com as variáveis concentração enzimática e temperatura, sendo possível observar que os maiores valores do percentual de grau de hidrólise foram obtidos quando hidrolisados por maior tempo.

Na figura 3B é possível observar que para a interação tempo x temperatura, maiores valores de tempo também contribuiriam para um aumento nos valores de %GH.

Resultados semelhantes foram relatados por Cruz (2014), que encontrou maiores %GH nas amostras submetidas a maior tempo de hidrólise ao avaliar a obtenção de hidrolisados da semente de cupuaçu utilizando a enzima alcalase, sendo o mesmo efeito também comprovado por Madruga (2018), o qual obteve para semente de chia um valor de GH de 30%, quando submetida ao tempo de 2 horas de hidrólise e por Uraipong *et al.* (2015) no processo hidrolítico com farelo de arroz que observaram que com 1 h de hidrólise foi gerado um %GH inferior a 10% e com o tempo de 4 horas um % de GH de 28%.

A figura 3C mostra que maiores valores de %GH foram obtidos com maiores concentrações enzimáticas independente da temperatura de hidrólise, no entanto, Saidi *et al.* (2016) estudaram a otimização dos parâmetros pH, temperatura, razão E:S e tempo na hidrólise enzimática de atum utilizando a enzima bromelina e encontraram efeito significativo para todos os parâmetros avaliados, e a variável que mostrou efeito mais significativo foi a temperatura do processo hidrolítico. Já Goswami *et al.* (2022) analisaram os efeitos da otimização da produção de hidrolisados de cogumelos, e observaram o efeito significativo da temperatura e do tempo no grau de hidrólise.

#### 5.4 Capacidade Antioxidante dos hidrolisados

De acordo com os resultados apresentados na tabela 10 observa-se que para a variável %SRL houve uma variação de 7,73% (ensaio 2) a 21,05% (ensaio 8). Globalmente, verifica-se que os ensaios com maior capacidade antioxidante são os ensaios em que é usada uma maior concentração enzima/substrato (1%), nomeadamente o 5, 6, 7 e 8.

**Tabela 10.** Capacidade antioxidante de hidrolisados da torta da castanha de sapucaia utilizando os protocolos DPPH, ABTS e FRAP.

Ensaio	Tempo (min)	Temperatura °C	E/S (%)	%SRL	ABTS (µM de trolox /g de amostra)	FRAP (µM de sulfato ferroso/g de amostra)
1	40	35	0,5	7,73	8,16	9,43
2	120	35	0,5	10,12	10,03	10,27
3	40	60	0,5	10,9	4,22	6,88
4	120	60	0,5	12,21	8,72	9,68
5	40	35	1,0	19,33	8,56	6,66
6	120	35	1,0	19,98	9,49	8,32
7	40	60	1,0	20,78	9,01	9,87
8	120	60	1,0	21,05	12,30	12,35
9	80	47,5	0,75	14,00	11,23	8,62
10	80	47,5	0,75	13,00	11,48	8,14
11	80	47,5	0,75	13,50	11,05	8,23

Fonte: Autora (2024).

Segundo Pereira (2017), a capacidade antioxidante de hidrolisados depende de diversos fatores como, massa molecular dos peptídeos liberados durante a hidrólise, sua composição aminoacídica e hidrofobicidade, bem como as condições empregadas na hidrólise.

A tabela 11 apresenta a análise de variância (ANOVA) para a variável %SRL de hidrolisado proteico obtido a partir da torta da castanha de sapucaia.

**Tabela 11.** Análise de variância (ANOVA) para o %SRL de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia.

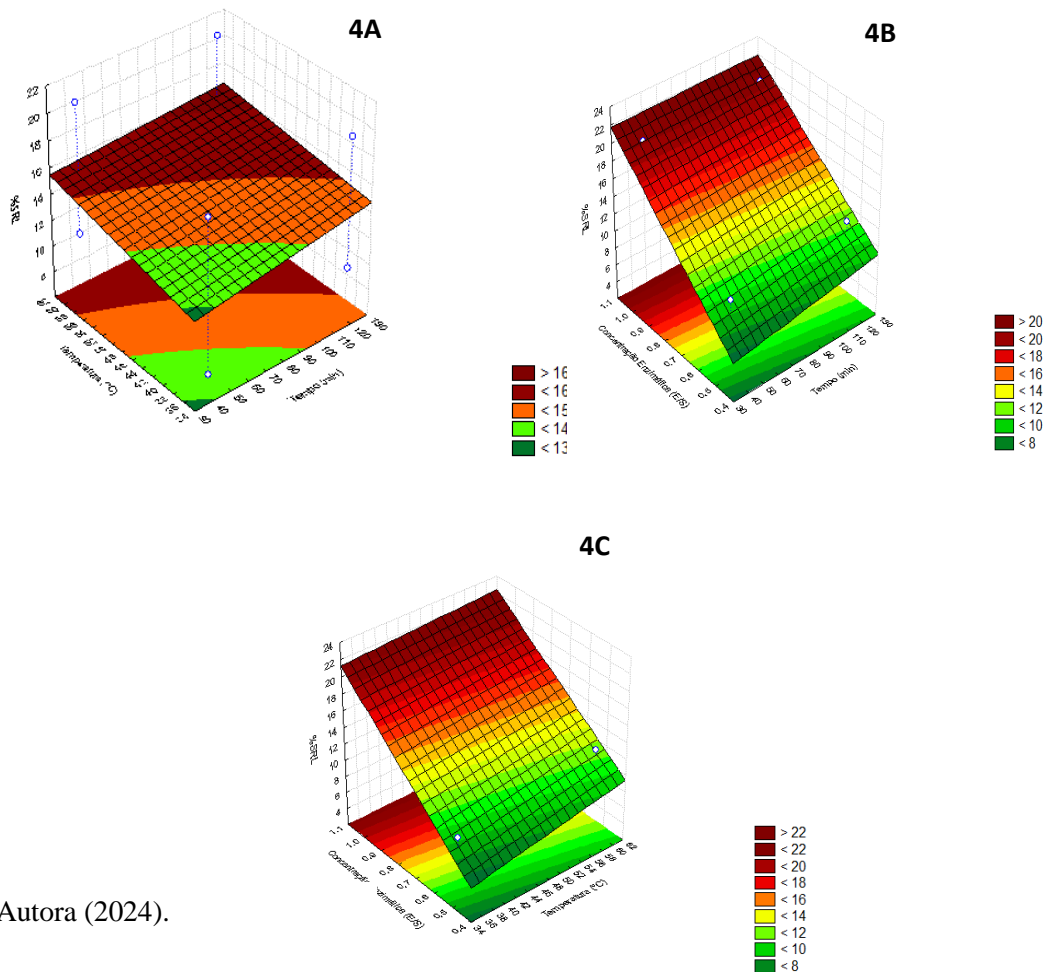
<b>Fator</b>	<b>SS</b>	<b>Df</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>(1) Tempo</b>	2,6681	1	2,6681	10,6722	0,082300
<b>(2) Temperatura</b>	7,5661*	1	7,5661*	30,264*	0,03149*
<b>(3) Concentração enzimática</b>	201,804*	1	201,804*	807,21*	0,00127*
<b>1 x 2</b>	0,2665	1	0,2665	1,0658	0,410389
<b>1 x 3</b>	0,9660	1	0,9660	3,8642	0,188244
<b>2 x 3</b>	0,9385	1	0,9385	3,7538	0,192285
<b>1x2x3</b>	0,0612	1	0,0612	0,2450	0,6696
<b>Falta de ajuste</b>	6,7776*	1	6,7776*	27,1105*	0,03496*
<b>Erro Puro</b>	0,5000	2	0,2500		
<b>Total SS</b>	221,5480	10			
<b>R<sup>2</sup></b>	0,96				

Coefficientes com \* são significativos  $p \leq 0,05$  Fonte: Autora (2024).

Para o %SRL, os resultados da análise de variância (tabela 11) mostram que os efeitos das variáveis temperatura e concentração enzimática foram significativos, logo, tanto a temperatura quanto a concentração enzimática influenciaram na capacidade de sequestro de radicais livres.

As figuras 4A e 4B representam as relações entre o tempo e as variáveis temperatura e concentração enzimática e a figura 4C representa a relação entre a concentração enzimática e a temperatura. Podemos observar no gráfico 4A que a maior temperatura contribuiu no aumento do %SRL, independentemente do tempo de hidrólise. Já no gráfico 4B podemos observar que independente da concentração enzimática maior tempo de hidrólise contribuiu para maior %SRL. Já a figura 4C mostra que independente da temperatura o maior %SRL foi obtido nos hidrolisados com maior concentração enzimática.

**Figura 4.** Superfícies de resposta para a variável percentual de sequestro de radicais livres (%SRL) em função do Tempo x Temperatura (A), Tempo x Concentração enzimática (B), Concentração enzimática x Temperatura (C).



Fonte: Autora (2024).

Ahmed *et al.* (2018), avaliaram a atividade antioxidante utilizando o protocolo do DPPH do hidrolisado obtido da pele de atum e verificaram que a maior atividade antioxidante foi encontrada nos ensaios que foram submetidos às maiores temperaturas de hidrólise e com maior concentração enzimática corroborando com os resultados do presente estudo.

De acordo com Siow *et al.* (2023) a acessibilidade proteica ao ataque enzimático é aumentada devido à exposição de sítios ativos da proteína após expostos a altas temperaturas (em torno de 50 °C) ocorrendo o desdobramento de moléculas de proteínas, que pode contribuir para atividade antioxidante, os autores também observaram que a temperatura não é o único fator que influencia no aumento do sequestro de radicais DPPH dos hidrolisados, sugerindo que a temperatura só pode contribuir para o maior sequestro de radicais livres dos hidrolisados se as variáveis do processo, como a relação E/S e o tempo de reação forem adequados.



Referente aos resultados encontrados para a avaliação da capacidade antioxidante avaliada pelo protocolo ABTS, pode-se observar que os valores variaram entre 4,22  $\mu\text{M}$  de trolox/g de amostra (ensaio 8) e 12,30  $\mu\text{M}$  de trolox/g de amostra (ensaio 2).

Barreto *et al.* (2020) analisaram a atividade antioxidante do extrato da castanha de sapucaia utilizando os protocolos ABTS e DPPH, e verificaram que os resultados alcançados com o DPPH foram superiores ao observado com o ABTS $\cdot+$ , atribuindo esse fato aos diferentes mecanismos envolvidos nas reações entre radical e antioxidante, bem como a solubilidade do extrato nos solventes empregados.

Os resultados da análise de variância (ANOVA) para avaliação da capacidade antioxidante utilizando o protocolo ABTS de hidrolisado proteico da torta da castanha de sapucaia estão apresentados na tabela 12.

**Tabela 12.** Análise de variância (ANOVA) para avaliação da atividade antioxidante utilizando o protocolo ABTS de hidrolisado proteico de castanha de sapucaia com enzima bromelina.

Fator	SS	df	MS	F	P
<b>(1) Tempo (min)</b>	14,0185*	1	14,01851*	300,61*	0,00331*
<b>(2) Temperatura (°C)</b>	0,49501	1	0,49501	10,6150	0,082690
<b>(3) Concentração enzimática</b>	8,46661*	1	8,46661*	181,55*	0,00546*
<b>1 x 2</b>	3,11251*	1	3,11251*	66,74*	0,01465*
<b>1 x 3</b>	0,57781	1	0,57781	12,3905	0,072088
<b>2 x 3</b>	9,05251*	1	9,05251*	194,12*	0,00511*
<b>1x2x3</b>	0,00911	1	0,00911	1954	0,701659
<b>Falta de ajuste</b>	13,01186*	2	13,01186*	279,02*	0,00356*
<b>Erro Puro</b>	0,09327	2	0,04663		
<b>Total SS</b>	48,83722	10			
<b>R<sup>2</sup></b>	0,73				

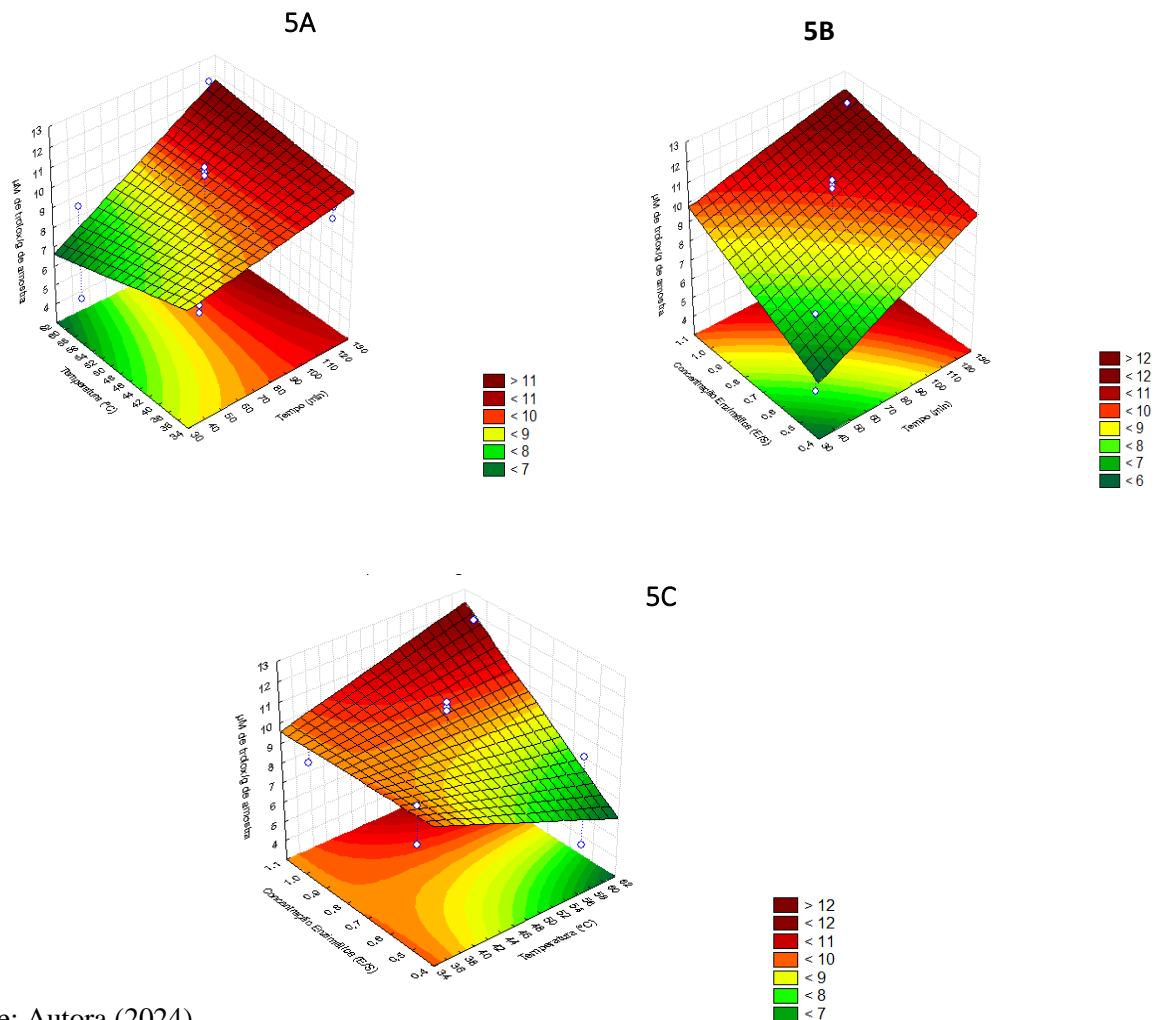
Coeficientes com \* são significativos  $p \leq 0,05$  Fonte: Autora (2024).

De acordo com os resultados os fatores significativos para a atividade antioxidante utilizando o protocolo ABTS foram os fatores isolados tempo, concentração enzimática e as interações tempo x temperatura e temperatura x concentração enzimática e o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) para o modelo ajustado foi de 0,73, explicando 73% da variação dos dados.

