



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO NÍVEL DOUTORADO EM  
ENGENHARIA DE PROCESSOS**

**USO DE REVESTIMENTO E ADITIVO A BASE DE EXTRATOS DE  
PRÓPOLIS NA CONSERVAÇÃO DE HAMBÚRGUER BOVINO**

**MARIA DO SOCORRO ARAÚJO RODRIGUES**

**CAMPINA GRANDE/ PB**

**FEVEREIRO, 2019**

**MARIA DO SOCORRO ARAÚJO RODRIGUES**

**USO DE REVESTIMENTO E ADITIVO A BASE DE EXTRATOS DE  
PRÓPOLIS NA CONSERVAÇÃO DE HAMBÚRGUER BOVINO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos da Universidade Federal de Campina Grande, como pré-requisitos para obtenção do título de Doutor (a) em Engenharia de Processos.

**ORIENTADORES: PROF. D.Sc OSVALDO SOARES DA SILVA**

**PROF. D.Sc ALFREDINA DOS SANTOS ARAÚJO**

**CAMPINA GRANDE/ PB**

**FEVEREIRO, 2019**

R696

Rodrigues, Maria do Socorro Araújo.

Uso de revestimento e aditivo a base de extratos de própolis na conservação de hambúrguer bovino / Maria do Socorro Araújo Rodrigues. – Campina Grande, 2020.

134 f. il. color.

Tese (Programa de Pós-graduação em Engenharia de Processos) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, 2020.

"Orientação: Prof. Dr. Osvaldo Soares da Silva".

"Coorientação: Profa. Dra. Alfredina dos Santos Araújo".

Referências.

1. Oxidação Lipídica. 2. Revestimentos. 3. Aditivos. 4. Antioxidantes. 5. Antimicrobianos. I. Silva, Osvaldo Soares da. II. Araújo, Alfredina dos Santos. III. Título.

CDU 637.521.44(043)

**MARIA DO SOCORRO ARAÚJO RODRIGUES**

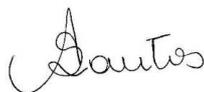
**USO DE REVESTIMENTO E ADITIVO A BASE DE EXTRATOS DE  
PRÓPOLIS NA CONSERVAÇÃO DE HAMBÚRGUER BOVINO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos da Universidade Federal de Campina Grande, como pré-requisitos necessários para obtenção do título de Doutor (a) em Engenharia de Processos.

**BANCA EXAMINADORA**



**Prof. D.Sc Osvaldo Soares da Silva**  
Orientador/ UFCG



**Prof<sup>a</sup>. D.Sc. Alfredina dos Santos Araújo**  
Coorientadora/ UFCG



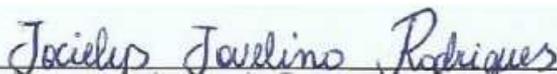
**Prof<sup>a</sup>. D.Sc Ana Paula Trindade Rocha**  
Examinador interna/UFCG



**Prof<sup>a</sup>. D.Sc. Mércia Melo de Almeida Mota**  
Examinadora externa/ UFCG



**Prof. D.Sc Sthelio Braga da Fonseca**  
Examinador externo/UFCG



**Prof. D.Sc Jocielys Jovelino Rodrigues**  
Examinador externo/UFCG

## DEDICATÓRIA

A meus pais, Francisco e Zuila e a meu filho, Murilo, por toda paciência e amor. E aos meus avós paternos Anízio (*In memoriam*) e Isaura (*In memoriam*) e avós maternos Francisco e Sebastiana que foram amor e força na minha formação.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, especialmente, àqueles que tornaram possível a realização deste trabalho:

Ao Senhor meu Deus que esteve sempre ao meu lado durante esta caminhada. Das muitas vezes em que o caminho tornou-se tortuoso e pensei em desistir, Ele fortaleceu a minha fé, transformando meu sonho em realidade.

Ao grande amor de minha vida, meu filho Murilo Rodrigues, que mesmo tão pequeno me dedicou amor, paciência, compreensão, apoio e alegria e que em meio a tudo secou minhas lágrimas e me abraçou em todos os momentos. Te amo meu filho!

Aos meus amados pais, Francisco Rodrigues e Zuila Rodrigues, e meus irmãos Rodrigo Rodrigues e Amanda Rodrigues, obrigada por todo amor, carinho e apoio. Sem vocês toda essa caminhada não seria possível.

À toda a minha família, tios e tias, primos e primas, em especial a meus avos maternos Sebastiana Araujo e Francisco Araujo, que sempre não mediram esforços para que eu conquistasse esse sonho, obrigada por sempre me ajudar, obrigada por todo apoio e pelo amor que nunca me deixaram faltar.

A meu orientador professor D. Sc. Osvaldo Soares da Silva, pelo seu comprometimento com a ciência, pela força, por estar sempre disponível nas orientações e contribuição para a realização desse trabalho;

A minha orientadora professora D. Sc. Alfredina dos Santos Araújo, pelos ensinamentos acadêmicos, conselhos valiosos e pela primordial educação e respeito pelas pessoas. A minha ainda, comadre e amiga, sou muito abençoada em tê-la perto de mim.

As professoras D. Sc. Mércia Melo, D. Sc. Pollyanna Agra e D. Sc. Ana Paula Trindade, pela colaboração e disponibilidade, aos professores D. Sc. Jocielys Rodrigues, D. Sc. Sthelio Braga e D. Sc. Bruno Meireles, sempre muito dedicados e pacientes, obrigada pela contribuição, colaboração e todo conhecimento para o alcance desta etapa.

Aos amigos Ana Flávia Cândido, Bruno Ferreira, Erica Lucena, Larissa Pinheiro, Mikaele Fernandes, Morgana Aragão, José Nildo Vieira e Weverton Pereira, pelo apoio incondicional, pela disponibilidade, pela amizade, horas de conversa, risos, por compartilhar angústias e vitórias e pelos ensinamentos científicos e de vida.

Aos colegas do Centro Vocacional Tecnológico (CVT/UFCG), Aline Cipriano, Aretha Santana, Dauany Sousa, Maria Eduarda Dantas, João Paulo Travassos, Katianna Medeiros, Mailson Gonçalves, Moises Sesion, Pedro Victor Freitas, obrigada por todas as conversas, auxílios, estudos e companheirismo. Agradecer em especial ao amigo Hildo Junior, sempre disposto a ajudar, grata pelo carinho e atenção de todos os dias, você é uma pessoa iluminada. Tenho muito orgulho de fazer parte desse grupo.

A todos do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos, em especial a Maria de Fatima, secretária, que sempre foi muito atenciosa e solícita, muito obrigada.

Agradecer a família Almeida, José Filho, Honória e Juceli, a quem eu agradeço de coração por toda ajuda e carinho.

Agradecer imensamente a EDIMEL, representada pela pessoa do Sr. Edivaldo Pacheco, pelo fornecimento das Própolis bruta, utilizada nesta pesquisa. Muito obrigada!

Agradecer, ao querido Thalles Richardson que acreditou em mim, me apoiou e me mostrou que eu era capaz, mas que infelizmente a vida nos colocou em caminhos opostos. A minha gratidão!

A Capes pela concessão da bolsa de demanda social.

A todos os familiares e amigos que não foram citados, mas que torcem por mim e estão felizes por mais uma conquista. A minha gratidão!

“Algumas batalhas não são só nossas. Muitas vezes só podemos lutar o começo delas, pois são tão grandiosas que precisam de mais mãos, almas e corações para serem vencidas. E quão é bom saber que embora nasçamos e morremos sozinhos, podemos contar com gente incrível ao nosso redor para lutar conosco e para dividirmos nossos caminhos. E é por conta dessas pessoas maravilhosas que nós ficamos, mesmo quando partimos”

“Mas Deus permaneceu do meu lado e me deu forças”

2 Timóteo 4:17

## RESUMO GERAL

A própolis é um produto de *flavor* singular e ainda pouco explorado pelas indústrias de alimentos, a qual possui propriedades antioxidantes, anti-inflamatória, antitumoral e antimicrobiana. Seus extratos têm sido aplicados de diversas formas na área da saúde. Por outro lado ela tem sido pouco estudada na área de alimentos, sendo assim, o objetivo desta pesquisa foi elaborar e avaliar revestimentos biodegradáveis e aditivos alimentares a base dos extratos de três tipos de própolis aplicando-os em hambúrguer, como processo de conservação, caracterizando-os quanto aos parâmetros físico-químicos, microbiológicos e sensoriais. Os extratos de própolis foram caracterizados quanto ao perfil químico por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Após os extratos serem caracterizados, foram utilizados na elaboração de hambúrguer bovino sendo posteriormente analisados sob armazenamento congelado a -18°C durante 120 dias. Foram realizadas análises a cada 30 dias em relação a pH, acidez, umidade, proteínas, cinzas, lipídios, índice de TBARS, atividade de água e análises microbiológicas. A análise sensorial foi avaliada através do teste de aceitação com Escala Hedônica de nove pontos. Os resultados obtidos para os padrões microbiológicos corroboram com a atividade de água, pois só apresentaram contaminação microbiana que comprometem a qualidade e o tempo de vida útil do produto a partir dos 60 dias de armazenamento. Os hambúrgueres elaborados com carne bovina e aditivados com extratos de própolis vermelha, verde e negra apresentaram características muito similares ao hambúrguer de carne bovina tradicional, ambos atendendo aos parâmetros de composição estabelecidos pela legislação brasileira, permitindo, portanto, concluir que os extratos hidroalcoólicos também podem ser utilizados para a elaboração desse produto. Os produtos com revestimento e adicionados de extratos hidroalcoólicos de própolis podem ser uma alternativa para reduzir a oxidação lipídica e manter estáveis os teores de pH e acidez, sem prejudicar suas características físico-químicas e físicas. A utilização dos extratos de própolis verde e negra como aditivo na formulação do hambúrguer bovino e/ou em revestimentos comestíveis aplicados nestes produtos, não interferiram nas características sensoriais.