A figura 5A apresenta a relação entre as variáveis tempo x temperatura mostrando que maior tempo de hidrólise culminou em maiores valores de  $\mu\text{M}$  de trolox/g de amostra. Já pela figura 5B pode-se observar a relação entre tempo x concentração enzimática, evidenciando que

quanto maior o tempo de hidrólise maior será a capacidade antioxidante do hidrolisado proteico. A figura 5C mostra a relação entre temperatura e concentração enzimática, sendo possível constatar que a temperatura teve pouca influência no aumento das concentrações de  $\mu\text{M}$  de trolox/g de amostra, e que concentrações enzimáticas maiores promovem um aumento da atividade antioxidante.

**Figura 5.** Superfícies de resposta para a avaliação da atividade antioxidante utilizando o protocolo ABTS em função do Tempo e Temperatura (A), Concentração enzimática e Tempo (B), Concentração enzimática e Temperatura (C).



Fonte: Autora (2024).

Para os valores de FRAP foi obtida uma variação de 6,66  $\mu\text{M}$  de sulfato ferroso/g de amostra (ensaio 5) a 12,35  $\mu\text{M}$  de sulfato ferroso/g de amostra (ensaio 8) (Tabela 10). O FRAP é um método baseado na transferência de elétrons, redução do  $\text{Fe}^{3+}$  para  $\text{Fe}^{2+}$ , e mede a

habilidade de um potencial antioxidante transferir um elétron a fim de reduzir radicais, metais ou carbonilas, o qual usa como indicativo a mudança de cor do oxidante (Peixoto *et al.*, 2021).

A análise de variância apresentada na tabela 13 mostra a avaliação da atividade antioxidante de hidrolisado proteico da torta da castanha de sapucaia com a enzima bromelina utilizando o protocolo FRAP.

Os resultados evidenciam que houve efeito significativo das variáveis isoladas tempo e temperatura, e da interação temperatura e concentração enzimática. O valor do coeficiente de determinação  $R^2$  de 0,96 mostra que o modelo ajustado explica 96% da variação dos dados obtidos.

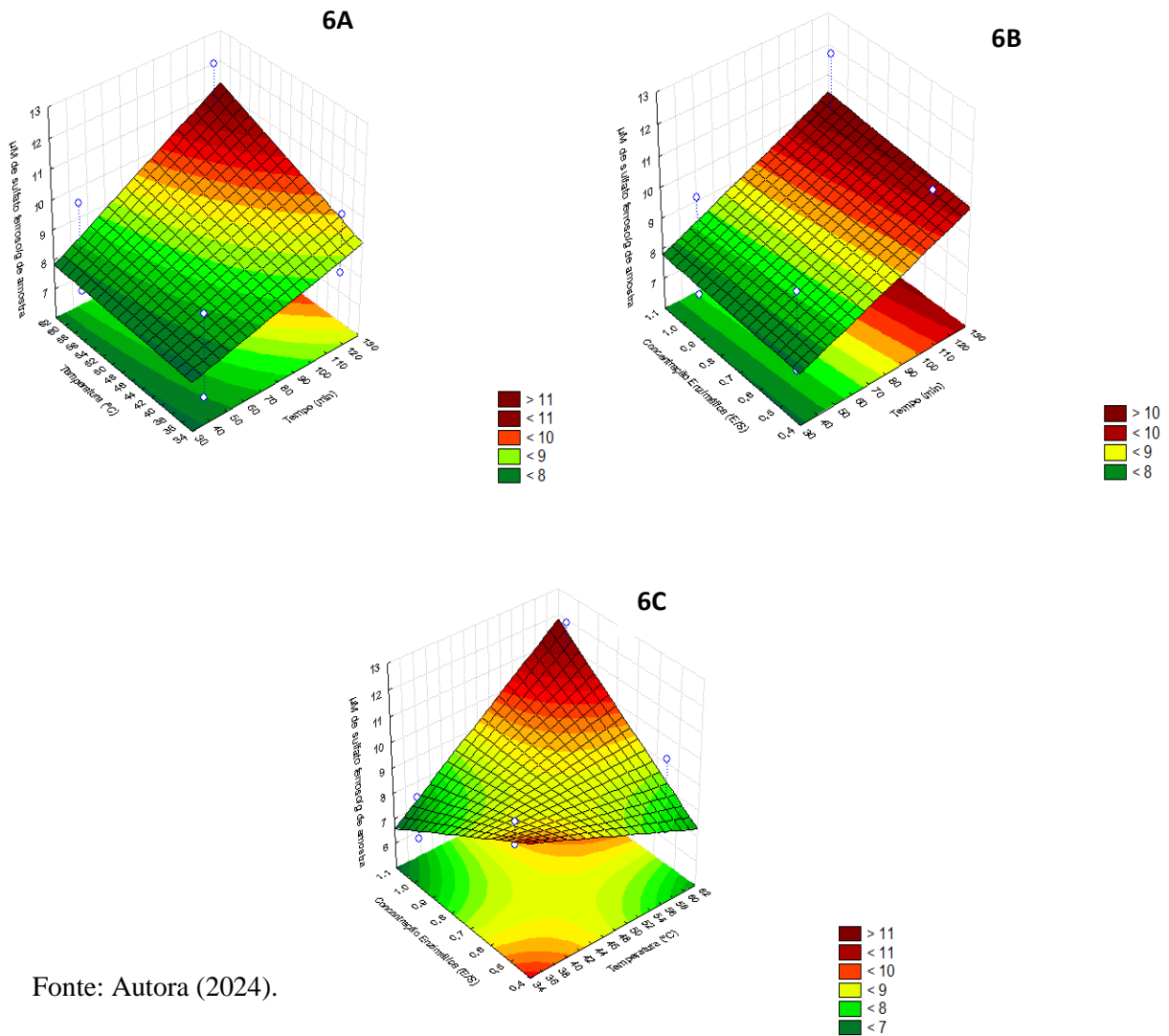
**Tabela 13.** Análise de variância (ANOVA) para avaliação de atividade antioxidante utilizando o protocolo FRAP de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia com a enzima bromelina.

Fator	SS	df	MS	F	P
(1) Tempo (min)	7,5660*	1	7,5660*	116,22*	0,00849*
(2) Temperatura	2,1012*	1	2,1012*	32,277*	0,02961*
(3) Concentração enzimática	0,11045	1	0,11045	1,6966	0,322530
1 x 2	0,96605	1	0,96605	14,8395	0,061261
1 x 3	0,03125	1	0,03125	0,4800	0,560047
2 x 3	13,468*	1	13,4680*	206,88*	0,00479*
1x2x3	0,16245	1	0,16245	2,4954	0,254950
Falta de ajuste	1,5856*	2	1,58565*	24,357*	0,03868*
Erro Puro	0,13020	2	0,06510		
Total SS	26,12140	10			
$R^2$	0,96				

Coeficientes com \* são significativos  $p \leq 0,05$  Fonte: Autora (2024).

As figuras 6A e 6B mostram o gráfico de superfície de resposta da relação entre tempo x temperatura e tempo x concentração enzimática, respectivamente. Pelas duas figuras (6A e 6B) é possível observar que os efeitos das interações não foram significativos. Já a figura 6C apresenta a relação entre as variáveis temperatura x concentração enzimática, sendo observado que maiores temperaturas culminaram em maior atividade antioxidante avaliada pelo protocolo FRAP.

**Figura 6.** Superfícies de resposta para a avaliação da atividade antioxidante utilizando o protocolo FRAP em função do Tempo e Temperatura (A), Concentração enzimática e Tempo (B), Concentração enzimática e Temperatura (C).



Fonte: Autora (2024).

O efeito das variáveis tempo e temperatura também foi significativo na avaliação da atividade antioxidante utilizando o protocolo FRAP. O estudo realizado por Santos-Sanchez *et al.* (2019) com proteínas hidrolisadas de caseína mostrou uma relação positiva entre o tempo de hidrólise e a quantidade de  $\mu\text{M}$  de sulfato ferroso/g de amostra, verificando que o aumento no tempo de hidrólise até quatro horas a temperatura até  $60^{\circ}\text{C}$ , repercute no aumento do poder redutor dos hidrolisados.

Corroborando com os resultados encontrados, Siow *et al.* (2023) observaram que altas temperaturas (em torno de  $50^{\circ}\text{C}$ ) podem aumentar a exposição de estruturas ativas e produzir elétrons efetivos doadores que podem melhorar o poder redutor dos hidrolisados. Os autores

também afirmaram que o tempo de reação afeta diretamente a produção de peptídeos bioativos de sementes de *Parkia speciosa* e que todas as amostras hidrolisadas no estudo, apresentaram um aumento significativo do poder redutor pós 1h de hidrólise.

De acordo com os autores Halim e Sarbon (2016), para que haja um bom ajuste de modelo quadrático, o  $R^2$  deverá apresentar um valor maior que 0,70, o que foi observado no estudo.

### 5.5 Rendimento das frações dos hidrolisados

Conforme apontado anteriormente, optou-se por utilizar o hidrolisado com o melhor resultado no planejamento experimental (Ensaio 8).

A tabela 14 apresenta os percentuais de rendimento considerando as frações do hidrolisado da torta da castanha de sapucaia submetida a 120 minutos de hidrólise, 60 °C temperatura e 1,0% de concentração enzimática.

Foram avaliadas as diferentes frações (mista, solúvel e insolúvel), cujos rendimentos estão detalhados na tabela 14.

**Tabela 14.** Dados do rendimento da fração solúvel, fração insolúvel e fração mista do hidrolisado proteico da castanha de sapucaia.

Frações do hidrolisado	Rendimento (%)
Mista	89,64 ± 0,12
Insolúvel	79,04 ± 0,08
Solúvel	14,48 ± 0,45

Fonte: Autora (2024).

De acordo com os dados apresentados na tabela 14, observa-se que o rendimento mais elevado foi alcançado pela fração mista, atingindo 89,64%, seguida pela fração insolúvel com 79,04% e a fração solúvel com 14,48%. Esses resultados são comparáveis com os obtidos por Bernardi (2024) em sua pesquisa utilizando de hidrolisado proteico de castanha-do-brasil no enriquecimento nutricional de biscoitos com adição de farinha de pupunha. Na referida pesquisa, os maiores rendimentos também foram obtidos na fração mista (99,53%), seguida pela fração insolúvel (79,86%) e solúvel (12,77%).

Conforme destacado por Neves *et al.* (2004), os rendimentos dos hidrolisados dependem de vários fatores, como a especificidade da enzima, podendo influenciar significativamente

tanto a solubilização quanto outras características. Assim, os rendimentos observados demonstram o potencial da torta da castanha de sapucaia como matéria-prima na produção de hidrolisados para a criação de novos produtos na indústria alimentícia.

### 5.5.1 Análise da composição nutricional das frações do hidrolisado proteico da torta da castanha de sapucaia

A tabela 15 apresenta os resultados da composição nutricional das frações (fração solúvel, insolúvel e fração mista) obtidas do hidrolisado proteico da torta da castanha de sapucaia.

**Tabela 15.** Composição nutricional das frações do hidrolisado proteico da torta de castanha de sapucaia.

Componentes (%)	Fração mista (FM)	Fração solúvel (FS)	Fração insolúvel (FI)
Umidade	4,02±0,01 <sup>c</sup>	7,17±0,06 <sup>a</sup>	5,94±0,12 <sup>b</sup>
Cinzas	6,20±0,11 <sup>b</sup>	8,41±0,01 <sup>a</sup>	6,08±0,01 <sup>b</sup>
Lipídeos	13,92±0,05 <sup>b</sup>	0,03±0,05 <sup>c</sup>	14,09±0,16 <sup>b</sup>
Proteínas	32,70±0,10 <sup>a</sup>	31,41±0,02 <sup>a</sup>	32,52±0,05 <sup>a</sup>

Letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Resultados expressos em média e  $\pm$  desvio padrão. Fonte: Autora (2024)

De acordo com os resultados obtidos, observa-se que houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) nos valores médios dos teores de umidade. A fração solúvel apresentou valores consideravelmente mais elevados de umidade (7,17%), em comparação com as outras frações. Contudo, todas as frações do hidrolisado (FM, FS, FI) registraram teores de umidade inferiores a 12%, em conformidade com a regulamentação RDC nº 726 de 1º de julho, que estabelece um limite de umidade inferior a 12% para produtos proteicos de origem vegetal (Brasil, 2022). A redução da umidade dos alimentos, possibilita o armazenamento e prolonga a vida útil dos produtos alimentícios (Dala-Paula *et al.*, 2021).

Com relação aos teores de cinzas observou-se que a fração solúvel (FS), diferiu significativamente das demais frações, apresentando um valor médio de 8,41. Isso sugere que o hidrolisado proteico da castanha de sapucaia pode ser utilizado com no enriquecimento de novos produtos, uma vez que o teor de cinzas está relacionado ao teor de minerais.

Para os teores lipídicos das frações dos hidrolisados observou-se que a FS diferiu estatisticamente ( $p \leq 0,05$ ) das FM e FI com um valor médio de 0,03% de lipídios, sendo que o baixo teor de lipídio em hidrolisados é considerado muito importante pois de acordo com Feng *et al.* (2020), o alto teor lipídico se torna um limitante, facilitando os processos de oxidação lipídica e diminuindo a estabilidade desses hidrolisados.

Os teores de proteína não apresentaram diferenças estatísticas entre as amostras, variando 31,41% a 32,70%. Os teores de proteínas identificados nas frações solúvel, insolúvel e mista estão de acordo com os requisitos da legislação, visto que, a RDC n° 726, de 1° de julho de 2022 determina um valor mínimo de 25% de proteína por 100 g de proteína vegetal hidrolisada para ser considerado um produto proteico (Brasil, 2022).

Na tabela 16 estão expressos os valores médios para capacidade antioxidante dos extratos das frações do hidrolisado.

**Tabela 16.** Atividade antioxidante dos extratos das frações do hidrolisado da torta da castanha de sapucaia utilizando os protocolos DPPH, ABTS, FRAP e TAC.

Tratamentos	DPPH (%SRL)	FRAP ( $\mu\text{M}$ de sulfato ferroso/g de amostra)	ABTS ( $\mu\text{M}$ de trolox/g de amostra)	TAC ( $\mu\text{gEAA/g}$ de amostra)
IA	23,56 $\pm$ 1,27 <sup>c</sup>	57,48 $\pm$ 0,0 <sup>c</sup>	7,57 $\pm$ 0,4 <sup>c</sup>	738,52 $\pm$ 0,09 <sup>e</sup>
IM	23,92 $\pm$ 2,28 <sup>c</sup>	32,89 $\pm$ 0,1 <sup>e</sup>	9,2 $\pm$ 0,7 <sup>bc</sup>	237,47 $\pm$ 0,10 <sup>e</sup>
MA	45,50 $\pm$ 5,85 <sup>b</sup>	38,38 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>	10,35 $\pm$ 0,2 <sup>bc</sup>	1031,15 $\pm$ 1,2 <sup>c</sup>
MM	52,51 $\pm$ 1,78 <sup>b</sup>	60,02 $\pm$ 0,02 <sup>c</sup>	9,91 $\pm$ 0,2 <sup>bc</sup>	1153,0 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>
SA	96,94 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	4348,33 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	26,63 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	1462,05 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>
SM	98,20 $\pm$ 1,78 <sup>a</sup>	253,66 $\pm$ 0,8 <sup>b</sup>	10,99 $\pm$ 0,0 <sup>b</sup>	1040,60 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>

IA: Fração insolúvel + água; IM: fração insolúvel + metanol; MA: Fração mista + água; MM: Fração mista + metanol, SA: Fração solúvel + água; SM: Fração solúvel + metanol. Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ( $p \leq 0,05$ ). Resultados expressos em média e  $\pm$  desvio padrão. Fonte: Autora (2024).

De acordo com a tabela 16, observa-se que em relação ao %SRL houve diferença estatística ( $P < 0,05$ ) entre as frações do hidrolisado, porém não houve diferença entre os tratamentos utilizando os solventes água e metanol, mostrando que o solvente não influenciou no %SRL. Os valores médios variaram entre 23,56% (IA) a 98,20% (SM), sendo que a fração solúvel apresentou melhores resultados quanto à captura do radical DPPH.

Para os valores de FRAP foi obtida uma variação de 32,89  $\mu\text{M}$  de sulfato ferroso/g de amostra (tratamento IM) a 4348,33  $\mu\text{M}$  de sulfato ferroso/g de amostra (tratamento SM). Todos os tratamentos diferiram entre si, exceto os tratamentos IA e MM.

Os tratamentos utilizando a solução extratora metanol, foram os que obtiveram melhores resultados em relação as frações insolúveis e mistas mostrando maior eficiência na extração de compostos bioativos, já para a fração solúvel o melhor resultado foi encontrado com a utilização de água como solvente.

Em relação aos resultados de ABTS observa-se um comportamento semelhante aos demais protocolos, com valores médios variando entre 7,57  $\mu\text{M}$  de trolox/g de amostra a 26,36  $\mu\text{M}$  de trolox/g de amostra, sendo os melhores resultados encontrados na fração solúvel.

Os valores para capacidade antioxidante total (TAC) foram diferentes estatisticamente ( $p < 0,05$ ) para todos os tratamentos exceto para o tratamento IA. Diferente dos outros protocolos para TAC as frações que utilizaram água como solvente foram os que obtiveram os melhores resultados, sendo as frações solúveis as que obtiveram os maiores valores de TAC.

De modo geral, evidencia-se que a hidrólise da torta da castanha de sapucaia pela enzima bromelina, leva a produção de hidrolisados com capacidade antioxidante maior que a encontrada na matéria prima integral (torta da castanha ide sapucaia).

O efeito dos solventes torna-se um parâmetro essencial no comportamento químico dos compostos antioxidantes. Assim, estudos mostram que os valores de capacidade antioxidante devem ser comparados apenas quando as mensurações forem realizadas pelo mesmo método e no mesmo solvente (Pérez-Gálvez *et al.*, 2020; Xiao *et al.*, 2020; Çelik *et al.*, 2010).

Geralmente nos extratos hidrofílicos são utilizados metanol, etanol ou água, já para os extratos lipofílicos podem ser utilizados solventes como o clorofórmio e a acetona (Xiao *et al.*; 2020; SUN; POWERS; Sagar *et al.*, 2020).

## **5.6 Avaliação da estabilidade oxidativa das matrizes alimentares**

### **5.6.1 Determinação do pH**

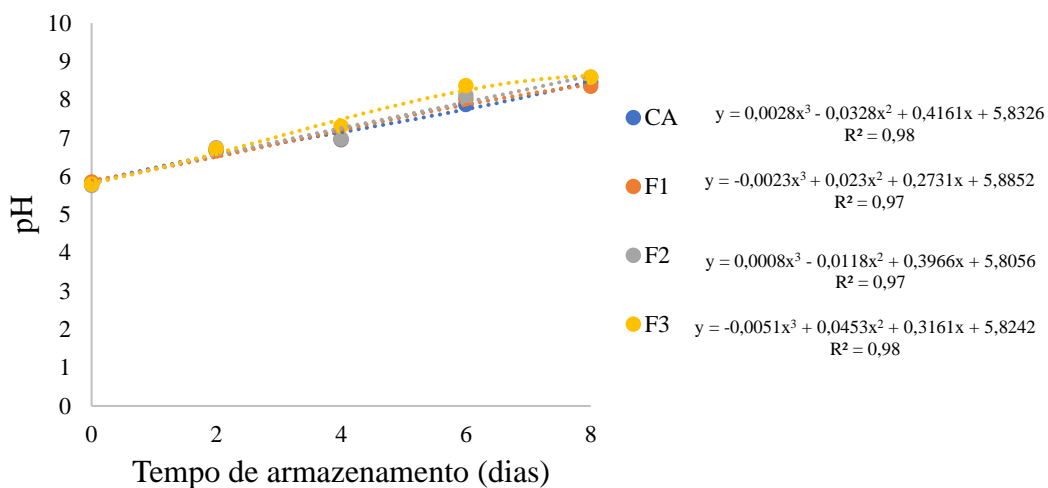
O estudo do potencial hidrogeniônico (pH) durante o período da estocagem é importante, pois mudanças nesse parâmetro podem estar relacionadas à presença de bactérias



ácido lácticas, uma vez que o aumento no pH ao longo do armazenamento indica a presença destes microrganismos, tornando assim, o pH, critério para avaliar a conservação das matrizes estudadas.

Na figura 7 estão dispostos os valores de pH determinados nos tratamentos contendo carne moída bovina como matriz alimentar armazenados durante 8 dias sob refrigeração a  $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ . De maneira geral, observa-se que o pH das amostras aumentou ao longo do período de armazenamento, diferindo significativamente ( $p < 0,05$ ) entre o início e o final para os diferentes tratamentos.

**Figura 7.** Valores de pH de carne moída bovina com adição de diferentes concentrações de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia durante armazenamento sob refrigeração a  $4^{\circ}\text{C}$ .



CA = tratamento sem adição de hidrolisado proteico (controle); F1 = tratamento com 1mg/g: 1 mg de hidrolisado proteico/g de carne de moída bovina; F2= tratamento com 2 mg/g: 2mg de hidrolisado proteico/g de carne de moída bovina; F3= tratamento com (3mg/g: 3 mg de hidrolisado proteico/g de carne de moída bovina. Fonte: autora (2024).

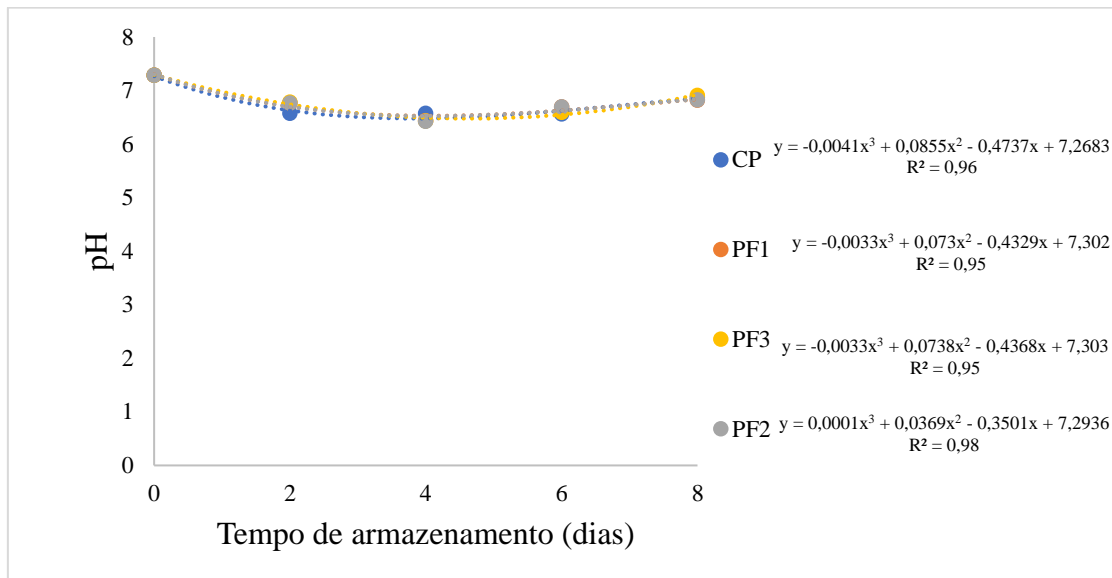
O pH observado para os tratamentos estão entre 5,84 e 8,59, e de acordo com Júnior *et al.* (2009), os produtos cárneos são aceitáveis ao consumo até pH 6,2.

Não foram verificadas variações significativas ( $p < 0,05$ ) entre o tratamento controle (sem adição de hidrolisado proteico) e os outros tratamentos com adição de hidrolisado proteico em todos os tempos de armazenamento, sendo assim, pode-se afirmar que a adição do hidrolisado não afetou diretamente o pH das amostras analisadas.

Kumar *et al.* (1986) relatam que quanto maior o valor de pH, maior a oxidação lipídica. Já Souza *et al.* (2020), alega que em virtude de um pH mais alto da carne, a deterioração é mais fácil de ocorrer pelo desenvolvimento de bactérias proteolíticas.

Na figura 8 estão apresentados os valores do potencial hidrogeniônico (pH) para as amostras de carne de tilápia moída e seu comportamento durante o armazenamento sob refrigeração.

**Figura 8.** Valores de pH de carne moída de tilápia com adição de diferentes concentrações de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia durante armazenamento sob refrigeração a 4 °C.



CP = tratamento sem adição de hidrolisado proteico (controle); PF1 = tratamento com 1mg/g: 1 mg de hidrolisado proteico/g de carne de tilápia moída; PF2= tratamento com 2 mg/g: 2mg de hidrolisado proteico/g de carne de tilápia moída; PF3= tratamento com 3mg/g: 3 mg de hidrolisado proteico/g de carne de tilápia moída. Fonte: Autora (2024).

No presente estudo, pode-se notar que houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) nos valores de pH em todos os tratamentos em relação ao tempo de armazenamento, tendendo diminuir os valores com o passar do tempo, com exceção do oitavo dia onde observou-se um aumento no pH.

Em relação aos tratamentos, observou-se que a amostra controle apresentou diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) em relação aos demais tratamentos nos dias 2 e 4, apresentando menores valores de pH. Já os tratamentos com adição de hidrolisado em diferentes concentrações não diferiram entre si. Segundo Sharma *et al.* (2017), essa diminuição do pH durante o armazenamento dos produtos cárneos é atribuída a produção de ácido láctico pelas bactérias lácticas presentes na matéria-prima.

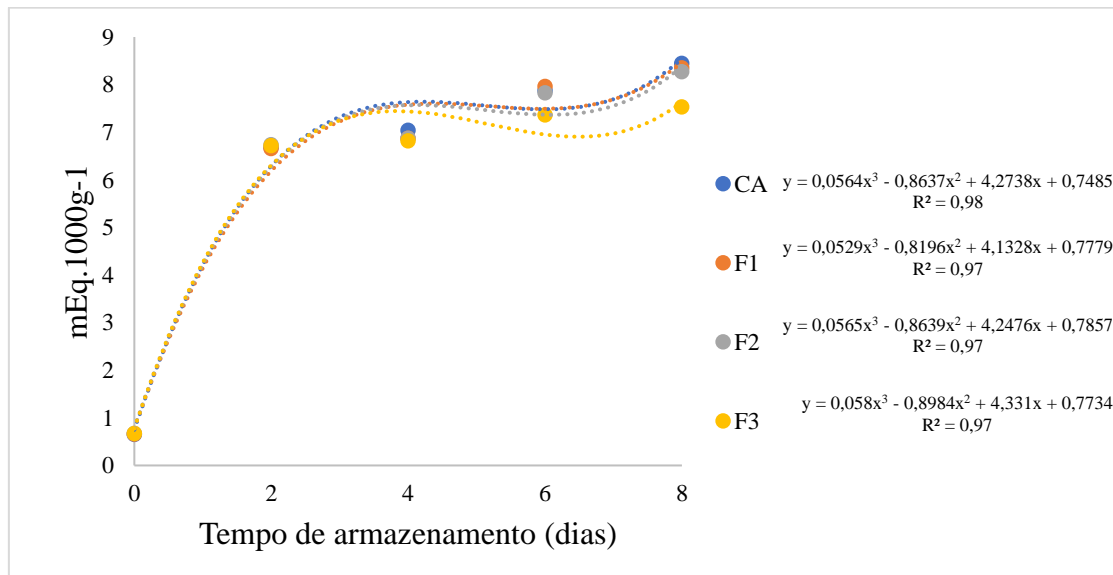
### 5.6.3 Determinação do índice de peróxidos

Os resultados para o índice de peróxido, expressos em mEq/kg, da carne bovina moída e armazenada ao longo de 8 dias a 4°C, estão apresentados na figura 9.

Em relação ao tempo de armazenamento, houve diferença ( $p < 0,05$ ), um aumento no índice de peróxido no decorrer dos dias de armazenamento nos diferentes tratamentos e essa tendência seguiu até o final do armazenamento. Entre os tratamentos, observa-se que não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre o tratamento controle CA (sem adição de hidrolisado proteico), e os tratamentos F1, F2 e F3 (com adição de hidrolisado proteico).

De acordo com a Instrução Normativa nº 4 de março de 2000 o valor permitido para o índice de peróxido é estimado em 1 mEq KOH por kg de gordura para carnes mecanicamente separada de aves, bovinos e suínos (BRASIL, 2000). No presente estudo todos os tratamentos ultrapassaram o limite aceitável a partir do dia 2 de armazenamento, o índice de peróxido variou de 0,65 a 8,44 mEq/kg de gordura.

**Figura 9.** Valores de índice de peróxido (mEq/kg) em carne bovina moída com adição de diferentes concentrações de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia durante armazenamento sob refrigeração a 4 °C.



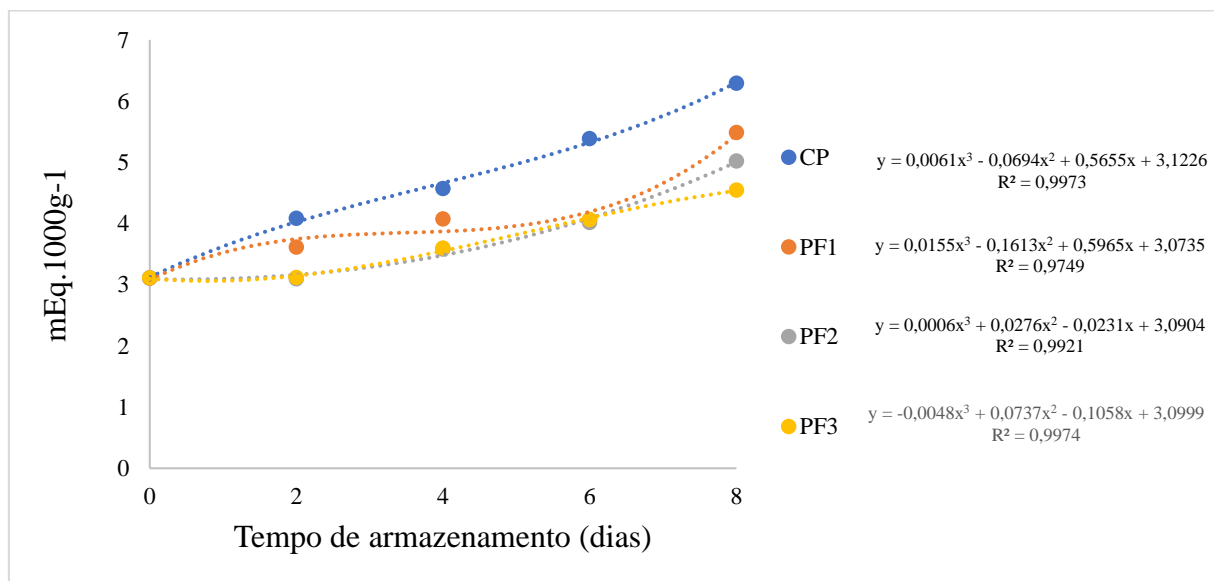
CA = tratamento sem adição de hidrolisado proteico (controle); F1 = tratamento com 1mg/g: 1 mg de hidrolisado proteico/g de carne de moída bovina; F2= tratamento com 2 mg/g: 2mg de hidrolisado proteico/g de carne de moída bovina; F3= tratamento com 3mg/g: 3 mg de hidrolisado proteico/g de carne de moída bovina. Fonte: Autora (2024).

Santos *et al.* (2017), comparando o uso de antioxidante natural e sintético em hambúrguer bovino armazenado por 120 dias a  $-18^{\circ}\text{C}$ , observaram que não houve diferença significativa entre os tratamentos sem antioxidantes e os tratamentos com antioxidantes sintético e natural, indicando que nem mesmo o antioxidante sintético foi capaz de prevenir a oxidação lipídica, levando a formação de peróxidos.

O processo de oxidação lipídica envolve reações radiculares, cujo resultado é a formação de hidroperóxidos, que por degradação posterior originam aldeídos, álcoois e hidrocarbonetos (Silva; Borges; Ferreira, 1999).

Observa-se na figura 10 os resultados para o índice de peróxido, expressos em mEq/kg, da carne de tilápia moída e armazenada ao longo de 8 dias a  $4^{\circ}\text{C}\pm 2$ .

**Figura 10.** Valores de índice de peróxido (mEq/kg) em carne de tilápia moída com adição de diferentes concentrações de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia durante armazenamento sob refrigeração a  $4^{\circ}\text{C}$ .