**Palavras-chave:** Oxidação lipídica, armazenamento, antioxidantes, antimicrobianos.

## GENERAL SUMMARY

Propolis is a product of singular flavor and still little explored by the food industries, which has antioxidant, anti-inflammatory, antitumor and antimicrobial properties. Its extracts have been applied in different ways in the area of health. On the other hand, it has been little studied in the food area, so the objective of this research was to elaborate and evaluate biodegradable coatings and food additives based on the extracts of three types of propolis applied as a preservation process in hamburger, characterizing physico-chemical, microbiological and sensorial parameters. The extracts of propolis were characterized as chemical profile by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). After the extracts were characterized, they were used in the elaboration of bovine burger and later analyzed under frozen storage at  $-18^{\circ}\text{C}$  for 120 days. Analyzes were performed every 30 days in relation to pH, acidity, moisture, proteins, ashes, lipids, TBARS index, water activity and microbiological analyzes. The sensorial analysis was evaluated through the Hedonic scale acceptance test of nine points. The results obtained for the microbiological standards corroborate with the water activity, since they only present microbial contamination that compromise the quality and the useful life of the product from the 60 days of storage. The burgers made with beef and added with extracts of red, green and black propolis presented characteristics very similar to the traditional beef hamburger, both meeting the parameters of composition established by the Brazilian legislation, allowing, therefore, to conclude that the hydroalcoholic extracts can also be used for the preparation of this product. Coated and added products of hydroalcoholic propolis extracts may be an alternative to reduce lipid oxidation and to maintain stable pH and acidity contents without impairing their physicochemical and physical characteristics. The use of extracts of green and black propolis as an additive in the bovine burger formulation and / or edible coatings applied in these products did not interfere with the sensorial characteristics.

**Key words:** Lipid oxidation, storage, antioxidants, antimicrobials.

## LISTA DE FIGURAS

<b>CAPITULO II.....</b>	<b>49</b>
<b>ARTIGO 2 - SCREENING FITOQUÍMICO DE AMOSTRAS DE PRÓPOLIS DO NORDESTE DO BRASIL POR HPLC: VARIEDADES VERDE, NEGRA E VERMELHA.....</b>	<b>49</b>
Figura 1: Própolis verde, vermelha e negra em pó. -----	52
Figura 2: Extrato hidroalcoólico da própolis bruta. -----	53
Figura 3: Cromatograma do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha bruta (80mg/mL) -----	54
Figura 4: Cromatograma do extrato hidroalcoólico de própolis verde bruta (80mg/mL) -----	56
Figura 5: Cromatograma do extrato hidroalcoólico de própolis negra bruta (80mg/mL) -----	58
<b>CAPITULO III .....</b>	<b>62</b>
<b>ARTIGO 3 - EXTRATOS DE PRÓPOLIS UTILIZADOS COMO ADITIVOS ALIMENTARES NATURAIS NA CONSERVAÇÃO DE HAMBURGUER BOVINO.....</b>	<b>62</b>
Figura 1: Carne utilizada na elaboração dos hambúrgueres.-----	65
Figura 2: Número Mais Provável (NMP/g) de coliformes a 35°C (a) e de coliformes a 45°C (b) em hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis.....	69
Figura 3: Contagem de <i>Staphylococcus</i> spp realizados nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis .....	70
Figura 4: pH dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis .....	72
Figura 5: Acidez titulável dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis.....	73
Figura 6: Teor de proteínas (%) dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis.....	74
Figura 7: Teor de lipídios (%) dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis.....	75
Figura 8: Oxidação lipídica por TBARS realizada nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.....	76
Figura 9: Teor de umidade (%) dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis.....	77
Figura 10: Teor de cinzas (%) dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis .....	78

**CAPITULO IV..... 83**

**ARTIGO 4 – EFEITOS DA APLICAÇÃO DE REVESTIMENTOS A BASE DE EXTRATOS DE PRÓPOLIS NA CONSERVAÇÃO DE HAMBURGUER BOVINO..... 83**

Figura 1: Carne utilizada na elaboração dos hambúrgueres.----- 85

Figura 2: Aplicação dos revestimentos a base de extratos hidroalcoólicos das própolis vermelha, verde e negra. ....87

Figura 3: Número Mais Provável (NMP/g) de coliformes a 35°C (a) e de coliformes a 45°C (b) realizados nos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis. ....90

Figura 4: Contagem de *Staphylococcus* spp realizados nos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis. ----- 91

Figura 5: pH dos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis. ....93

Figura 6: Acidez titulável dos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis. ----- 94

Figura 7: Teor de proteínas (%) dos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis. ....94

Figura 8: Teor de lipídios (%) dos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis. ....95

Figura 9: Oxidação lipídica por TBARS realizada nos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis. ----- 96

Figura 10: Teor de umidade (%) dos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis. ----- 97

Figura 11: Teor de cinzas (%) dos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis. ----- 98

**CAPITULO V ..... 101**

**ARTIGO 5 – HAMBURGUER BOVINO ADICIONADO DE EXTRATOS DE PRÓPOLIS E REVESTIDO POR SOLUÇÃO FILMOGÊNICA A BASE DE EXTRATOS DE PRÓPOLIS: AVALIAÇÃO DA QUALIDADE ..... 101**

Figura 1: Aplicação dos revestimentos a base de extratos hidroalcoólicos das própolis vermelha, verde e negra. ....104

Figura 2: Número Mais Provável (NMP/g) de coliformes a 35°C (a) e de coliformes a 45°C (b) realizados nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis. ....108

Figura 3: Contagem de *Staphylococcus* spp realizados nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis. ....109

Figura 4: pH dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis. -----111

Figura 5: Acidez titulável dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis.-----112

Figura 6: Teor de proteínas (%) dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis. ....113

Figura 7: Teor de lipídios (%) dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis. ....114

Figura 8: Oxidação lipídica por TBARS realizada nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis. ....115

Figura 9: Teor de umidade (%) dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis. ....116

Figura 10: Teor de cinzas (%) dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis. ....117

## **CAPITULO VI..... 121**

### **ARTIGO 6 - AVALIAÇÃO SENSORIAL DE HAMBÚRGUERES BOVINOS ELABORADOS COM ADIÇÃO DE EXTRATOS DE PRÓPOLIS..... 121**

Figura 1: Número de respostas para o atributo aparência de hambúrguer bovino com incorporação de extrato de própolis. -----126

Figura 2: Número de respostas para o atributo cor de hambúrguer bovino com incorporação de extrato de própolis. ....126

Figura 3: Número de respostas para o aroma de hambúrguer bovino com incorporação de extrato de própolis.....127

Figura 4: Número de respostas para o sabor de hambúrguer bovino com incorporação de extrato de própolis.-----128

Figura 5: Número de respostas para a textura de hambúrguer bovino com incorporação de extrato de própolis. -----128

Figura 6: Aceitação global de hambúrguer bovino com incorporação de extrato de própolis. -----129

Figura 7: Intenção de compra de hambúrguer bovino com incorporação de extrato de própolis. -----129

## LISTA DE TABELAS

### **CAPITULO II..... 49**

#### **ARTIGO 2 - SCREENING FITOQUÍMICO DE AMOSTRAS DE PRÓPOLIS DO NORDESTE DO BRASIL POR HPLC: VARIEDADES VERDE, NEGRA E VERMELHA..... 49**

**Tabela 1:** Resultados da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), apresentando os nomes dos compostos químicos, tempo de retenção e concentração dos compostos químicos no extrato hidroalcoólico de própolis vermelha bruta (80 mg/mL).....54

**Tabela 2:** Resultados da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), apresentando os nomes dos compostos químicos, tempo de retenção e concentração dos compostos químicos no extrato hidroalcoólico de própolis verde bruta (80 mg/mL).....57