CP = tratamento sem adição de hidrolisado proteico (controle); PF1 = tratamento com 1mg/g: 1 mg de hidrolisado proteico/g de carne de tilápia moída; PF2= tratamento com 2 mg/g: 2mg de hidrolisado proteico/g de carne de tilápia moída; PF3= tratamento com 3mg/g: 3 mg de hidrolisado proteico/g de carne de tilápia moída. Fonte: Autora (2024).

O *Codex Alimentarius* preconiza que o índice de peróxido em pescado deve ser de no máximo 10 mEq.kg-1 (*Codex Alimentarius*, 2003), considerando esse valor, o índice de peróxido encontrados neste trabalho indica todos os tratamentos obtiveram índices de peróxidos aceitáveis.

Pode-se observar na figura 10 que ao longo do armazenamento ocorreu um aumento significativo ( $p > 0,05$ ) do índice de peróxido nos tratamentos ao longo do tempo variando de 3,1 mEq.kg<sup>-1</sup> a 6,28 mEq.kg<sup>-1</sup>.

Em relação aos tratamentos houve diferença estatística ( $p > 0,05$ ), entre o tratamento controle, e os demais tratamentos contendo hidrolisado proteico. Os tratamentos PF2 e PF3 não diferiram entre si, obtendo os menores valores de índice de peróxido, observa-se que a adição do hidrolisado proteico foi eficiente em diminuir os níveis de peróxido na carne de tilápia moída.

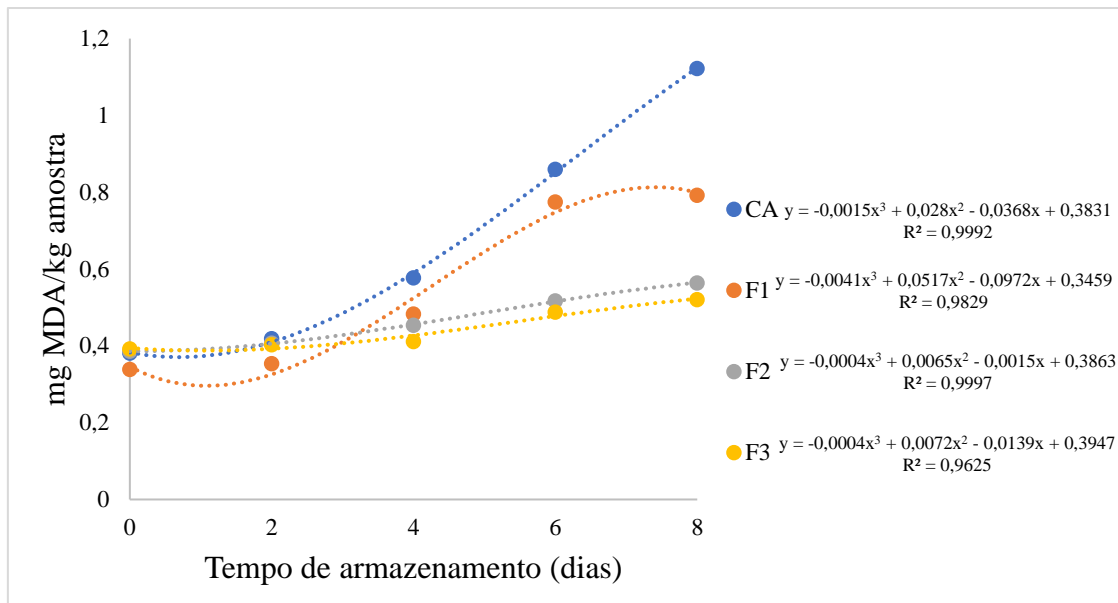
Segundo Wen *et al.* (2020) a inibição da peroxidação lipídica esta atribuída a capacidade dos peptídeos em interagir no ciclo de propagação da peroxidação lipídica e, assim, retardar o linoleico mediado por radicais da oxidação ácida. Os aminoácidos hidrofóbicos presentes na estrutura dos peptídeos podem contribuir para a inibição da peroxidação, aumentando a solubilidade do peptídeo em lipídeos, e assim facilitando uma melhor interação com espécies radicais.

#### **5.6.4 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)**

Segundo Santos (2017) o malonaldeído (MDA), avaliado no teste TBARS, é um dos principais produtos da deterioração dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados, formados ao longo do processo oxidativo, sendo que para carnes, a formação do número de TBARS é bastante expressivo. Processos envolvidos na preparação de produtos cárneos que envolvam moagem, homogeneização e cozimento favorecem a formação do MDA, sendo fundamental a aplicação do teste na avaliação da qualidade da carne.

Na figura 11 estão apresentados os resultados para a substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em carne bovina moída com adição de diferentes concentrações de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia durante armazenamento sob refrigeração a 4°C.

**Figura 11.** Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em carne bovina moída com adição de diferentes concentrações de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia durante armazenamento sob refrigeração a 4°C.



CA = tratamento sem adição de hidrolisado proteico (controle); F1 = tratamento com 1mg/g: 1 mg de hidrolisado proteico/g de carne bovina moída; F2= tratamento com 2 mg/g: 2mg de hidrolisado proteico/g de carne bovina moída; F3= tratamento com 3mg/g: 3 mg de hidrolisado proteico/g de carne bovina moída. Fonte: Autora (2024).

Para todas as amostras de carne bovina moída, os valores de TBARS aumentaram ao longo dos 8 dias de armazenamento. As médias gerais dos valores de TBARS variaram significativamente ( $p < 0,05$ ) de 0,381 a 1,122 mg de MDA/Kg de amostra do dia 0 ao dia 8 do período de armazenamento.

Como esperado, a amostra controle (sem adição de hidrolisado) foi a que apresentou os maiores valores de TBARS no final do armazenamento diferindo estatisticamente dos demais tratamentos obtendo valores de TBARS (1,122 MDA/Kg de amostra). No entanto, foram observados efeitos significativos nas amostras com 1, 2 e 3 mg de hidrolisado/g de carne bovina moída a partir do dia 2 de armazenamento.

Os tratamentos com adição de hidrolisado, também diferiram entre si, com valores médios variando de 0,792 a 0,0522 MDA/Kg de amostra, sendo os menores valores encontrados no tratamento F3. Pode-se observar que a ação do hidrolisado na diminuição do TBARS, na concentração de 3mg de hidrolisado/g de carne moída mostrou-se o mais eficiente em diminuir a oxidação lipídica.

Tal fato pode estar associado à presença de resíduos de aminoácidos hidrofóbicos, ácidos e básicos nos hidrolisados proteicos, visto que, peptídeos com aminoácidos hidrofóbicos

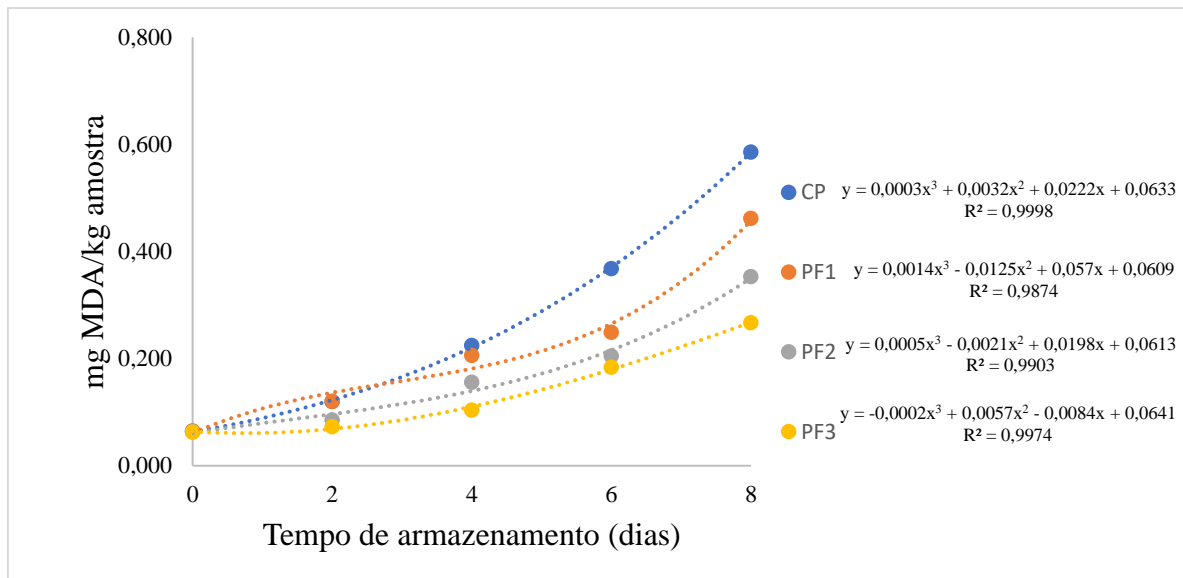
previnem a peroxidação lipídica, como componentes surfactantes, particionando na interface óleo-água, criando uma membrana ou revestimento protetor que evita o contato direto entre lipídios e compostos oxidantes, como radicais, resultando em peptídeos que impedem a oxidação da membrana celular mediada por radicais peroxil ( Pan *et al.*,2020).

Segundo Domínguez *et al.* (2019), é bem conhecido que os componentes fosfolipídicos das amostras de carne têm um papel importante na oxidação lipídica devido à sua elevada composição de ácidos graxos insaturados e ao seu arranjo em membranas, o que facilita a etapa de propagação das reações de oxidação.

Wood *et al.* (2003) relataram que o sabor desagradável resultante da oxidação lipídica pode ser identificado pelo consumidor em produtos com teores de TBARS maiores que 2 mg MDA/Kg de amostra.

De acordo com a figura 12, a adição do hidrolisado e o tempo de armazenamento afetaram os valores de TBARS. Como esperado, nenhuma diferença significativa nos tratamentos no tempo 0, no entanto foram observados efeitos significativos nos tratamentos a partir do dia 2, onde as amostras com 1, 2 e 3 mg de hidrolisado/g de carne moída de tilápia apresentaram valores significativamente inferiores de MDA, quando comparadas a amostra controle CP (sem adição de hidrolisado). A adição do hidrolisado proteico teve efeito significativo na inibição da oxidação lipídica nas amostras PF1, PF2 e PF3 apresentando valores de TBARS variando de 0,462 a 0,226. O tratamento com 3 mg de hidrolisado/g de carne moída de tilápia, apresentou os menores valores de TBARS ao longo do armazenamento comparado aos outros tratamentos, mostrando-se que a maior concentração de hidrolisado foi eficiente na diminuição da oxidação lipídica.

**Figura 12.** Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em carne moída de tilápia com adição de diferentes concentrações de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia durante armazenamento sob refrigeração a 4°.



CP = tratamento sem adição de hidrolisado proteico (controle); PF1 = tratamento com 1mg/g: 1 mg de hidrolisado proteico/g de carne de tilápia moída; PF2 = tratamento com 2 mg/g: 2 mg de hidrolisado proteico/g de carne de tilápia moída; PF3 = tratamento com 3mg/g: 3 mg de hidrolisado proteico/g de carne de tilápia moída. Fonte: Autora (2024).

A perecibilidade da carne de peixe está diretamente relacionada com a sua baixa reserva de glicogênio muscular que resultam em valores de pH próximos da neutralidade depois do rigor mortis. Isso acelera a ação de enzimas endógenas (como catepsinas, lipoxigenases, peroxidases) e favorece o crescimento de microrganismos. Tanto enzimas endógenas quanto microbianas podem degradar a carne de peixe através da oxidação de ácidos graxos (Alexandre *et al.*, 2022).

Devido à complexidade da oxidação lipídica, não há um padrão universal para os níveis de TBARS que indicam um sabor ou odor rançoso inaceitável (Sveinsdottir *et al.*, 2020). Segundo Rebouças *et al.* (2020) os peixes podem ser considerados impróprios para consumo ao apresentar valores acima de 3 mg de MDA/kg de amostra. Todos os tratamentos avaliados tiveram valores de TBARS muito inferiores aos relacionados acima, e a amostra PF3 apresentou o menor valor de TBARS, o que mostrou que a adição de 3 mg de hidrolisado proteico foi a mais eficiente em retardar a oxidação lipídica.



## 5.6.5 Análise colorimétrica das matrizes alimentares

### 5.6.5.1 Análise de cor da carne moída bovina com adição de diferentes concentrações de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia

A cor de um alimento deve-se à presença de pigmentos naturais. Estes pigmentos são instáveis, participam de diferentes reações e, em função disto, a alteração de cor de um alimento é um indicador das alterações químicas e bioquímicas possíveis de ocorrer durante o processamento e estocagem (De Mendonça *et al.*, 2017).

Observa-se que para o parâmetro L\* (figura 13A), não houve diferença significativa entre os tratamentos. Entretanto houve diferença ( $p < 0,05$ ) em relação ao o tempo de armazenamento, observar-se uma diminuição na luminosidade a partir dia 2 ao dia 8 em todos os tratamentos com valores médios variando de 52,94 a 35,61. Este decréscimo provavelmente se deva a formação da cor escura em decorrência de reações de escurecimento (Loeffler *et al.*, 2020).

Bañón *et al.* (2007) relataram que a adição de extratos vegetais como antioxidante natural não afetou os valores de L\* de hambúrgueres de carne bovina e que os valores de para luminosidade foram diminuídos durante o armazenamento a 4 °C, tendendo ao escurecimento dos hambúrgueres corroborando com os resultados encontrados no presente estudo.

Freire *et al.* (2023) analisando a coloração do hambúrguer bovino adicionado de extrato de acerola com antioxidante natural observaram que os valores de L\* não se diferiram durante o tempo de armazenamento, e que a adição do antioxidante não mostrou influência entre os tratamentos. Segundo Ordóñez (2005) o processamento da carne altera consideravelmente a sua cor. O processo de refrigeração favorece a tonalidade pardacenta em face à dificuldade de penetração do O<sub>2</sub> e por levar eletrólitos que favorecem a metamioglobina.

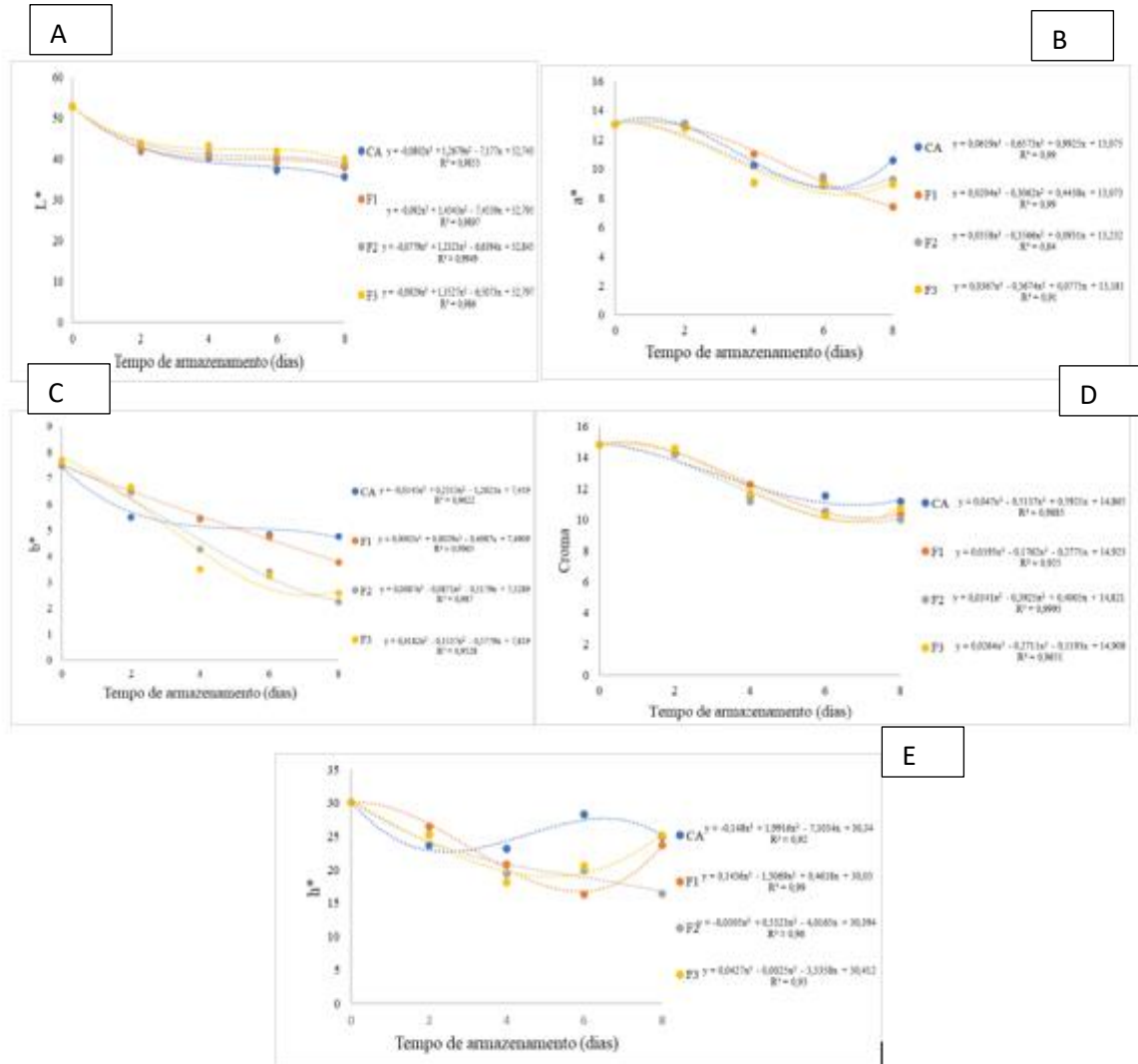
Estudos sobre a cor da carne, na maioria das vezes estão concentrados sobre o valor a\* (vermelho), porque a coloração vermelha da carne é um importante componente do apelo visual para consumidores (Shan *et al.*, 2009). Segundo, Ramos e Gomide (2007) o índice de a\* é o parâmetro de cor mais sensível na caracterização da cor vermelha e na sua estabilidade.