**Tabela 3:** Resultados da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), apresentando os nomes dos compostos químicos, tempo de retenção e concentração dos compostos químicos no extrato hidroalcoólico de própolis negra bruta (80 mg/mL).....59

### **CAPITULO III----- 62**

#### **ARTIGO 3 - EXTRATOS DE PRÓPOLIS UTILIZADOS COMO ADITIVOS ALIMENTARES NATURAIS NA CONSERVAÇÃO DE HAMBURGUER BOVINO..... 62**

**Tabela 1:** Padrões microbiológicos sanitários aceitáveis para hambúrgueres.....69

**Tabela 2:** Resumo da análise de variância para a atividade de água (Aw), pH, acidez total titulável (ATT), teor de água (TA), proteínas, lipídeos e índice de oxidação (TBARS) em hambúrguer bovino adicionados de extratos de própolis em um período de armazenamento.....71

**Tabela 3:** Resultados para atividade de água (aw) dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis.....72

### **CAPITULO IV..... 83**

#### **ARTIGO 4 – EFEITOS DA APLICAÇÃO DE REVESTIMENTOS A BASE DE EXTRATOS DE PRÓPOLIS NA CONSERVAÇÃO DE HAMBURGUER BOVINO..... 83**

**Tabela 1:** Formulação dos revestimentos de acordo com a aplicabilidade dos extratos da própolis.....86

**Tabela 2:** Resumo da análise de variância para a atividade de água (Aw), pH, acidez total titulável (ATT), teor de água (TA), proteínas, lipídeos e índice de oxidação (TBARS) em hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos. ....92

**Tabela 3:** Resultados para atividade de água (aw) dos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis.....92

**CAPITULO V ..... 101**

**ARTIGO 5 – HAMBURGUER BOVINO ADICIONADO DE EXTRATOS DE PRÓPOLIS E REVESTIDO POR SOLUÇÃO FILMOGÊNICA A BASE DE EXTRATOS DE PRÓPOLIS: AVALIAÇÃO DA QUALIDADE..... 101**

**Tabela 2:** Formulação dos revestimentos de acordo com a aplicabilidade dos extratos da própolis. ....104

**Tabela 2:** Resumo da análise de variância para a atividade de água (Aw), pH, acidez total titulável (ATT), teor de água (TA), proteínas, lipídeos e índice de oxidação (TBARS) em hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução.....110

**Tabela 3:** Resultados para atividade de água (aw) dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis.....110

**CAPITULO VI..... 121**

**ARTIGO 6 - AVALIAÇÃO SENSORIAL DE HAMBÚRGUERES BOVINOS ELABORADOS COM ADIÇÃO DE EXTRATOS DE PRÓPOLIS..... 121**

**Tabela 1:** Média dos resultados para os atributos sensoriais aparência, cor, aroma, sabor, textura, aceitação global (AG) e intenção de compra (IC) de hambúrguer bovino com incorporação de extrato de própolis.....125

## SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO.....	20
<b>CAPITULO I .....</b>	<b>22</b>
<b>ARTIGO 1 - USO DE REVESTIMENTOS E DE ADITIVOS ALIMENTARES A BASE DE EXTRATOS DE PRÓPOLIS NA CONSERVAÇÃO DE HAMBÚRGUER BOVINO: UMA REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>22</b>
RESUMO .....	22
ABSTRACT .....	22
1. INTRODUÇÃO.....	23
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	24
2.1. Conservação de alimentos .....	24
2.1.1. Revestimentos utilizados na conservação de alimentos .....	25
2.1.2. Aditivos utilizados na conservação de alimentos .....	27
2.2. Própolis .....	29
2.2.1. Própolis vermelha.....	31
2.2.2. Propolis verde.....	34
2.2.3. Propolis negra.....	35
2.3. Produtos cárneos.....	36
2.3.1. Hambúrguer.....	38
3. CONCLUSÕES .....	39
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	39
<b>CAPITULO II.....</b>	<b>49</b>
<b>ARTIGO 2 - SCREENING FITOQUÍMICO DE AMOSTRAS DE PRÓPOLIS DO NORDESTE DO BRASIL POR HPLC: VARIEDADES VERDE, NEGRA E VERMELHA.....</b>	<b>49</b>
RESUMO .....	49
ABSTRACT .....	49
1. INTRODUÇÃO.....	50
2. METODOLOGIA.....	51
2.1. Local da pesquisa.....	51

2.2.	Procedência das própolis .....	51
2.3.	Elaboração dos extratos hidroalcoólico de própolis vermelha, verde e negra..	51
2.4.	Identificação do perfil químico dos extratos de própolis por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) .....	53
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	54
3.1.	Identificação do perfil químico dos extratos hidroalcoólico das própolis vermelha, verde e negra por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). .....	54
4.	CONCLUSÕES .....	59
5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	60
	<b>CAPITULO III .....</b>	<b>62</b>
	<b>ARTIGO 3 - EXTRATOS DE PRÓPOLIS UTILIZADOS COMO ADITIVOS ALIMENTARES NATURAIS NA CONSERVAÇÃO DE HAMBURGUER BOVINO.....</b>	<b>62</b>
	RESUMO .....	62
	ABSTRACT .....	62
1.	INTRODUÇÃO .....	63
2.	MATERIAL E MÉTODOS .....	65
2.1.	Procedência da carne.....	65
2.2.	Formulação do hambúrguer bovino .....	65
2.3.	Caracterização físico-química e microbiológica .....	66
2.3.1.	Caracterização físico-química.....	66
2.3.1.1.	Potencial Hidrogeniônico (pH).....	66
2.3.1.2.	Acidez Titulável (AT).....	66
2.3.1.3.	Teor de Umidade (%) .....	67
2.3.1.4.	Teor de Cinzas (%) .....	67
2.3.1.5.	Teor de proteínas (%) .....	67
2.3.1.6.	Teor de lipídios (%) .....	67
2.3.1.7.	Análise de atividade de água (Aw) .....	67
2.3.1.8.	Análise de TBARS.....	67
2.3.2.	Análises microbiológicas.....	67

2.3.2.1.	Teste Presuntivo.....	67
2.3.2.2.	Coliformes a 35°C .....	68
2.3.2.3.	Coliformes a 45°C .....	68
2.3.2.4.	<i>Staphylococcus</i> spp .....	68
2.3.2.5.	<i>Salmonella</i> sp.....	68
2.4.	Análise estatística .....	68
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	68
4.	CONCLUSÕES .....	78
5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	79
	<b>CAPITULO IV.....</b>	<b>83</b>
	<b>ARTIGO 4 – EFEITOS DA APLICAÇÃO DE REVESTIMENTOS A BASE DE EXTRATOS DE PRÓPOLIS NA CONSERVAÇÃO DE HAMBURGUER BOVINO.....</b>	<b>83</b>
	RESUMO .....	83
	ABSTRACT .....	83
1.	INTRODUÇÃO .....	84
2.	MATERIAL E MÉTODOS .....	85
2.1.	Procedência da carne.....	85
2.2.	Formulação do hambúrguer bovino .....	85
2.3.	Elaboração e aplicação dos revestimentos .....	86
2.4.	Caracterização físico-química e microbiológica .....	87
2.4.1.	Caracterização físico-química.....	87
2.4.1.1.	Potencial Hidrogeniônico (pH).....	87
2.4.1.2.	Acidez Titulável (AT).....	87
2.4.1.3.	Teor de Umidade (%) .....	88
2.4.1.4.	Teor de Cinzas (%) .....	88
2.4.1.5.	Teor de proteínas (%) .....	88
2.4.1.6.	Teor de lipídios (%) .....	88
2.4.1.7.	Análise de atividade de água (Aw) .....	88

2.4.1.8. Análise de TBARS.....	88
2.4.2. Análises microbiológicas.....	88
2.4.2.1. Teste Presuntivo.....	88
2.4.2.2. Coliformes a 35°C .....	89
2.4.2.3. Coliformes a 45°C .....	89
2.4.2.4. <i>Staphylococcus</i> spp .....	89
2.4.2.5. <i>Salmonella</i> sp.....	89
2.5. Análise estatística .....	89
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	89
4. CONCLUSÕES .....	98
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	98
<b>CAPITULO V .....</b>	<b>101</b>
<b>ARTIGO 5 – HAMBURGUER BOVINO ADICIONADO DE EXTRATOS DE PRÓPOLIS E REVESTIDO POR SOLUÇÃO FILMOGÊNICA A BASE DE EXTRATOS DE PRÓPOLIS: AVALIAÇÃO DA QUALIDADE .....</b>	<b>101</b>
RESUMO .....	101
ABSTRACT .....	101
1. INTRODUÇÃO .....	102
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	103
2.1. Elaboração do hambúrguer bovino.....	103
2.2. Elaboração e aplicação dos revestimentos .....	104
2.3. Caracterização físico-química.....	105
2.3.1. pH .....	105
2.3.2. Acidez Titulável (AT) .....	105
2.3.3. Umidade (%).....	105
2.3.4. Teor de Cinzas (%).....	105
2.3.5. Teor de proteínas (%) .....	105
2.3.6. Teor de lipídios (%).....	105
2.3.7. Análise de atividade de água (Aw).....	105

2.3.8.	Análise de TBARS .....	106
2.4.	Análises microbiológicas.....	106
2.4.1.	Teste Presuntivo .....	106
2.4.2.	Coliformes a 35°C .....	106
2.4.3.	Coliformes a 45°C .....	106
2.4.4.	<i>Staphylococcus</i> spp.....	106
2.4.5.	<i>Salmonella</i> sp.....	107
2.5.	Análise estatística .....	107
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	107
4.	CONCLUSÕES .....	117
5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	117
<b>CAPITULO VI.....</b>		<b>121</b>
<b>ARTIGO 6 - AVALIAÇÃO SENSORIAL DE HAMBÚRGUERES BOVINOS ELABORADOS COM ADIÇÃO DE EXTRATOS DE PRÓPOLIS.....</b>		<b>121</b>
RESUMO .....		121
ABSTRACT .....		121
1.	INTRODUÇÃO.....	122
2.	MATERIAL E MÉTODOS .....	123
2.1.	Elaboração do hambúrguer de bovino .....	123
2.2.	Análise sensorial.....	124
2.3.	Análise estatística .....	124
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	125
4.	CONCLUSÕES .....	130
5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	130
ANEXOS.....		132
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE.....		133
FICHA SENSORIAL .....		134

## APRESENTAÇÃO

Visando a expansiva prática do uso de revestimentos e aditivos alimentares para aumentar a vida de prateleira de alimentos, surgiu a possibilidade do uso de um produto natural, a própolis, que com os evolutivos progressos nas pesquisas com flavonóides e as atividades antimicrobianas de seu extrato e o fato de ser considerada como um produto medicinal, usada como meio de reparação e proteção nas colmeias, além de possuir atividades antioxidantes, antirradicais livres, antifúngica, anti-inflamatórias, antiparasitária, inseticida, dentre outras.

Neste contexto, com o intuito de contribuir com a diversidade e a segurança alimentar, buscando alternativas saudáveis, naturais e economicamente viáveis e o anseio por estudos mais aprofundados que contribuam diretamente com a população produtora, comercializadora e consumidora de produtos cárneos e da utilização de produtos naturais na conservação de alimentos, que passam a existir embasamento nesta pesquisa.

Este trabalho será apresentado em capítulos como descritos a seguir:

- ❖ **Capítulo I:** Apresenta uma revisão bibliográfica sobre o uso de revestimentos e de aditivos naturais a base de extratos de própolis na conservação de hambúrguer bovino.
- ❖ **Capítulo II:** Aborda a elaboração e a identificação do perfil químico dos extratos de própolis vermelha, verde e negra por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência;
- ❖ **Capítulo III:** Aborda a elaboração, aplicação e caracterização de aditivo alimentar a base de extratos de própolis vermelha, verde e negra em hambúrguer bovino. Foram avaliados os efeitos das concentrações de extratos de própolis aplicados como aditivos alimentares naturais no processo de conservação ao longo do período de armazenamento por 120 dias sob refrigeração.
- ❖ **Capítulo IV:** Aborda a elaboração, aplicação e caracterização de revestimentos a base de extratos de própolis vermelha, verde e negra na conservação de hambúrguer bovino. Foram avaliados os efeitos das concentrações de extratos de própolis aplicados nos revestimentos no processo de conservação ao longo do período de armazenamento por 120 dias sob refrigeração.
- ❖ **Capítulo V:** Aborda a elaboração, aplicação e caracterização de revestimentos e aditivos alimentares naturais, concomitantemente, a base de extratos de própolis vermelha, verde e negra na conservação de hambúrguer bovino. Foram avaliados os efeitos das concentrações de extratos de própolis aplicados no processo de conservação ao longo do período de armazenamento por 120 dias sob refrigeração.

- ❖ **Capítulo VI:** Aborda a análise sensorial dos hambúrgueres bovinos elaborados com revestimentos e aditivos alimentares naturais a base de extratos de própolis vermelha, verde e negra.

## CAPITULO I

### ARTIGO 1 - USO DE REVESTIMENTOS E DE ADITIVOS ALIMENTARES A BASE DE EXTRATOS DE PRÓPOLIS NA CONSERVAÇÃO DE HAMBÚRGUER BOVINO: UMA REVISÃO DA LITERATURA

#### RESUMO

A própolis tem sido objeto de inúmeros estudos, onde o processo envolvido na sua produção e utilização pode gerar desenvolvimento sócio econômico para as cadeias produtivas locais, além de contribuir para a preservação ambiental. No entanto, os estudos focam nas suas características antioxidantes e antimicrobianas para aplicações na saúde, como fitoterápicos, não sendo tão aplicadas na conservação de alimentos. O uso de antioxidantes naturais é uma das alternativas capazes de inibir ou retardar o processo de oxidação dos lipídios. O produto cárneo tipo hambúrguer é um alimento bastante apreciado pela população, pelas suas características sensoriais e de praticidade. Sendo assim esta revisão teve como objetivo abordar aspectos relacionados aos três diferentes tipos de própolis produzidas na região nordeste e suas aplicações como revestimento e aditivo alimentar na conservação de hambúrguer bovino, já relatadas na literatura. Os vários resultados, corroborados por trabalhos científicos, mostram o seu potencial para diversos usos e aplicações e confirmam, sem espaço para dúvidas, a sua eficácia, principalmente como antioxidante, anti-inflamatório e antimicrobiano. Conclui-se que os resultados apresentados são propícios e estimulam a sua utilização em estratégias preventivas de contaminação microbiana e da oxidação do produto cárneo, hambúrguer.

**Palavras-chave:** Produto cárneo, antioxidante, antimicrobiano.

#### ABSTRACT

Propolis has been the subject of numerous studies, where the process involved in its production and use can generate socioeconomic development for the local productive chains, in addition to contributing to environmental preservation. However, the studies focus on their antioxidant and antimicrobial characteristics for health applications, such as herbal products, not being so applied in food preservation. The use of natural antioxidants is one of the alternatives capable of inhibiting or retarding the oxidation process of lipids. The burger-type meat product is a food that is appreciated by the population for its sensorial characteristics and practicality. Therefore, this review aimed to address aspects related to the three different types of propolis produced in the northeast region and their applications as coating and food additive in the conservation of bovine burger, already reported in the literature. The various results, corroborated by scientific studies, show their potential for various uses and applications and confirm, without a doubt, their efficacy, mainly as antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial. It is concluded that the presented results are propitious and stimulate their use in preventive strategies of microbial contamination and oxidation of the meat product, hamburger.

**Keywords:** Meat product, antioxidant, antimicrobial.

## 1. INTRODUÇÃO

A constante e crescente busca do mercado consumidor por produtos de alta qualidade aponta a necessidade do emprego de novas tecnologias de conservação que proporcionem segurança microbiológica na produção, abrangendo a validade comercial, e que ainda proporcionem mínimas alterações bioquímicas, promovendo a manutenção da qualidade nutricional e sensorial dos alimentos.

A indústria alimentícia gera grande quantidade de resíduos devido ao desperdício no uso de insumos, perdas entre a produção e o consumo, e separação de materiais que não possuem valor econômico evidente, implicando também em problemas de gerenciamento financeiro e ambiental. Devido ao alto potencial de reaproveitamento destes resíduos em outros sistemas, vários estudos apontam alternativas para o destino destes materiais (MIRABELLA, CASTELLANI, SALLA, 2014).

A oxidação lipídica e o crescimento microbiano são os principais fatores da degradação de muitos alimentos como peixes, carnes, leite em pó integral, molhos e óleos, provocando a perda da qualidade sensorial e nutricional. Uma das estratégias para retardar as reações de oxidação lipídica é a adição direta de antioxidantes em embalagens e uma alternativa para isso são as embalagens ativas, as quais possuem como principal vantagem a liberação de antioxidantes durante o armazenamento, aumentando a vida de prateleira dos alimentos embalados (GOMEZ-ESTACA *et al.*, 2014; JÚNIOR *et al.*, 2015).

Estes materiais podem oferecer propriedades bioativas quando contêm compostos que podem atuar como antioxidantes ou antimicrobianos, proporcionando benefícios extras em relação aos filmes convencionais (DAINELLI *et al.*, 2008; BODAGHI *et al.*, 2013).