Para a variável a\* verificou-se que ocorreu a tendência de diminuição dos valores do parâmetro a\* durante o período de armazenamento, ou seja, a intensidade de coloração vermelha foi diminuindo ao logo do período nas amostras de carne moída.

Pode-se observar que os valores de  $a^*$  (figura 13B) variaram de 13,03 a 8,94 durante o armazenamento. Nos tempos, 0, 2 e 4 não houveram diferenças significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos, a partir do 6° dia de armazenamento podemos notar que houve diferença estatisticamente entre os tratamentos. Os tratamentos F2 e F3 foram os que apresentaram os menores valores de  $a^*$ , ou seja, apresentaram coloração menos intensa que as demais.

A redução no valor de  $a^*$  nos tratamentos com adição de hidrolisados pode ser explicada pelo fato dos taninos presentes nos hidrolisados de origem vegetal causarem descoloração possivelmente pela combinação com ferro da mioglobina retardando a oxidação lipídica (Mitsumoto *et al.*, 2005).

**Figura 13.** Estão representados graficamente os valores referentes as variáveis de cor L\*, a\*, b\*, cromas e h\* da carne moída bovina com adição de diferentes concentrações de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia.



Gráficos A: variável luminosidade L\*; B: variável a\*; C: variável b\*; D: variável cromas; E: variável hue, para carne moída bovina com adição de diferentes concentrações de hidrolisado. Fonte: Autora (2024).

Em relação aos valores de b\* (figura 13C) observou-se que houve uma redução significativa no decorrer do tempo de armazenamento, sendo que as diferenças estatísticas foram mais perceptíveis no 8º dia de armazenamento, onde observou-se que não houve diferença estatística entre as amostras que foram adicionadas de 2 e 3mg de hidrolisado, que apresentaram menores valores no final do armazenamento. De com os achados pelo Vietnam e Ahn (2003) em seu estudo com adição de ácido ascórbico como antioxidante em carne moída, descobriu que a adição de ácido ascórbico diminuiu os valores de b\* da carne bovina durante o

armazenamento. E atribuiu essa diminuição dos valores a oxidação gradual da mioglobina e acumulação de metamioglobina com o tempo.

Em relação aos valores de croma, (figura 13D) observa-se que não houve diferença ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos, com valores médios variando de 14,81 a 10,02 durante o armazenamento. De acordo com resultados pode-se observar que houve uma redução dos valores ao longo do tempo de armazenamento, no entanto não foram observadas diferenças estatísticas entre o tratamento controle e os tratamentos com adição de hidrolisado.

Zhang *et al.*, (2016) avaliando a oxidação da carne moída crua sob refrigeração adicionada de antioxidante, observou que a concentração de antioxidante na carne não influenciou nos valores de croma, tendo seus valores estatisticamente iguais aos do controle.

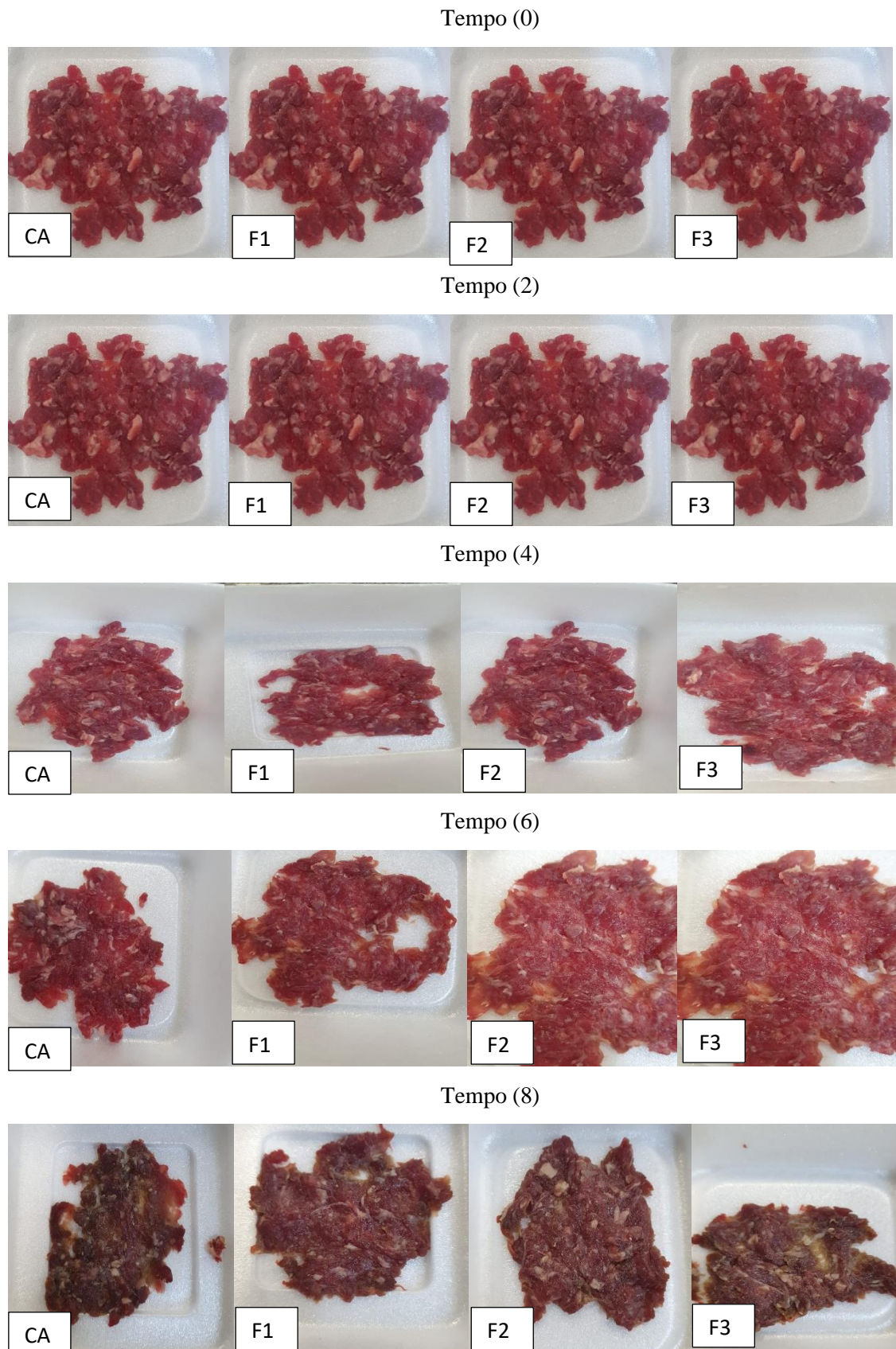
O ângulo hue é definido como iniciando no eixo +a e é expresso em graus, sendo que  $0^\circ$  corresponde a + a (vermelho),  $90^\circ$  corresponde a + b (amarelo),  $180^\circ$  corresponde a - a (verde) e  $270^\circ$  corresponde a - b (azul) (Tibola *et al.*, 2005).

Nota-se na figura 13 para a variável hue, que os tratamentos, tenderam tonalidade vermelhada com valores variando de 30,14 a 25,16. Os tratamentos apresentaram uma tendência de diminuição na intensidade da cor vermelha ( $h^*$ ) durante o armazenamento, com poucas variações significativas entre os tratamentos, até o terceiro dia de armazenamento todos os tratamentos tiveram o mesmo comportamento não diferindo estatisticamente ( $p < 0,05$ ) entre si, a partir do quarto dia, todos os tratamentos diferiram-se, sendo o tratamento F3 (com adição de 3mg de hidrolisado proteico/g de carne moída) apresentando o melhor valor (25,26) em relação aos demais tratamentos.

No contexto geral observou-se um impacto na coloração principalmente no que se refere ao tratamento (F3) com maior adição de hidrolisado proteico, mostrando uma tendência maior ao escurecimento.

As imagens presentes na figura 14 demonstra visualmente a coloração dos tratamentos de acordo com o tempo de armazenamento, pode-se observar a mudança visual na coloração da carne bovina moída com o passar do tempo. As análises estatísticas para os parâmetros de cor de maneira geral, mostraram que as mudanças na coloração da carne foram significativas, e que a utilização do hidrolisado proteico minimizou os efeitos da oxidação em sua coloração.

**Figura 14.** Fotografia das amostras da carne bovina moída com adição de diferentes concentrações de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia durante o período de armazenamento a 4°C.



CA = tratamento sem adição de hidrolisado proteico (controle); F1 = tratamento com 1mg/g: 1 mg de hidrolisado proteico/g de carne bovina moída; F2= tratamento com 2 mg/g: 2mg de hidrolisado proteico/g de carne bovina moída; F3= tratamento com 3mg/g: 3 mg de hidrolisado proteico/g de carne bovina moída. Fonte: Autora (2024).

Os antioxidantes naturais são substâncias com a capacidade de retardar ou inibir a oxidação lipídica que pode ser extraído de alimentos, ou de plantas desde que consideradas seguras para ingestão. Os hidrolisados proteicos derivados de fontes vegetais tornaram-se uma fonte natural com potencial para aplicação na conservação de alimentos devido a sua capacidade antioxidante. Estes podem ser incorporados em produtos de origem animal e/ou vegetal para aumento da vida útil, substituindo o uso de aditivos sintéticos (Girgih et al., 2015; Wang et al., 2016). Assim, a aplicação de antioxidantes naturais em carne moída torna-se interessante por ser um produto amplamente consumido com elevado teor de lipídeos e submetido somente à refrigeração durante o armazenamento.

#### **5.6.7 Análise de cor na carne de filé de tilápia moída com adição de diferentes concentrações de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia**

A mioglobina é o principal pigmento responsável pela coloração marrom-avermelhada da carne do peixe e de outros animais vertebrados e invertebrados. A hemoglobina também presente no músculo escuro, porém em pequenas concentrações, pouco contribui para a cor da carne, exceto nos casos em que haja rupturas dos vasos sanguíneos com acúmulo de sangue nos tecidos musculares (Maia *et al.*, 1999).

Quanto maior a porcentagem de mioglobina + hemoglobina na carne, mais escuro é carne do peixe, refletindo um menor valor de L\*, uma vez que o máximo valor de L\* (luminosidade) é 100, e representa uma perfeita reflexão difusa (branco), enquanto que o valor mínimo é zero e constitui o preto ( De Mendonça *et al.*, 2017). Conforme Moura (2021), peixes de carne magra têm poucos pigmentos sanguíneos, o que resulta em mais luz refletida e, conseqüentemente, em maior luminosidade.

Na avaliação da cor realizada na carne moída de filé de tilápia, (figura 15A) observou-se que não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) nos tratamentos durante os tempos 0 e 2 para o parâmetro L\*. A partir do dia 4, observou-se uma diminuição significativa durante o período de armazenamento em todos os tratamentos, exceto no PF3 os valores médios de L\* variaram

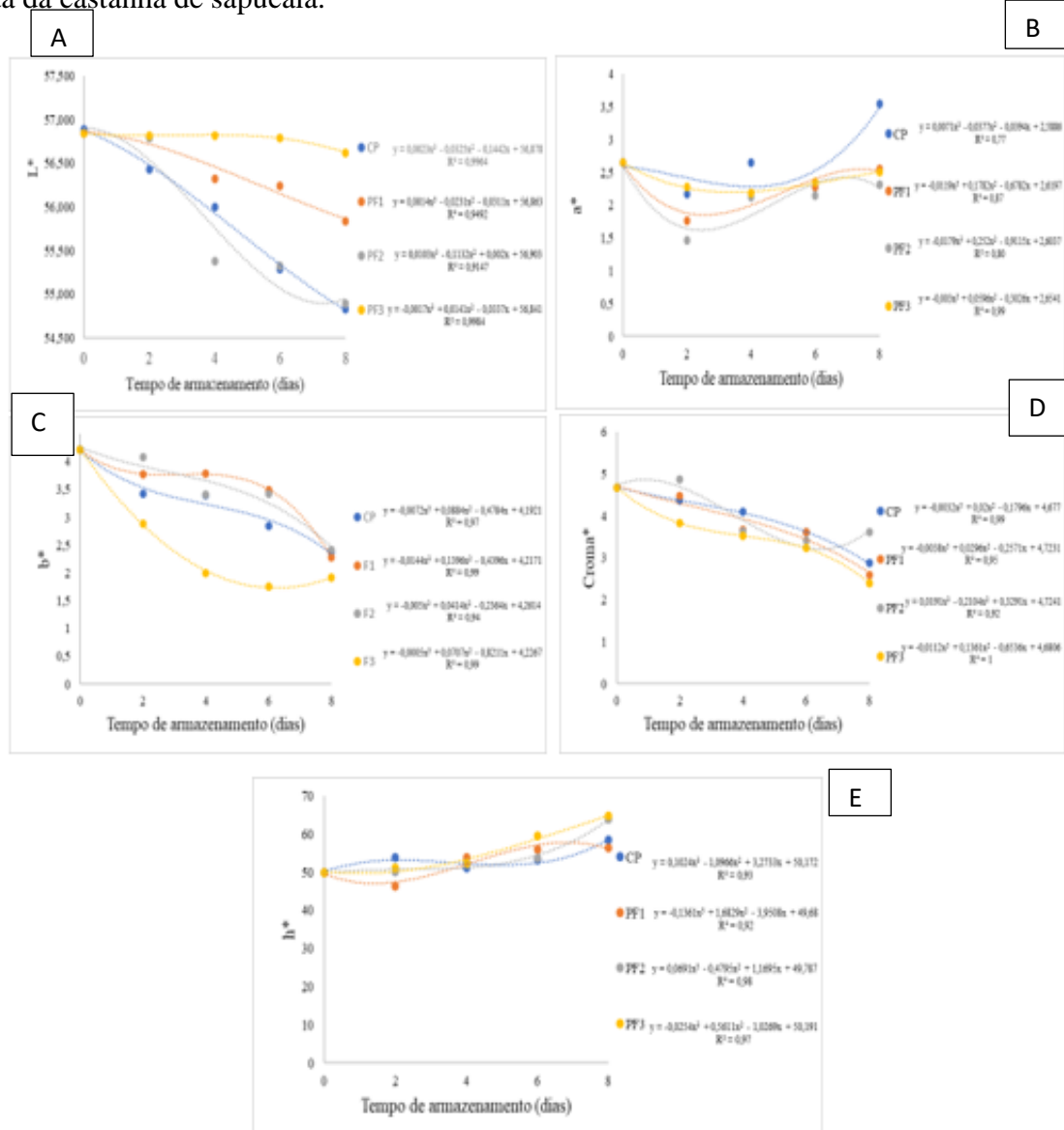
de 56,89 a 54,83. O tratamento controle apresentou os menores valores para  $L^*$ , a partir do dia 4, sendo assim apresentando uma coloração mais escura que os demais tratamentos. O PF3 não apresentou diferença ( $p < 0,05$ ) durante o período de armazenamento, diferenciando-se dos demais tratamentos, e apresentando uma maior estabilidade em sua coloração. Sendo assim a incorporação do hidrolisado em na concentração de 3mg de hidrolisado/ grama de carne de tilápia moída obteve influência na coloração na estabilidade da coloração da carne.

Os valores relatados neste trabalho, para o cor da carne moída de filé de tilápia estão de acordo com os obtidos por Brito *et al.* (2023) que ao trabalharam com carne mecanicamente separada (CMS) de tilápia do Nilo utilizando extrato de alecrim como conservante natural, relataram valores para  $L^*$  variando de 50,57 a 59,16.

Observou-se no parâmetro  $a^*$  (figura 15B) que após 4 dias de armazenamento, houve uma tendência ao aumento dos valores de  $a^*$  para todos os tratamentos, sendo que o tratamento controle apresentou maior elevação dos valores, diferenciando-se estatisticamente dos demais no 8º dia de armazenamento.

Segundo Ribeiro *et al.* (2007) a coordenada  $a^*$  varia do vermelho ( $+a^*$ ) ao verde ( $-a^*$ ), desta forma, os valores observados neste estudo, bem próximos ao eixo 0, demonstram uma coloração acinzentada, tal característica pode ser atribuída ao maior teor de lipídios presentes na carne, provenientes de fatores intrínsecos (sexo, idade) ou extrínsecos (meio de criação e alimentação) à biologia do pescado.

**Figura 15.** Estão representados os valores referentes as variáveis de cor L, a\*, b\*, cromas e h\* da carne de tilápia moída, com adição de diferentes concentrações de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia.



Gráficos A: variável luminosidade L\*; B: variável a\*; C: variável b\*; D: variável cromas; E: variável hue, para carne de tilápia moída com adição de diferentes concentrações de hidrolisado. Fonte: Autora (2024).

O parâmetro ( $b^*$ ) varia de -60 (azul) a +60 (amarelo). Observou-se uma redução dos valores para todos os tratamentos analisados no decorrer do tempo de armazenamento, no entanto observou-se que o tratamento com maior concentração de hidrolisado apresentou os menores valores de  $b^*$ .

De acordo com de Lima *et al.* (2017) a oxidação do pigmento pode estar relacionada ao processo de oxidação, uma vez que os radicais livres formados a partir de ácidos graxos



podem reagir com os átomos de ferro da mioglobina e, assim, alterar a cor dos alimentos durante seu armazenamento.

Para os valores de croma pode-se observar (figura 15D) uma redução no decorrer do tempo de armazenamento para todos os tratamentos, com exceção do tratamento com adição de 2 mg de hidrolisado que no 8º dia de armazenamento apresentou uma ascensão dos valores. Cabe destacar que o tratamento com maior adição de hidrolisado apresentou o menor valor médio de croma.

De acordo com Lyra *et al.* (2023), a cromaticidade (C) varia de positivo (brilhante) à negativo (fosca) e de 0 = neutro à 30 = fluorescente. Observa-se que não houve diferença ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos, todos os tratamentos tenderam ao neutro.

Para o parâmetro  $h^*$  observou-se, diferença estatisticamente ( $p < 0,05$ ) em todos os tratamentos em relação ao tempo. E todos os tratamentos diferenciaram entre si. Os tratamentos PF2 e PF3 obtiveram valores de  $h^*$  mais elevados, 64 a 64,5 respectivamente, indicando que a coloração da carne de tilápia moída com a adição de hidrolisado proteico em maiores concentrações tenderam para uma coloração mais amarelada.

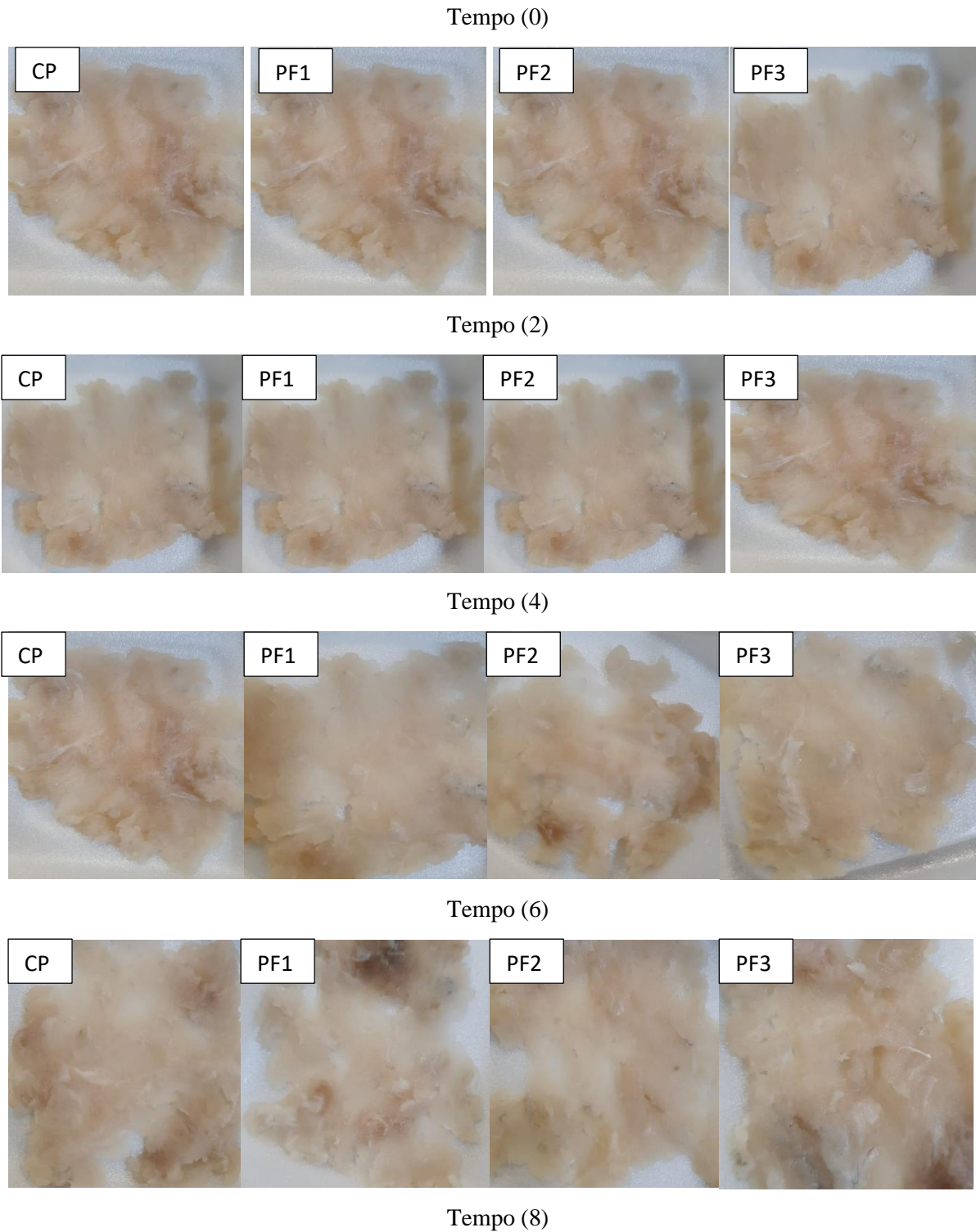
Segundo Governici *et al.* (2023), o valor de  $h^*$  indica a tonalidade ou o matiz da cor de um alimento. Para pescado, valores de  $h^*$  mais baixos geralmente indicam tonalidades mais "vermelhas", enquanto valores mais altos indicam tonalidades mais amarelas.

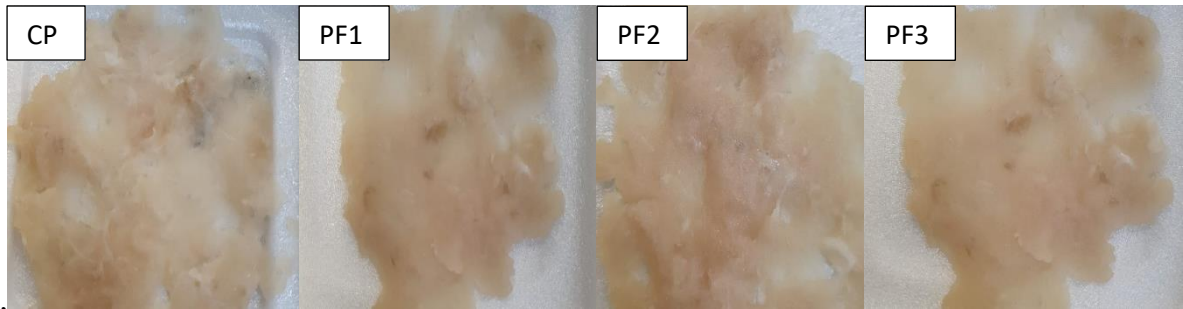
Em um contexto geral pode-se observar que a adição do hidrolisado proteico, influenciou na coloração da carne, isso pode estar ligado a algum tipo de interação entre o hidrolisado e a composição da matriz alimentar, segundo Mitsumoto *et al.* (2005) hidrolisados de origem vegetal causam descoloração, pela presença de taninos.

A figura 16 demonstra a evolução da coloração da carne de tilápia ao longo do período de armazenamento sob refrigeração a  $4 \pm 2^\circ\text{C}$ .

O consumo de um determinado alimento pela população, nem sempre está relacionado aos critérios que trazem benefícios à saúde. Este normalmente é determinado por sua aparência, sobretudo a cor e o impacto visual causado pela cor de um alimento sobrepõe-se a todos os outros, o que faz desse atributo um dos mais importantes na comercialização de alimentos constituindo assim, no primeiro critério de aceitação ou rejeição de um produto (Sedlacek-Bassani *et al.*, 2020).

**Figura 16.** Fotografias das amostras da carne de tilápia moída com adição de diferentes concentrações de hidrolisado proteico de torta da castanha de sapucaia durante o período de armazenamento a 4°C.





CP = tratamento sem adição de hidrolisado proteico (controle); PF1 = tratamento com 1mg/g: 1 mg de hidrolisado proteico/g de carne de tilápia moída; PF2= tratamento com 2 mg/g: 2mg de hidrolisado proteico/g de carne de tilápia moída; PF3= tratamento com 3mg/g: 3 mg de hidrolisado proteico/g de carne de tilápia moída. Fonte: Autora (2024).

As imagens presentes na (figura 16) demonstram visualmente a coloração dos tratamentos de acordo com o tempo de armazenamento, pode-se observar a mudança visual na coloração da carne de tilápia moída com o passar do tempo. As análises estatísticas para os parâmetros de cor de maneira geral, mostraram que as mudanças na coloração da carne de tilápia moída foram significativas, e que a utilização do hidrolisado proteico minimizou os efeitos da oxidação na coloração da carne.

Quando adicionados aos alimentos, os antioxidantes minimizam a rancificação, retardam a formação de oxidação tóxica nos produtos, mantêm a qualidade nutricional e aumentam a vida útil (Mariod *et al.*, 2009). A tendência mundial está voltada para o consumo de produtos naturais e produzidos sem danos ao meio ambiente. A indústria alimentícia deverá acompanhar esta tendência de mercado, procurando estabelecer estratégias de reposicionamento dos produtos de acordo com as necessidades do público consumidor (De Souza Moraes *et al* 2023).

## 6. CONCLUSÃO

A composição nutricional da castanha de sapucaia mostra um potencial nutritivo promissor pelo seu elevado teor de proteínas e lipídios. A torta de sapucaia também apresentou elevado percentual de proteína e alto teor de minerais como cálcio, ferro e magnésio.

A avaliação do perfil lipídico revelou elevados teores de ácido linoléico, um importante ácido graxo essencial, e um alto teor de ácidos graxos monoinsaturados indicado um perfil lipídico favorável a saúde cardiovascular.

A melhor condição para produção do hidrolisado proteico da castanha de sapucaia com utilização da enzima bromelina baseado no percentual de grau de hidrólise foi obtida com a concentração enzimática de 1,0 % (E/S) na temperatura de 60 °C por 120 minutos.

Os hidrolisados proteicos mostraram ter capacidade de inibir os radicais livres e, ainda, capacidade de redução do complexo férrico/ferroso. O hidrolisado proteico da castanha de sapucaia possui potencial para ser utilizado como antioxidante e conservante natural em alimentos. Os níveis de TBARS e índice de peróxido nos tratamentos com adição de hidrolisado mostraram-se eficiente ao longo do armazenamento obtendo valores significativamente menores que a formulação controle.

A adição do hidrolisado no tratamento F3, com concentração de 3mg de hidrolisado proteico/ g de amostra, influenciou na coloração das matrizes alimentares ao longo do tempo.

Sendo assim a utilização da torta da castanha de sapucaia se mostra como uma alternativa viável para elaboração de hidrolisados proteicos com potencial antioxidante para ser incorporado em produtos alimentícios.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, D. C. A.; FIGUEIREDO, K. C. DE S. BROMELAIN SEPARATION AND PURIFICATION PROCESSES FROM PINEAPPLE EXTRACT. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v. 36, n. 2, p. 1029–1039, jun. 2019.
- AHMED, R.; CHUN, B.S. Subcritical water hydrolysis for the production of bioactive peptides from tuna skin collagen. *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 141, n. 9 p. 88-96, 2018.
- ALEXANDRE, Ana Cláudia Silveira et al. Effect of natural and synthetic antioxidants on oxidation and storage stability of mechanically separated tilapia meat. *LWT*, v. 154, p. 112679, 2022.
- AMARAL, Ana Beatriz; SILVA, Marcondes Viana da; LANNES, Suzana Caetano da Silva. Lipid oxidation in meat: mechanisms and protective factors—a review. *Food Science and Technology*, v. 38, p. 1-15, 2018.
- ARAUJO, F.M.L.; DA SILVA, L.R.B.; DE SOUZA, M.L.R. Modulação dos níveis de insulina pelo consumo de carboidratos e os efeitos no tecido adiposo durante o emagrecimento: uma revisão. *RBONE-Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento*, v. 16, n. 100, p. 200-216, 2022.
- AYODELE, O. B, ADEBANJO A. Effect of preprocessing techniques on the physicochemical composition, functional properties, and fatty acid profile of malabar chestnut (*Pachira glabra* Pasq) seeds. *ACS Food Science & Technology*, v. 2, n. 1, p. 84-91, 2022.
- BABJI, A. S. A review of fish-derived antioxidant and antimicrobial peptides: Their production, assessment, and applications. *Peptides*, v. 33, n. 1, p. 178-185, 2012.
- BARBOZA, L P *et al.* Composição nutricional e atividade antioxidante de farinhas de castanha do baru, castanha de caju e castanha-do-brasil. *Higiene alimento*, v.14 p. 1376-1380, 2019.
- BARRETO, K. G *et al.* Perfil fitoquímico e avaliação da atividade antioxidante e citotóxica de um espécime de *Lecythis pisonis* Cambess.(*Lecythidaceae*). *Revista Virtual de Química*, v. 12, n. 6, p. 1511-1528, 2020.
- BARRETO, N. M. B. Teores de compostos fenólicos, minerais, fitato e fibra alimentar em feijões pretos (*Phaseolus vulgaris* L.) orgânico e convencional. [s.l.] Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2017.
- BERIAIN, María J. et al. Improvement of the functional and healthy properties of meat products. In: **Food quality: Balancing health and disease**. Academic Press, 2018. p. 1-74.
- BERNARDI, Delma Pereira da Silva. Prospecção da utilização de hidrolisado proteico de castanha-do-brasil no enriquecimento nutricional de biscoitos com adição de farinha de pupunha.2024.84f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Tocantins, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Palmas, 2024.
- BRASIL. **Instrução Normativa - IN N° 726 de 1° de julho 2022**.Diário Oficial da União, , 2022. Disponível em: <<http://antigo.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/487512>>

BRITO, Daniella et al. perfil microbiológico de peixes nativos e da água de campos e lagos da baixada maranhense, maranhão, brasil. **Revista Saúde e Meio Ambiente**, v. 15, n. 2, p. 49-64, 2023.