A própolis apresenta um amplo espectro de atividade antimicrobiana contra uma variedade de bactérias, fungos, parasitas e vírus (TORLAK e SERT, 2013), além de possuir propriedades antioxidantes, imunomodulador e antitumoral (FROZZA *et al.*, 2013). A maior parte das atividades biológicas da própolis tem sido atribuída aos flavonóides (SILVA *et al.*, 2006). A própolis vermelha, derivado resinoso de colmeias que exhibe elevada atividade biológica, apresentando ainda atividade antioxidante, antifúngica e anti-inflamatória e tem sido estudada para aplicação em revestimentos comestíveis e como aditivo alimentar.

Com vistas a atender a demanda por produtos cárneos industrializados, os quais conquistaram o mercado consumidor por algumas vantagens que são específicas deste tipo de produto, como: a facilidade no modo de preparo e o pouco tempo para sua preparação têm

contribuído para que indústrias do setor alimentício desenvolvam novos produtos que além de serem práticos apresentem boas características nutricionais e sensoriais (SILVA, 2013a).

Entende-se por Hambúrguer o produto cárneo industrializado obtido da carne moída dos animais de açougue, adicionado ou não de tecido adiposo e ingredientes, moldado e submetido a processo tecnológico adequado. Trata-se de um produto cru, semi-frito, cozido, frito, congelado ou resfriado. Quanto a sua nomenclatura, o produto será designado de Hambúrguer ou Hambúrger, seguido do nome da espécie animal, acrescido ou não do termo “Carne” (BRASIL, 2000).

Sendo assim, esta revisão tem como objetivo abordar aspectos relacionados aos três diferentes tipos de própolis produzidas na região nordeste e suas aplicações como revestimento e aditivo alimentar na conservação de hambúrguer bovino, já relatadas na literatura.

## **2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **2.1. Conservação de alimentos**

A embalagem desempenha um papel fundamental na indústria alimentícia graças às suas múltiplas funções. Além de conter o produto, a embalagem é muito importante na sua conservação, mantendo qualidade e segurança, atuando como barreira contra fatores responsáveis pela deterioração química, física e microbiológica. À medida que os alimentos embalados passaram a ter uma maior importância na dieta de grande parte das populações, a ênfase dada aos problemas toxicológicos advindos da interação da embalagem com o alimento foi aumentada. Existem embalagens de diferentes tipos de plástico, cada um com propriedades únicas e aplicação para contato com alimentos, por exemplo, policarbonato, polietileno de alta e baixa densidade, estireno, polipropileno, etc. Estes plásticos são fabricados a partir de vários polímeros e aditivos que são utilizados para melhorar a flexibilidade, cor, resistência, durabilidade, etc. Ambos, plásticos e aditivos podem migrar a partir da embalagem para o alimento ou bebida ao longo do tempo como resultado de um aumento na temperatura ou pressão mecânica. A migração para o alimento de componentes de plástico como monômeros, aditivos, corantes, tintas de impressão, vernizes, entre outros, podem afetar as propriedades organolépticas dos alimentos e produzir efeitos prejudiciais à saúde, se não for devidamente controlada e se os níveis ultrapassarem os valores toxicológicos ou da legislação (BERNARDO et al., 2015).

Conservar os alimentos para prolongar a sua vida útil associando simultaneamente a segurança e qualidade, é uma das principais preocupações da indústria de alimentos e das

agências governamentais. Para a indústria da carne, varejistas e consumidores, a deterioração da carne crua representa uma perda que pode chegar a 40 % de toda produção. Para satisfazer a demanda em estender a vida de prateleira da carne fresca e a redução da deterioração, técnicas de embalagem conservantes atóxicas vêm sendo amplamente pesquisadas (LORENZO; BATLLE; GÓMEZ, 2014).

Além da contaminação microbiológica, a oxidação lipídica é uma das principais causas da deterioração da qualidade da carne durante o processamento, distribuição e refrigeração, reduzindo assim, a estabilidade no armazenamento e a aceitabilidade. A oxidação lipídica produz alterações nos parâmetros de qualidade de carne, tais como propriedades organolépticas e de valor nutritivo, o que leva à geração e acúmulo de compostos que podem representar riscos para a saúde humana (BARBOSA-PEREIRA et al., 2014).

### **2.1.1. Revestimentos utilizados na conservação de alimentos**

Um dos desafios da indústria alimentar é a produção de alimentos de alta qualidade, mantendo a segurança, durante um longo período de tempo. Uma das maneiras mais promissoras para atingir esse objetivo é a aplicação de revestimentos comestíveis na superfície dos alimentos. Revestimentos comestíveis são compostos por polímeros naturais, com funções como barreira de gás seletivo e ação antimicrobiana, podem melhorar a qualidade e segurança dos alimentos (MARTINS et al., 2010).

A produção de embalagens exige materiais resistentes à ruptura e à abrasão para proteger o produto embalado, mantendo a sua flexibilidade para se adaptar às deformações eventuais do produto (PELLISSARI et al., 2012). As propriedades funcionais dos filmes plásticos mais importantes são as propriedades ópticas, mecânicas e de barreira (TANADAPALMU e GROSSO, 2003).

Atualmente, a população está mais consciente, favorecendo a escolha de produtos naturais, renováveis e biodegradáveis (JIMÉNEZ et al., 2012) Uma grande vantagem dos revestimentos comestíveis é a sua biodegradabilidade. Para que um material seja chamado de biodegradável ele deve ser degradado completamente por microrganismos em compostos naturais. Dessa forma, a utilização de revestimentos comestíveis poderá contribuir na redução do uso de fontes não renováveis, ajustando-se perfeitamente no ecossistema e evitando a poluição ambiental, acrescentando melhorias a qualidade e não prejudicando o meio ambiente (PASCALL; LIN, 2013).

Revestimento ou cobertura comestível é uma suspensão ou emulsão aplicada diretamente sobre a superfície do alimento, ocorrendo, após a secagem, a formação de uma fina película sobre o produto (GENNADIOS e WELLER, 1990). São constituídas por diferentes substâncias naturais e/ou sintéticas que se polimerizam e isolam o alimento, sem riscos à saúde do consumidor, uma vez que não são metabolizados pelo organismo e sua passagem pelo trato gastrointestinal se faz de maneira inócua (MAIA et al., 2000).

Atualmente, os revestimentos comestíveis têm sido estudados para conservar alimentos como frutas, hortaliças e produtos cárneos, porém tem sido pouco explorada para os produtos lácteos, em especial, para queijos frescos que necessitam de maiores estudos para prolongar sua curta vida de prateleira destes produtos (CERQUEIRA et al., 2010).

Revestimentos comestíveis têm como função cobrir o produto e atuar como uma barreira à perda de umidade, controlar a respiração e evitar contaminações microbiológicas e químicas (STULP et al., 2012). Além disso, podem ser usados para inibir a migração dos aromas e lipídeos, e introduzir aditivos como antioxidantes e antimicrobianos, melhorando assim as características intrínsecas e a integridade mecânica dos vegetais recobertos (BOTREL et al., 2010). As películas comestíveis não devem interferir na aparência natural da fruta, devem possuir boa aderência a fim de evitar sua remoção facilmente no manuseio e não podem promover alterações no gosto ou odor original (LUVIELMO e LAMAS, 2012).

Os filmes ou revestimentos comestíveis são exemplos de embalagens ativas que vêm alcançando espaço nas novas tecnologias alimentícias, pois conseguem reduzir ou inibir o desenvolvimento microbiano e controlar a migração de umidade, gases e aromas. Estes filmes ou revestimentos, quando adicionados ou combinados de outras substâncias como antioxidantes ou antimicrobianos, conseguem aumentar a sua funcionalidade, devido à sua liberação lenta e gradual na superfície do produto (SCHENATO, 2010).

Na indústria de alimentos utilizam-se, principalmente os revestimentos. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) não descreve legislação específica para revestimentos comestíveis. Dessa forma, estes revestimentos são considerados ingredientes, quando melhoram a qualidade nutricional do produto, ou aditivo, quando não incrementam o seu valor nutricional, devendo obedecer a todos os regulamentos sobre aditivos e coadjuvantes (LUVIELMO; LAMAS, 2012).

Os compostos mais utilizados na elaboração e revestimentos comestíveis são as proteínas (gelatina, caseína, ovo albumina, glúten de trigo, zeína e proteínas miofibrilares), os polissacarídeos (amido e seus derivados, pectina, celulose e seus derivados, alginato e carragena), os lipídios (monoglicerídeos acetilados, ácido esteárico, ceras e ésteres de ácido

graxo) ou a combinação destes compostos, o que permite utilizar vantajosamente as distintas características funcionais de cada classe (LUVIELMO e LAMAS, 2012).

A utilização de revestimentos cria uma atmosfera modificada em torno do produto semelhante ao conseguido pelas condições de armazenamento em atmosfera controlada ou modificada. A aplicação de revestimentos comestíveis tem sido amplamente estudada para os produtos hortícolas, como frutas e legumes, enquanto mal explorado para os produtos lácteos (CERQUEIRA et al., 2010).

Os filmes elaborados a partir de polissacarídeos ou proteínas possuem excelentes propriedades mecânicas e ópticas, porém são sensíveis à umidade e apresentam alto coeficiente de permeabilidade ao vapor d'água. Por outro lado, os filmes compostos de lipídios apresentam boas propriedades de barreiras ao vapor d'água, mas são opacos e pouco flexíveis (GALLO et. al., 2000) e devido à sua baixa polaridade, são mais utilizados na elaboração de revestimentos comestíveis ou juntamente com um polissacarídeo na elaboração de filmes com melhores propriedades mecânicas (CAMPOS; GERSCHENSON; FLORES, 2011).

O uso de revestimentos biodegradáveis também pode diminuir a incidência de patógenos, caso o revestimento utilizado tenha efeito bacteriostático (TORLAK e SERT, 2013).

### **2.1.2. Aditivos utilizados na conservação de alimentos**

Devido à necessidade crescente de alimentos com maior durabilidade e praticidade no consumo, os hábitos alimentares vêm sofrendo grandes modificações ao longo do tempo onde alimentos in natura estão sendo gradativamente substituídos por alimentos industrializados. Esse fato tem gerado questionamentos e preocupações quanto à segurança do emprego de aditivos alimentares (DALL'AGNOL et al., 2013).

Aditivo alimentar ou aditivo para produtos destinados à alimentação animal são definidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (IN 13/04) como “substância, micro-organismo ou produto formulado, adicionado intencionalmente aos produtos, que não é utilizado normalmente como ingrediente, tenha ou não valor nutritivo e que melhore as características dos produtos destinados à alimentação animal e dos produtos animais, melhore o desempenho dos animais sadios ou atenda às necessidades nutricionais”. Os aditivos são classificados como tecnológicos, sensoriais, nutricionais e zootécnicos (BRASIL, 2004).

Os primeiros registros de seu uso datam de cerca de 1.500 a.C. em papiros egípcios, que evidenciaram a aplicação de especiarias a fim de dar maior sabor e atração aos alimentos. Posteriormente, os aditivos passaram a permitir que o homem pudesse conservar suas refeições quando distante das fontes de cultivo e criação, aumentando, com isso, o consumo deles (MARTYN et al., 2013).

No Brasil, o uso de aditivos alimentares é orientado pelo Ministério da Saúde e regulamentado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), pela Portaria N° 540 de 1997, onde preconiza que aditivo alimentar é qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a fabricação, processamento, embalagem, armazenagem e transporte. Esta definição não inclui os contaminantes ou substâncias nutritivas que sejam incorporadas ao alimento para manter ou melhorar suas propriedades nutricionais (BRASIL, 1997). De acordo com esta mesma portaria, os aditivos são classificados quanto à função, sendo classificados como agentes conservantes as substâncias que tem a finalidade de impossibilitar ou retardar a deterioração microbiana ou enzimática dos alimentos.

Para proteger os lipídios e evitar a deterioração sensorial e aparente, as indústrias alimentícias têm feito uso de vários aditivos alimentares com propriedades antioxidantes. Entretanto, a conscientização dos consumidores dos riscos à saúde provocados pelos aditivos, resultou em indicações às indústrias alimentícias para se evitar o uso de aditivos sintéticos, e desta forma estuda-se a possibilidade do uso de aditivos naturais ou métodos alternativos para extensão da vida-de-prateleira, aumentar a segurança e evitar os danos da oxidação lipídica (GEORGANTELIS et al., 2007).

Os antioxidantes são adicionados a produtos frescos e em carnes processadas para prevenir o ranço oxidativo, retardar o desenvolvimento de *off-flavors* e melhorar a estabilidade de cor (NAM; AHN, 2003). Dentre os antioxidantes sintéticos pode-se citar o BHA (butilhidroxianisol), BHT (butilhidroxitolueno), GP (galato de propila) e TBHQ (tercbutilhidroquinona) como os mais utilizados (RAMALHO; JORGE, 2006). O emprego destes compostos, entretanto, tem sido alvo de questionamentos, quanto à sua inocuidade, motivando a busca de antioxidantes naturais, que possam atuar isolados, ou sinergicamente, com outros aditivos, em substituição aos sintéticos (SOARES, 2002).

De um ponto de vista tecnológico, os aditivos alimentares desempenham um papel importante no desenvolvimento de alimentos. Entretanto, o uso de aditivos é um tema que desperta a preocupação dos consumidores. Nos últimos anos, os consumidores tornaram-se

cada vez mais cautelosos sobre segurança alimentar, dos vários itens relacionados com a segurança alimentar, os aditivos alimentares estão entre os mais controversos (VARELA; FISZMAN, 2013).

## 2.2. Própolis

A própolis é uma resina produzida pelas abelhas da espécie *Appis mellifera* coletada a partir de várias partes da planta como brotos e botões florais, as abelhas utilizam a resina para proteção e assepsia da colmeia (CABRAL et al., 2009; NUNES et al., 2009). De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) “A própolis é um produto natural, de características físicas resinosas e composição variável, coletada de várias espécies vegetais e que sofre adição de secreções da abelha, sendo classificada como opoterápico” (BRASIL, 2005). Opoterápico é o medicamento obtido a partir de: glândulas, órgãos, tecidos e secreções de animais, no caso da própolis, secreções salivares da abelha (BRASIL, 2007).

A extração da própolis faz parte da apicultura que tem demonstrado ser uma excelente alternativa para complementação de renda, pois sua atividade, normalmente, não compete em recursos de produção com as atividades já existentes na empresa rural, sendo essencialmente ecológica comprovadamente rentável e economicamente sustentável (INABA; PASIN, 1998).

A própolis é coletada pelo apicultor através da raspagem da colmeia, logo se podem encontrar sujidades como lascas de madeira, terra, entre outras. Outras técnicas vêm sendo criadas para melhorar a qualidade e a produtividade da própolis como uso de telas coletoras abaixo da tampa e Coletor de Própolis Inteligente – CPI (INOUE, et al., 2007).

Segundo Wiese (2005), uma única colmeia pode produzir por ano entre 50 a 400g de própolis dependendo da raça da abelha, das condições geográficas e clima da região, assim como do manejo do apicultor. Apesar de uma produção modesta alcançada pelo pequeno produtor, a própolis pode ser uma alternativa de renda importante devido ao seu alto valor comercial, podendo ser desenvolvida de maneira consorciada com outras culturas, ampliando efetivamente os ganhos na propriedade e no ecossistema local.

A própolis é um material complexo, constituído por uma mistura de diversas resinas vegetais, que são coletadas por abelhas melíferas (*Appis mellifera* L.), a partir de várias partes da planta (KATIRCIOGLU; MERCAN, 2006). A definição de própolis segundo o MAPA (BRASIL, 2001a) é um produto oriundo de substâncias resinosas, gomosas e balsâmicas, colhidas pelas abelhas, de brotos, flores e exsudados de plantas, nas quais as abelhas acrescentam secreções salivares, cera e pólen para elaboração final do produto.

A composição da própolis é intensamente influenciada pelas variações ambientais, tais como: fauna, flora, clima, temperatura, época da colheita entre outros (NUNES et al., 2009; LINS et al., 2010). Os componentes fenólicos, entre eles os flavonóides são os compostos isolados com mais frequência e boa parte das propriedades terapêuticas dependem da associação destes com outros constituintes menos comuns, como os derivados do ácido cinâmico e os diterpenos (NUNES et al., 2009; LINS et al., 2010).

Estudos já relataram atividade antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória, cicatrizante e antitumoral de alguns tipos de própolis (CABRAL et al., 2009; VICTORINO et al., 2009). A atividade antimicrobiana da própolis já foi evidenciada em vários trabalhos frente a bactérias gram-positivas (FERNANDES JUNIOR et al., 2006; LUSTOSA et al., 2008) e gram-negativas (BASTOS et al., 2011; VICTORINO et al., 2009). E o extrato da própolis em associação com outras plantas ou produtos é utilizado no tratamento de infecções respiratórias (PACKER, 2007) e enxagatórios bucais (SIMÕES, 2008).

No Brasil, são descritas propriedades biológicas e composições químicas distintas para diferentes amostras coletadas em diferentes partes do país. Essa variação é facilmente explicada pela grande biodiversidade brasileira (CABRAL et al., 2009).

A cor da própolis varia do verde e do vermelho ao castanho escuro, apresentando um cheiro característico e propriedades adesivas, pois interage fortemente com óleos e proteínas da pele (BURDOCK, 1998). Em geral, a própolis in natura é composta por 30% de cera, 50% resina e bálsamo de vegetais, 10% de óleos essenciais e aromáticos, 5% de pólen e 5% de outras substâncias, incluindo resíduos orgânicos (PRADO, 2008).