CAC/RPC. Code of practice for the prevention and reduction of aflatoxin contamination in tree nuts. CAC/RCP 59 2005, rev. 1 2006. 9pg. Site: [http://www.codexalimentarius.net/download/standards/10221/CXP\\_059e.pdf](http://www.codexalimentarius.net/download/standards/10221/CXP_059e.pdf). Codex Alimentarius. Acesso: 18.03.2024.

CARVALHO, I.M.M *et al.* Caracterização química da castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess) da região da zona da mata mineira. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 6, p. 971-977, 2018.

CARVALHO, José Filipe da Silva Moura Milheiro de. **Efeito do período em vácuo e do tempo de prateleira sobre a estabilidade oxidativa da carne de bovino (*longissimus lumborum*)**. 2019. Tese de Doutorado. Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária.

CARVALHO, M. G. DE. Barras de cereais com amêndoas de chichá, sapucaia e castanhado-gurguéia, complementadas com casca de abacaxi. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2008.

CHAVES, P *et al.* Caracterização físico-química de farinhas não tradicionais e sua aplicação em barras de cereais. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 9, p. e60010918415-e60010918415, 2021.

CHEI, Choy-Lye *et al.* Serum fatty acid and risk of coronary artery disease—Circulatory risk in communities study (CIRCS)—. **Circulation journal**, v. 82, n. 12, p. 3013-3020, 2018.

CHEN, Qingmin et al. Characterization of lipid oxidation process of beef during repeated freeze-thaw by electron spin resonance technology and Raman spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 243, p. 58-64, 2018.

CHIN, Y. L.; CHAI, K. F.; CHEN, W. N. Upcycling of brewers' spent grains via solid-state fermentation for the production of protein hydrolysates with antioxidant and technofunctional properties. **Food Chemistry**, v.13, e100184, 2022

CRUZ, J. N. **Hidrolisado proteico da semente de cupuaçu como fonte de peptídeos inibidores da enzima conversora da angiotensina I**. 2014. 123 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência dos Alimentos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015. Disponível em:[https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9131/tde-29042015100916/publico/Juliana\\_Nunes\\_da\\_Cruz\\_DO\\_corrigeida.pdf](https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9131/tde-29042015100916/publico/Juliana_Nunes_da_Cruz_DO_corrigeida.pdf). Acesso em: 12 abr. 2023

CRUZ, M. B. *et al.* Buriti (*Mauritia Flexuosa* L.) pulp oil as an immunomodulator against enteropathogenic *Escherichia coli*. **Industrial Crops and Products**, v. 149, n.30 p. 112330, 2020. DOI: 10.1016/j.indcrop.2020.112330

DA CUNHA GOMES, R *et al.* Ação enzimática da bromelina e da actinidina na gelatina da Terrine de Frutas. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 11, p. 93348-93352, 2020.

DALA-PAULA, B. M.; GOZZI, W. P.; KRINGEL, D.; PELOSO, EDUARDO DE FIGUEIREDO; CUSTODIO, F. B. *Bruno Martins Dala Paula 1a Edição Alfenas-MG*. 1.ed. Alfenas - MG: Bruno Martins Dala Paula, 2021

- DAMODARAN, S; LI, Y. A two-step enzymatic modification method to reduce immunoreactivity of milk proteins. **Food Chemistry**, v. 237, n. 14 p. 724-732, 2017.
- DE ANDRADE MESQUITA, J. *et al.* Caracterização físico-química e perfil lipídico de pré-mistura com óleo de buriti para aplicação em produtos cárneos. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 6, p. e8111628844-e8111628844, 2022.
- DE OLIVEIRA, M. S .R *et al.* Utilização da carne mecanicamente separada de frango para a produção de hidrolisados proteicos a partir de diferentes enzimas proteolíticas. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 291-302, 2014.
- DE SMET, Stefaan; VOSSEN, Els. Meat: The balance between nutrition and health. A review. **Meat Science**, v. 120, p. 145-156, 2016.
- DE SOUZA MORAIS, Williams Raphael *et al.* Green corrosion inhibitors based on plant extracts for metals and alloys in corrosive environment: a technological and scientific prospection. **Applied Sciences**, v. 13, n. 13, p. 7482, 2023.
- DEMOLINER, F *et al.* Improving the nutritional and phytochemical compounds of a plant-based milk of sapucaia nut cake using block freeze concentration. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 55, n. 8, p. 3031-3042, 2020.
- DEMOLINER, F *et al.* Sapucaia nut (*Lecythis pisonis* Cambess) and its by-products: A promising and underutilized source of bioactive compounds. Part II: Phenolic compounds profile. **Food Research International**, v. 112, n. 10 p. 434-442, 2018.
- DEMOLINER, F. *et al.* Sapucaia nut (*Lecythis pisonis* Cambess) and its by-products: A promising and underutilized source of bioactive compounds. Part I: Nutritional composition and lipid profile. **Food Research International**, v. 108, n. October 2017, p. 27–34, 2018
- DENADAI, S. M. S *et al.* In vitro digestibility of globulins from sapucaia (*Lecythis pisonis* Camb.) nuts by mammalian digestive proteinases. **Food Science and Technology**, v. 27, n. 3, p. 535-543, 2007
- DINICOLANTONIO, J. J.; OKEEFE, James. Importance of maintaining a low omega-6/omega-3 ratio for reducing platelet aggregation, coagulation and thrombosis. **Open heart**, v. 6, n. 1, p. e001011, 2019.
- DOMÍNGUEZ, Rubén *et al.* A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. **Antioxidants**, v. 8, n. 10, p. 429, 2019.
- DOMÍNGUEZ, Rubén *et al.* Active packaging films with natural antioxidants to be used in meat industry: A review. **Food research international**, v. 113, p. 93-101, 2018.
- DOS SANTOS JÚNIOR, Luís Carlos Oliveira *et al.* Desenvolvimento de hambúrguer de carne de ovinos de descarte enriquecido com farinha de aveia. **Ciência Animal Brasileira/Brazilian Animal Science**, v. 10, n. 4, p. 1128-1134, 2009.
- DOS SANTOS, A. P *et al.* **Caracterização e avaliação da qualidade de sopas desidratadas elaboradas com farinha de batata durante o tempo de armazenamento.** 2010. 96 f. Tese (Doutorado em Ciência e tecnologia de alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2010.

DOS SANTOS, O. V *et al.* Chemical, chromatographic-functional, thermogravimetric-differential and spectroscopic parameters of the sapucaia oil obtained by different extraction methods. **Industrial crops and products**, v. 132, n. 15 p. 487-496, 2019

DUARTE, E.L.; CARLOS, L. A.; RODRIGUES, C.G.; ANDRADE, R.M.; OLIVEIRA, K.G. Influência da liofilização sobre os carotenoides de frutos do Cerrado e comportamento higroscópico dos produtos Liofilizados. **Perspectiva Online: biologia & saúde**, Campos dos Goytacazes, v. 23, n. 7, p. 22–33, 2017.

FENG, H. et al. Applying blockchain technology to improve agri-food traceability: A review of development methods, benefits and challenges. **Journal of cleaner production**, v. 260, n. 3, p. 121031, 2020.

FERREIRA, M.S.L *et al.* Formulation and characterization of functional foods based on fruit and vegetable residue flour. **Journal of food science and technology**, v. 52, n. 2, p. 822-830, 2015.

FREITAS, J. B.; NAVES, M. M. V. Composição química de nozes e sementes comestíveis e sua relação com a nutrição e saúde. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 269-279, 2010.

GHARIBZAHEDI, S. M. T.; JAFARI, S. M. The importance of minerals in human nutrition: Bioavailability, food fortification, processing effects and nanoencapsulation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 62 n. 20, p. 119-131, 2017.

GLIŠIĆ, Milica et al. The Effects of Sunflower and Maize Crop Residue Extracts as a New Ingredient on the Quality Properties of Pork Liver Pâtés. **Foods**, v. 13, n. 5, p. 788, 2024.

GOSWAMI, B *et al.* Otimização da hidrólise enzimática de proteínas derivadas de *P. ostreatus* por meio de Metodologia de Superfície de Resposta e avaliação de qualidade nutricional e funcional de hidrolisados da proteína do cogumelo. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 25, n. 4 p. 220-229, 2022.

GOVERNICI, Vitor Lopes. Análise sensorial de filé de tilápia-do-nilo sem pele e defumado. 2024. 23 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Zootecnia) - Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Ilha Solteira, 2024

GREBENTEUCH, Sandra et al. Formation of secondary and tertiary volatile compounds resulting from the lipid oxidation of rapeseed oil. **Foods**, v. 10, n. 10, p. 2417, 2021.

HALIM, N. R.A.; SARBON, N. M. A response surface approach on hydrolysis condition of eel (*Monopterus Sp.*) protein hydrolysate with antioxidant activity. **International Food Research Journal**, v. 24, n.3, p. 1081-1093, 2017.

HASHIMOTO, L. L. **Suplementação de minerais por meio da castanha-do-brasil pode modular a microbiota intestinal de indivíduos saudáveis**. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos). Universidade de São Paulo. São Paulo, 2019. 135p.

HAU, E. H *et al.* Transformation of oil palm biomass into value-added components. **Reviews in Agricultural Science**, v. 10, n. 22 p. 36-55, 2022.

HENCHION, M. et al. Trends for meat, milk and egg consumption for the next decades and the role played by livestock systems in the global production of proteins. **Animal**, v. 15, p. 100287, 2021.



HORAKOVA, Jana et al. An Assessment of Blood Vessel Remodeling of Nanofibrous Poly ( $\epsilon$ -Caprolactone) Vascular Grafts in a Rat Animal Model. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 14, n. 2, p. 88, 2023.

INC - International Nut and Dried Fruit Council Foundation. **Nut And Dried Fruit Global Statistical Review 2017/2018**. Espanha: p. 1-76. 2017.

INTIQUILLA, A *et al.* Production of antioxidant hydrolyzates from a *Lupinus mutabilis* (Tarwi) protein concentrate with alcalase: Optimization by response surface methodology. **Natural Product Communications**, v. 13, n. 6, p. 1934578X1801300626, 2018.

KARIMI, N *et al.* Isolation and purification of bioactive peptides from yogurt whey: Application as a natural preservative in a model food system. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, n. 12, p. e16086, 2021.

KAUR, H.; GILL, P. K. Microbial Enzymes in Food and Beverages Processing. *In: Engineering Tools in the Beverage Industry*. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 255–282.

KENDALL, C. W. C *et al.* The glycemic effect of nut-enriched meals in healthy and diabetic subjects. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 21, n. 8 p. S34-S39, 2011.

KUGLER, Lucas Vinícius et al. Extração assistida por banho ultrassônico de óleo de sementes de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) utilizando etanol como solvente. **Brazilian Journal of Development**, v. 9, n. 9, p. 27383-27390, 2023.

KUMAR, S.; PEDERSEN-WISMER, J.; CASPERSEN, C. Effect of raw materials deboning methods of chemical additives on microbial quality of mechanically deboned poultry meat during frozen storage. **Journal of Food Science and Technology**, London, v. 23, n. 4, p. 217-220, 1986

LAFARGA, T *et al.* Characterization of functional properties of proteins from Ganxet beans (*Phaseolus vulgaris* L. var. Ganxet) isolated using an ultrasound-assisted methodology. **Food Science and Technology**, v. 98, n. 20 p. 106-112, 2018.

LIMA, Cristiane Teles et al. New breakfast cereal developed with sprouted whole ryegrass flour: Evaluation of technological and nutritional parameters. **Foods**, v. 12, n. 21, p. 3902, 2023. LIMA, Juliana dos Santos. Fermentação em estado sólido de resíduos do processamento de frutas: acerola (*Mapighia glabra* L.), mangaba (*Harconia speciosa*) e graviola (*Annona muricata*) para a obtenção de compostos bioativos. 2014.

LIMA, Simone Kelly Rodrigues et al. The *Platonia insignis* Mart. as the promising Brazilian ‘Amazon Gold’: The state-of-the-art and prospects. **Agriculture**, v. 12, n. 11, p. 1827, 2022.

LOEFFLER, Myriam et al. Usage of in situ exopolysaccharide-forming lactic acid bacteria in food production: Meat products—A new field of application?. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 19, n. 6, p. 2932-2954, 2020.

LOPES, Beatriz de Oliveira. Castanhas da Amazônia: composição nutricional e benefícios para a saúde. 2021. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2021

LOPES, C. B *et al.* **Composição física e físico-química de frutos da Terminalia catappa Linn variedades roxa e amarela e de suas amêndoas.** Trabalho de Conclusão de Curso ( Bacharelado em Gastronomia), Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2021.23p.

LÓPEZ-GARCÍA, Guadalupe *et al.* Antioxidant and antimicrobial peptides derived from food proteins. **Molecules**, v. 27, n. 4, p. 1343, 2022.

LORENZO, José M.; GÓMEZ, María. Shelf life of fresh foal meat under MAP, overwrap and vacuum packaging conditions. **Meat science**, v. 92, n. 4, p. 610-618, 2012. LOTTENBERG, A.M.P. Importância da gordura alimentar na prevenção e no controle de distúrbios metabólicos e da doença cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, n. 33 p. 595-607, 2009.

MACHADO, M. R. *et al.* Aspectos Silviculturais da Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. e Bonpl.). **Biotaamazonia**, v. 7, n. 3, p. 41-44, 2017.

MADHU, Madhujá *et al.* Bioactive peptides from meat: Current status on production, biological activity, safety, and regulatory framework. **Chemosphere**, v. 307, p. 135650, 2022.

MADRUGA, K. M. **Enriquecimento de pão de trigo e de arroz com peptídeos bioativos da proteína de chia.** 2018. 108 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Alimentos). Universidade Federal do Rio Grande, 2018. Disponível em: <http://repositorio.furg.br/bitstream/handle/1/8424/Karina%20Medeiros%20Madruga.pdf?sequence=1>. Acesso em: 11 jul. 2023

MAGALHÃES, A. C.C. **Extração e caracterização do óleo da amêndoa de sapucaia (*Lecythis pisonis*).** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2018. 68p.

MARTIN, C. A., A, V. V., Ruiz, M. R., Visentainer, J.E. L., Matshushita, M., Souza, N. E., Visentainer, J. V. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, v.19, n. 6, p. 761-770, 2006.

MATIUCCI, Marcos Antônio *et al.* Aproveitamento de resíduos da filetagem de tilápia na produção de patê com adição de óleo essencial de orégano. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, p. e59510213059-e59510213059, 2021.

MATOS, Â. P; M, A. C; M, E. H. S. Polyunsaturated fatty acids and nutritional quality of five freshwater fish species cultivated in the western region of Santa Catarina, Brazil. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 22, n.35 p. e2018193, 2019.

MATTJE, Leide Graciela Blanco. Avaliação do óleo essencial e extrato supercrítico de gengibre como antioxidantes naturais em fishburguer de tilápia armazenado refrigerado. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2018. 68p.

MEI, Lin *et al.* Role of *Lactobacillus plantarum* with antioxidation properties on Chinese sausages. **LWT**, v. 162, p. 113427, 2022.

MICHA, R *et al.* Association between dietary factors and mortality from heart disease, stroke, and type 2 diabetes in the United States. **Jama**, v. 317, n. 9, p. 912-924, 2017.

MINIGHIN, Elaine Carvalho *et al.* Composição centesimal, perfil de ácidos graxos e efeitos da digestão in vitro sobre o teor de minerais, compostos fenólicos e atividade antioxidante de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) roxo e branco. 2019.