Extratos etanólicos, hidroalcoólicos e aquosos da própolis têm sido utilizados e estudados em diferentes situações, por exemplo, como agentes antimicrobianos (ZAHID et al., 2013), antioxidantes (NAGAI et al., 2003), entre outras aplicações. O extrato mais comumente utilizado é o hidroalcoólico, que na legislação brasileira é denominado Extrato de Própolis e definido como sendo o produto proveniente da extração dos componentes solúveis da própolis em álcool neutro (grau alimentício), por processo tecnológico adequado (BRASIL, 2001a). Ainda segundo Brasil (2001a), os extratos de própolis devem conter no mínimo 11 % de extrato seco. O método de extração de própolis mais utilizado emprega o álcool etílico hidratado como solvente, uma vez que a própolis apresenta baixa solubilidade em água, em razão das características apolares da maior parte das substâncias que a compõem. O sabor residual do solvente, reações adversas em decorrência do álcool e a restrição da venda desse tipo de produto em alguns países, no entanto, são fatores limitantes do extrato hidroalcoólico de própolis (KONISHI et al., 2004).

No que se diz respeito ao uso na indústria de alimentos, a própolis é largamente utilizada como aditivo antioxidante de produtos de origem animal (SANTOS et al., 2003) e vegetal (PEREIRA, 2008), além do uso como antimicrobiano em ração animal (FREITAS et al., 2009). De acordo com PEREIRA (2008), para que a própolis possa ser utilizada na formulação de alimentos, esta deve estar na forma de extrato para garantir que seus componentes sejam digeríveis. A autora afirma ainda que o teor de álcool no extrato deve ser baixo para garantir a qualidade do produto final, diferentemente da indústria farmacêutica.

Muitos estudos vêm sendo realizados com a própolis na substituição de antioxidantes sintéticos como o BHA (butil-hidroxianisol), BHT (butil-hidroxitolueno), 16 TBHQ (terc-butil-hidroquinona) e PG (propil galato), pois pesquisas científicas apontam uma alta toxicidade destes aditivos alimentares (SOARES, 2002). Desta forma, a própolis também vem sendo utilizada na conservação de alimentos, substituindo outros compostos antioxidantes como o tocoferol (Vitamina E), betacaroteno (pró- vitamina A) e vitamina C (ácido ascórbico), também de origem natural, porém extraídos a partir do uso de solventes orgânicos mais eficientes e mais tóxicos, além do alto custo na separação. Além disso, o uso de aditivos naturais permite a redução do teor de nitritos adicionados aos produtos cárneos (ALVES, 2009).

Segundo Pereira et al (2015), a maior parte dos trabalhos encontrados na literatura refere-se à própolis verde, e apenas nos últimos anos a própolis vermelha tem sido objeto de estudo. A própolis verde brasileira é produzida por abelhas localizadas no sul do Estado de Minas Gerais e no norte do Estado de São Paulo, e o tipo de própolis tem o exsudado de folhas de *Baccharis dracunculifolia* DC (*Asteraceae*) como fonte botânica, vulgarmente conhecida como "alecrim-do-campo (ROBERTO et. al., 2016). Enquanto que, a própolis vermelha brasileira, encontrada em alguns estados brasileiros como Sergipe, Paraíba, Pernambuco e Bahia, possui novos compostos bioativos com atividades biológicas, sendo uma delas a atividade antioxidante (DAUGSCH et. al, 2007; OLDONI et al., 2011).

### **2.2.1. Própolis vermelha**

A principal origem botânica da própolis vermelha é a planta *Dalbergia ecastophyllum*, popularmente conhecida como rabo-de-bugio, encontrada ao longo da praia e região do mangue do nordeste do Brasil. A própolis vermelha vem sendo encontrada ao longo do mar e costa de rios no nordeste brasileiro e sua coloração se deve, principalmente, pela coleta das abelhas, do exsudado vermelho da superfície da *Dalbergia ecastophyllum*. O melhor indicador da origem botânica da própolis é a análise da sua composição química

comparada com a provável fonte vegetal. A determinação da origem geográfica da própolis e, principalmente, a origem vegetal, se faz importante no controle de qualidade e até mesmo na padronização das amostras de própolis para uma efetiva aplicação terapêutica (PARK et al., 2002).

A própolis com origem botânica exclusiva de *D. ecastophyllum* apresentou atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* maior que a própolis com origem de mistura de outras plantas, possuindo ainda a própolis vermelha alta atividade antioxidante e antibacteriana e as subfrações obtidas são mais ativas biologicamente que o extrato bruto. (DAUGSCH et al., 2007; CABRAL et al. 2009).

A própolis vermelha do nordeste do Brasil possui algumas moléculas que a diferenciam dos outros tipos de própolis já largamente citadas na literatura. Acredita-se, dessa forma, que tais moléculas possam revelar atividades biológicas ainda não conhecidas em outras amostras, resultando numa mistura complexa de compostos bioativos e diversas propriedades biológicas (GONSALES et al., 2006).

A maior parte dos trabalhos encontrados na literatura refere-se à própolis verde, e apenas nos últimos anos a própolis vermelha tem sido objeto de estudo. Segundo Alencar et al., (2007), a própolis vermelha brasileira possui novos compostos bioativos nunca antes encontrados nos produtos já estudados. Esta possui uma importante fonte de compostos com atividades biológicas, sendo uma delas a atividade antioxidante (OLDONI et al., 2011). Estudo realizado por Cabral et al., (2009), concluiu que a própolis vermelha possui alta atividade antioxidante e antibacteriana e as subfrações obtidas são mais ativas biologicamente que o extrato bruto.

A composição química e as atividades biológicas das própolis dependem dos aspectos ambientais como, por exemplo, pluviosidade, variações de temperatura e pasto apícola. A alteração do pasto apícola, bem como as mudanças climáticas que ocorrem durante o ano, pode modificar o produto natural em sua composição química, dificultando a padronização do mesmo para comercialização. Com relação à variação sazonal, a diminuição em alguns componentes biologicamente ativos pode ser acompanhada pelo aumento de outros (NUNES et al, 2009). Estudos que abordam o efeito da sazonalidade são muito importante para a caracterização da matéria-prima de uma determinada região, uma vez que questões climáticas também se diferenciam em função da região onde o produto natural é obtido (SIMOES-AMBROSIO et al, 2010).

Segundo Dausch et al, (2008), a própolis vermelha do nordeste brasileiro do grupo 13 contém rutina, liquiritigenina, daidzeína, pinobanksina, quercetina, luteolina,

dalbergina, isoliquiritigenina, formononetina, pinocembrina, pinobanksina-3-acetato e biochanina A.

Quando se avalia a atividade antibacteriana da própolis vermelha, verifica-se que o extrato obtido das regiões brasileiras possui melhor ação biológica em comparação aos resultados obtidos com extratos norte-americanos (BASTOS et al., 2011). Segundo Dausch et al. (2007), as amostras de própolis vermelha brasileira da região Nordeste apresentaram atividade antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), em concentrações próximas a 2,5 µg/ml. Alencar et al. (2007) demonstraram que o extrato etanólico e a fração clorofórmica da própolis brasileira, apresentaram uma potente atividade antimicrobiana frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Streptococcus mutans* (UA 159).

Anteriormente a própolis possuía em sua classificação apenas 12 grupos, onde de acordo com Dausch (2007), um novo tipo de própolis de coloração vermelha foi encontrado em colméias ao longo da praia e dos rios do nordeste do Brasil. Este tipo de própolis pode ser classificado como própolis do grupo 13, devido às características físico-químicas diferenciais.

Em sua vasta pesquisa Dausch (2007), caracteriza cromatograficamente (cromatografia em camada delgada de alta eficiência em fase reversa) os extratos etanólicos da própolis do grupo 13, utilizada nesta pesquisa, esta própolis vermelha foi encontrada em colméias de abelhas *Apis mellifera* africanizada, situadas dentro de manguezais do nordeste brasileiro. Os quais visualizaram uma substância resinosa saindo do caule da planta *Dalbergia ecastophyllum* e que abelhas coletavam essa resina através da mastigação e deposição da resina nas patas posteriores levando-a para a colméia. A resina retirada da *Dalbergia ecastophyllum* foi encontrada posteriormente nas colméias na forma de própolis misturada com cera e pólen Dausch (2007).

Moraes (2009) avaliou em sua tese, a quantidade de compostos fenólicos totais e flavonóides totais presentes na própolis do grupo 13 de diferentes colméias e em diferentes épocas do ano, além de testar suas atividades biológicas, tais como atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e atividade antiradical. Além disso, realizou o isolamento e a identificação da formononetina (7-hidroxi-4'-metoxi-isoflavona), principal isoflavona encontrada na própolis do grupo 13, e foram testadas suas atividades biológicas. Em sua pesquisa, foram avaliados cinco extratos, preparados a partir da própolis vermelha coletadas de cinco colmeias diferentes, no período de fevereiro, abril, julho, outubro e dezembro de 2008, na cidade de João Pessoa, Paraíba.