- MITSUMOTO, Mitsuru et al. Addition of tea catechins and vitamin C on sensory evaluation, colour and lipid stability during chilled storage in cooked or raw beef and chicken patties. **Meat science**, v. 69, n. 4, p. 773-779, 2005.
- MOOSMANN, B; BEHL, C. Secretory peptide hormones are biochemical antioxidants: structure-activity relationship. **Molecular pharmacology**, v. 61, n. 2, p. 260-268, 2002.
- MOREIRA, Joana Inês Pereira. Estabilização da cor em filete afiambrado com redução de nitrito com extratos de beterraba. Implicações no comportamento de *Listeria monocytogenes* e microbiota deteriorativa. 2023.
- MOURA, Greika Ferreira; SOUZA, COSS; ALMEIDA FILHO, E. S. Salga em pescado: revisão/salting in fish. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 12, p. 121831-121849, 2021.
- MRABET, A.; J.A. A.; G, B. R.; R, R.; Sindic, M. Date seeds: a promising source of oil with functional properties. **Foods**, v.2, n.9, p. 787, 2020. <https://doi.org/10.3390/foods9060787>
- MULEY, A. B *et al.* Production of biologically active peptides by hydrolysis of whey protein isolates using hydrodynamic cavitation. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 71, n. 16 p. 105385, 2021
- NANDA, R. F.; BAHAR, R.; SYUKRI, D.; THU, N. N. A.; KASIM, A. REVIEW: APPLICATION OF BROMELAIN ENZYMES IN ANIMAL FOOD PRODUCTS. *Andalasian International Journal of Agricultural and Natural Sciences (AIJANS)*, v. 1,n. 01, p. 33–44, 6 out. 2020.
- NEVES, R. A. M.; DE MIRA, N. V. M.; MARQUEZ, U. M. Caracterização de hidrolisados enzimáticos de pescado. **Food Science and Technology**, v. 24, p. 101-108, 2004.
- NGUYEN, T. M *et al.* Formulação e avaliação da qualidade do suplemento em pó de sopa de cogumelo ostra pérola com alguns tipos de leguminosas e vegetais. **Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria** , v. 19, n. 4, pg. 435-443, 2020.
- NIKHITA, R.; SACHINDRA, N. M. Optimization of chemical and enzymatic hydrolysis for production of chicken blood protein hydrolysate rich in angiotensin-I converting enzyme inhibitory and antioxidant activity. **Poultry Science**, v. 100, n. 5, p. 101047, maio 2021
- NOMAN, A *et al.* Influence of enzymatic hydrolysis conditions on the degree of hydrolysis and functional properties of protein hydrolysate obtained from Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) by using papain enzyme. **Process Biochemistry**, v. 67, n.4 p. 19-28, 2018.
- ORDÓÑEZ, J. A. et al. Carboidratos. **Tecnologia de alimentos: componentes dos alimentos e processos. Porto Alegre: Artmed**, v. 1, n. 5, p. 63-80, 2005.
- PAGLIA, E. B; VOGEL, C; KEMPKA, A. P. Efeito da temperatura, ph e agitação no grau de hidrólise de plasma suíno preparado com flavourzyme®. **Simpósio em Saúde e Alimentação**, n. 22 v. 3, p. 103-110 2019.
- PAN, Mingfei et al. Advances on food-derived peptidic antioxidants—A review. **Antioxidants**, v. 9, n. 9, p. 799, 2020.
- PAS. Manual de segurança e qualidade para a cultura da castanha-do-brasil. Brasília, DF: CampoPAS, 62p., 2004. (Série Qualidade e Segurança dos Alimentos).

PEIXOTO ARAUJO, N. M.; ARRUDA, H. S.; MARQUES, D. R. P.; OLIVEIRA, W. Q. DE; PEREIRA, G. A.; PASTORE, G. M. Functional and nutritional properties of selected Amazon fruits: A review. **Food Research International**, v. 147, n.5. p.106-113, 2021.

PEREIRA, M.C.P.C *et al.* Desenvolvimento de uma formulação do “tipo hambúrguer” de okara com shitake. **Semioses**. Rio de Janeiro, v. 13, n.14 p.14, n.1, 2019.

PÉREZ-GÁLVEZ, Antonio; VIERA, Isabel; ROCA, María. Carotenoids and chlorophylls as antioxidants. **Antioxidants**, v. 9, n. 6, p. 505, 2020.

PÉREZ-JIMÉNEZ, Jara; SAURA-CALIXTO, Fulgencio. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food research international**, v. 39, n. 7, p. 791-800, 2006.

PINTO, R. H. H. *et al.* Extraction of bacaba (*Oenocarpus bacaba*) oil with supercritical CO<sub>2</sub>: Global yield isotherms, fatty acid composition, functional quality, oxidative stability, spectroscopic profile and antioxidant activity. **Grasas y aceites**, v. 69, n. 2, p. e246-e246, 2018.

PREVEDELLO, Maiara Trindade; COMACHIO, Gabrieli. Antioxidantes e sua relação com os radicais livres, e Doenças Crônicas Não Transmissíveis: uma revisão de literatura Antioxidants and their relationship with free radicals, and Chronic Non communicable Diseases: a literature review. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 6, p. 55244-55285, 2021.

RABADÁN, A.; ÁLVAREZ-ORTÍ, M.; GÓMEZ, R., ALVARRUIZ, A.; PARDO, J. E. Optimization of pistachio oil extraction regarding processing parameters of screw and hydraulic presses. **LWT – Food Science and Technology**, v. 83, n 14 p. 79-85, 2017

REBOUÇAS, Lucas de Oliveira Soares *et al.* Diferentes processos de salga na qualidade de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*). **Research, Society and Development**, v. 9, n. 10, p. e1029108251-e1029108251, 2020.

RIOUX, J. D. *et al.* Genomewide search in Canadian families with inflammatory bowel disease reveals two novel susceptibility loci. **The American Journal of Human Genetics**, v. 66, n. 6, p. 1863-1870, 2000.

ROS, E. Nuts and novel biomarkers os cardiovascular disease. **American Journal of Clinical Nutrition, Bethesda**, v. 89, n.20, p. 1649-1656, 2009.

ROSA, Thuanny Lins Monteiro *et al.* Biometry and genetic diversity of paradise nut genotypes (*Lecythidaceae*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 54, p. e00240, 2019.

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

RUFINO, M. do S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. de; MORAIS, S. M. de; SAMPAIO, C. de G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2006a.

RUFINO, M. do S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. de; MORAIS, S. M. de; SAMPAIO, C. de G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica:

determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS<sup>o+</sup>. **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2007b.

SAGAR, Narashans Alok; PAREEK, Sunil; GONZALEZ-AGUILAR, Gustavo A. Quantification of flavonoids, total phenols and antioxidant properties of onion skin: A comparative study of fifteen Indian cultivars. **Journal of food science and technology**, v. 57, p. 2423-2432, 2020.

SAIDI, S. *et al.* Production of interesting peptide fractions by enzymatic hydrolysis of tuna dark muscle by-product using alcalase. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 25, n. 2, p. 251-264, 2016.

SALEH, Ebraheem Abdu Musad et al. Oxidative stress affects the beginning of the growth of cancer cells through a variety of routes. **Pathology-Research and Practice**, p. 154664, 2023.

SÁNCHEZ, A.; VÁZQUEZ, A. Bioactive peptides: A review. **Food Quality and Safety**, v. 1, n. 1, p. 29-46, 2017.

SANFELICE, Cristiane et al. Avaliação do efeito do tempo de desossa sobre a qualidade da carne de peito de matrizes pesadas de descarte. **Acta Scientiarum: Animal Sciences**, p. 77-84, 2010.

SANTANA, G.S.; FILHO, J.G.O.; EGEEA, M.B. Características tecnológicas de farinhas vegetais comerciais. **Revista de Agricultura Neotropical**. Cassilândia-MS, v. 4, n. 2, p. 88-95, 2019.

SANTOS, Gabriella Dalenogare et al. Atividade antioxidante de extrato de soja preta na estabilidade oxidativa e cor de hambúrguer de carne bovina. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Alimentos). Universidade Federal do Rio Grande, 2018. 87p.

SANTOS, T. S. *et al.*, Essential fatty acids in farmed tambaqui (*Colossoma macropomum*) from the Brazilian Amazon Area. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 45, n.8 p.320-329, 2021.

SANTOS-SÁNCHEZ, N. F. *et al.* Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. **Antioxidants**, v. 10, n. 22 p. 1-29, 2019.

SANTOS-SÁNCHEZ, N. Francenia et al. Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. **Antioxidants**, v. 10, p. 1-29, 2019.

SCHEIBER, I. F.; MERCER, J. FB; DRINGEN, R. Metabolism and functions of copper in brain. **Progress in neurobiology**, v. 116, n 17 p. 33-57, 2014.

SEDLACEK-BASSANI, Juliana et al. Spices as natural additives for beef burger production. **Food Science and Technology**, v. 40, p. 817-821, 2020.

SHARMA, Heena et al. Use of various essential oils as bio preservatives and their effect on the quality of vacuum packaged fresh chicken sausages under frozen conditions. **LWT-Food Science and Technology**, v. 81, p. 118-127, 2017.

SILVA, Andressa Medeiros de Mendonça. Efeito antimicrobiano do ozônio no processamento da tilápia do nilo, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). 2015. 75 f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2015.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. *Química Nova*, São Paulo, v.22, p.94- 103, 1999.

SILVA, F.C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes Brasília, DF: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia**; Rio de Janeiro: Embrapa Solos; Campinas: Embrapa Informática Agropecuária, 1999. 370p.

SILVA, L. DE J. DE S. *et al.* O Extrativismo como elemento de desenvolvimento e sustentabilidade na Amazônia: Um estudo a partir das Comunidades Coletoras de CastanhaDo-Brasil em Tefé, AM. **Revista Destaques Acadêmicos**, v. 11, n. 2, p. 168–187, 2019.

SILVA, Sabrina Castro da. Percepções e significados atribuídos à floresta amazônica por pós-graduandos de Manaus-AM. 2017. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciências do Ambiente e Sustentabilidade na Amazônia) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2017.

SIOW, H. L; G, C.Y. Extraction of antioxidative and antihypertensive bioactive peptides from *Parkia speciosa* seeds. **Food chemistry**, v. 141, n. 4, p. 3435-3442, 2013.

SOARES, L. M. D. *et al.* Avaliação do Grau de Hidrólise e da Rotulagem de Suplementos Proteicos à Base de Whey Protein. **Ensaio e Ciência**, v. 25, n.1, p. 55-61, 2021.

SOARES, S. D.; SANTOS, O. V. DOS; NASCIMENTO, F. D. C. A. DO; PENA, R. DA S. A review of the nutritional properties of different varieties and byproducts of peach palm (*Bactris gasipaes*) and their potential as functional foods. *International Journal of Food Properties*, v. 25, n. 1, p. 2146–2165, 31 dez. 2022.

SOUZA, Antonio Carlos Freitas et al. Análises físico-químicas e microbiológicas da carne moída comercializada em açougues de três bairros da Zona Sul de Macapá-Amapá. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 3, p. e182932708-e182932708, 2020.

STEVANATO, F. B; PETENUCCI, M. E; MATSUSHITA, M.; MESOMO, M. C.; SOUZA, N. E., VISENTAINER, J. E. L.; ALMEIDA, V. V. de; VISENTAINER, J. V. Avaliação química e sensorial da farinha de resíduo de tilápias na forma de sopa. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 3, n. 27, p. 567-571, 2007.

SVEINSDÓTTIR, Hildur Inga et al. Effect of antioxidants on the sensory quality and physicochemical stability of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) fillets during frozen storage. **Food Chemistry**, v. 321, p. 126744, 2020.

TARAPOULOUZI, Maria et al. Recent advances in analytical methods for the detection of olive oil oxidation status during storage along with chemometrics, authenticity and fraud studies. **Biomolecules**, v. 12, n. 9, p. 1180, 2022.

TEIXEIRA, E. M. B.; CARVALHO, M. R. B. D.; NEVES, V. A.; LIMA, T. M. A.; PEREIRA, L. A. Caracterização de hambúrguer elaborado com farinha de folhas de Moringa (*Moringa oleífera* Lam.). **Nutrire**, São Paulo, v. 38, n. 3, p. 220-232, 2013.

TEIXEIRA, G. L *et al.* Assessment of subcritical propane, supercritical CO<sub>2</sub> and Soxhlet extraction of oil from sapucaia (*Lecythis pisonis*) nuts. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 133, n. 6 p. 122-132, 2018.

TEIXEIRA, Gerson Lopes et al. Sapucaia nut (*Lecythis pisonis* Cambess.) flour as a new industrial ingredient: Physicochemical, thermal, and functional properties. **Food Research International**, v. 109, n. 8 p. 572-582, 2018.

- ULBRICHT, T.L.V; S, D. Doença cardíaca coronária: sete fatores dietéticos. **A lanceta** , v. 338, n. 8773, pg. 985-992, 1991.
- URAIPOG, C.; ZHAO, J. Rice bran protein hydrolysates exhibit strong in vitro  $\alpha$ -amylase,  $\beta$ -glucosidase and ACE-inhibition activities. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 14 p. 1101-1110, 2015.
- USDA - United States Department of Agriculture. (2017). Agricultural Research Service – ARS, National Genetic Resources Program. Germplasm Resources Information Network (GRIN). National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxonomydetail.aspx?id=21714>.
- USLU, N.; ÖZCAN, M. M. Effect of microwave heating on phenolic compounds and fatty acid composition of cashew (*Anacardium occidentale*) nut and oil. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 18, n. 4 p. 344–347, 2011.
- UUSHONA, Tulimo et al. Perfis de ácidos graxos e vida útil oxidativa da carne de cordeiros alimentados com dietas de terminação contendo farinha de folhas de Acacia mearnsii. **Ciência da Carne**, v. 109190, 2023.
- VALLILO, M. I *et al.* Caracterização química parcial das sementes de *Lecythis pisonis* Camb.(sapucaia). **Acta Amazônica**, v. 28, n. 8 p. 131-131, 1998.
- VALLILO, M. I. *et al.* *Lecythis pisonis* Camb. nuts: oil characterization, fatty acids and minerals. **Food Chemistry**, v. 66, n. 2, p. 197-200, 1999.
- VILLAMIL, O., V, H., S, J.F . Hidrolisados proteicos de vísceras de peixe: produção, aplicações potenciais e propriedades funcionais e bioativas. **Food Chemistry**, v. 112, n. 22 p. 224-335, 2017.
- VYNCKE, W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette, Seifen, Anstrichmittel**, v. 72, n. 12, p. 1084-1087, 1970.
- WANI, A. L.; PARVEEN, N.; ANSARI, M. O.; AHMAD, M. F.; JAMEEL, S.; SHADAB, G. G. H. A. Zinc: An element of extensive medical importance. **Current Medicine Research and Practice**, v. 7, n. 14 p. 90-98, 2017.
- WEN, Chaoting et al. Plant protein-derived antioxidant peptides: Isolation, identification, mechanism of action and application in food systems: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 105, p. 308-322, 2020.
- WITTE, Vernon C.; KRAUSE, Gary F.; BAILEY, Milton E. A new extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values of pork and beef during storage. **Journal of food Science**, v. 35, n. 5, p. 582-585, 1970.
- XIAO, Fan et al. Guidelines for antioxidant assays for food components. **Food Frontiers**, v. 1, n. 1, p. 60-69, 2020.
- XU, D.; GUAN, W.; WU, F.; JIN, Y.; YANG, N.; JIN, Z.; XU, X. Improvement of bakedwheat chips quality by protease-mediated enzymatic hydrolysis of wheat flour. **Food Science and Technology**, v. 157,p. 113043, mar. 2022.

ZAMBIAZI, R.C; LEMOS, M.R. B.; SIQUEIRA, E.M. A.; ARRUDA, S. F.; The effect of roasting on the phenolic compounds and antioxidante potential of baru nuts [*Dipteryxalata* Vog.]. **Food Research International**, v. 48, n. 12 p. 592-597, 2018.

ZEB, Alam. Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods. **Journal of Food Biochemistry**, v. 44, n. 9, p. e13394, 2020.

ZHENG, Z., Li, J., Li, J., SUN, H., LIU, Y. Características físicoquímicas e antioxidantes de hidrolisados protéicos de feijão preto obtidos a partir de diferentes enzimas. Alimentos Hidrocolóides. **Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria**, v. 19, n. 4, pg. 435-443, 2019.