Moraes (2009) afirma em sua pesquisa que os extratos etanólicos de própolis do grupo 13 coletados nos meses de abril e outubro de 2008 em João Pessoa – PB apresentaram grande variação de cor, enquanto que os extratos de própolis coletados nos meses de fevereiro, julho e dezembro de 2008 mostraram poucas variações quanto à coloração. Em resultados, alega ainda que não foi observada nenhuma relação da coloração dos extratos etanólicos de própolis com a quantidade de compostos fenólicos presentes no mesmo, além disso, foi possível observar que a própolis vermelha do grupo 13 pode apresentar cor amarelada e diversos tons de vermelho.

No entanto segundo Dausch (2007), a própolis do Nordeste pode apresentar variação de cor devido à presença de outras origens botânicas além da *D. ecastophyllum*, ou redução da quantidade de resina encontrada pelas abelhas. Foi demonstrada que a quantidade de resina de *D. ecastophyllum* é proporcional a atividade biológica da própolis vermelha.

Moraes (2009) concluiu que a própolis vermelha de João Pessoa - PB apresenta grandes variações entre as colmeias em relação à composição de compostos fenólicos totais, flavonóides totais, e alguns compostos fenólicos identificados previamente como a quercetina, dalbergina e formononetina. Constatou ainda que no mês de julho são encontradas as própolis de melhor qualidade comprovado através da quantificação e classificação dos principais flavonóides e outros compostos fenólicos e conforme sua atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e atividade antiradical, sugerindo-se que ocorra variação da quantidade de resina de *Dalbergia ecastophyllum* disponível durante o ano.

### **2.2.2. Propolis verde**

A própolis é uma mistura complexa de substâncias resinosas produzida pelas abelhas melíferas (*Apis mellifera*) de consistência, textura e coloração variada, que apresenta comprovada atividade anti-inflamatória, antioxidante, antiproliferativa, citotóxica, imunomoduladora e antimicrobiana; estas e outras atividades exercidas pela própolis estão relacionadas com a sua complexa composição química que é diretamente ligada à vegetação que compõe o habitat das abelhas. Estima-se atualmente que existam segundo o seu perfil químico aproximadamente 13 tipos de própolis, onde pode destacar o efeito antimicrobiano da própolis verde (HIPÓLITO, 2013; SIQUEIRA et al., 2014).

A própolis verde advém da coleta do exsudato da planta nativa da região central do Brasil, a *Baccharis dracunculifolia*, comumente conhecida como alecrim-do-campo, o que torna este produto único com características químicas e biológicas diferenciadas, com

particular presença dos compostos fenólicos, o artemillin C e o ácido hidroxicinâmico (SFORCIN; BANKOVA, 2011; SILVA, 2011).

A principal fonte botânica da própolis verde é a resina extraída da planta *Baccharis dracunculifolia*, conhecida como alecrim do campo ou vassourinha, esta espécie vegetal apesar de ser considerada invasora, é utilizada popularmente, no tratamento da tuberculose, de úlcera duodenal, de distúrbios gástricos, na redução da febre, contra doenças inflamatórias, como analgésico, anticancerígeno, bem como por sua atividade antimicrobiana (REIDEL, 2014; BRAGA, 2017).

A própolis verde brasileira apresenta uma screening fitoquímico único, com alta concentração de compostos fenólicos com predomínio do ácido cinâmico - o artemelin C, e o Éster Feniletil do Ácido Cafeíco (CAPE), ácido cafeoilquínico, ácido p-cumárico; terpenos como o ácido diterpênico, ácidos aromáticos e ácidos sesqui, di e triterpênicos; flavonóides como canferide, pinobanskina, crisina, galangina, canferol e isosakuranetina; acetofenonas, lignanas, álcool triterpênico e hidrocarbonos, esta ampla gama de substância confere a própolis verde inúmeras atividades biológicas (MATTIGATTI et al., 2012; POSSAMAI et al., 2013; REIDEL, 2014; BRAGA, 2017).

Estima-se que em 2012 o mercado brasileiro de própolis exportou 41.721 kg, correspondendo a um faturamento de cerca de 5 milhões de dólares. Em comparação a 2010, o valor de mercado da própolis aumentou em mais 50% em 2012, alcançando US\$ 129,47/kg (TORETI et al. 2013). Dados da EMATER-MG observaram que a produção nacional da própolis verde é de 40 t/ano, das quais 29 t provêm de Minas Gerais, com destino preferencial aos países asiáticos, em especial o Japão. Segundo o Ministério de Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (MDIC), a própolis verde mineira movimentou, no período de janeiro a maio de 2012 cerca de US\$ 1,5 milhão em exportação. A Federação Mineira de Apicultura (FEMAP) relaciona o sucesso das exportações daquela matéria-prima ao esforço dos produtores mineiros para oferecer um produto de alta qualidade (SEAPA-MG, 2012). No Japão, atualmente a própolis brasileira é extensamente utilizada em alimentos e bebidas, com o objetivo de manter ou melhorar a saúde humana (AGA et al., 1994).

### **2.2.3. Propolis negra**

Atualmente, muitas são as propriedades biológicas conferidas a própolis como antimicrobiana (CHOUDHARI et al., 2012; BARUD et al., 2013; BITTENCOURT et al., 2014), anticariogênica (GONÇALVES, 2010), citotóxica (FROZZA et al., 2013; PETER et al., 2017), anti-inflamatória e imunomodulatória (ARAÚJO et al., 2011; MACHADO et al.,

2012; FARIAS et al., 2014), antioxidante (RIGHI et al., 2011), antileishmania e antiprotozoário (SALOMÃO et al., 2011; SILVA et al., 2013b) e adstringente e antiespasmódico (KUROPATNICKI; SZLISKA; KROL, 2013).

Park et al. (2002), classificaram a própolis brasileira em 13 tipos distintos, através do perfil químico obtido pelas técnicas de espectrofotometria de absorção na região UV-visível, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em Fase Reversa, atividade antimicrobiana e antioxidante, onde as mais importantes são a verde, vermelha e preta (PINTO; PRADO; CARVALHO, 2011).

Araújo et al.(2008) e Silva (2012) em seus estudos relatam que os constituintes ativos da jurema preta que tem sido descritos, são principalmente os esteroides, terpenóides, flavonóides e taninos. Sendo os taninos considerados um dos responsáveis por atividade contra bactérias, fungos, vírus e protozoários. Por sua vez, a literatura oferece raros relatos de suas propriedades farmacológicas exploradas, e em especial com a própolis preta, proveniente da Jurema preta.

A jurema preta, também conhecida como calumbi, jurema e espinheiro tem nome botânico da *Mimosa hostilis* Benth. Possuindo outros sinônimos como: *Acacia hostilis* Mart.; *Acacia tenuiflora* Willd.; *Mimosa cabrera* H.Karst.; *Mimosa hostilis* (C.Mart.) Benth.; *Mimosa limana* Rizzini. Considerada uma árvore arbustiva pertencente à família Fabaceae, da ordem das Fabales típica da caatinga, ocorrendo praticamente em quase todo nordeste brasileira, e também encontrada em El Salvador, Honduras, México, Panamá, Colômbia e Venezuela (MAIA-SILVA et. al, 2012).

### **2.3. Produtos cárneos**

Os alimentos são importantes carreadores de nutrientes, que são essenciais para a qualidade de vida, onde se destacam a carne e seus produtos derivados (KEENAN et al., 2014). Dentre as categorias de alimentos pactuadas para redução de sódio destacam os produtos embutidos, como o hambúrguer (NILSON; JAIME; RESENDE, 2012).

A carne é um dos produtos de origem animal mais consumido como fonte protéica pelos seres humanos (RUBIN; WAQUIL, 2013). Comercialmente, denominam-se carne todas as partes dos animais que servem de alimento ao homem (PHILIPPI, 2006) e pode ser adquirida como produtos frescos, congelados, embalados a vácuo, secos, salgados, defumados ou enlatados (SOUSA et al., 2012).

Mediante a importância e a popularidade do consumo de carnes, sua transformação em produtos industrializados é de suma importância para a praticidade, variedade e

balanceamento do cardápio. Essa diversificação de oferta inclui um grande número de produtos como almôndegas, hambúrgueres, empanados, linguiças, mortadelas, salames, entre outros (CHIATTONE, 2010).

A qualidade da carne é altamente dependente da manipulação do animal no pré-abate e da carne pós abate. Existem três mecanismos envolvidos durante o processamento e armazenamento na deterioração da carne e de produtos cárneos: deterioração microbiana, a oxidação lipídica e oxidação enzimática. A população microbiana pode ser proveniente da microflora nativa do trato intestinal e da pele dos animais ou através de contaminações provenientes do ser humano, no manuseio, armazenamento; além dos ambientais associados à cadeia de produção. O crescimento microbiano na carne pode resultar na formação de limo, degradação de componentes estruturais, diminuição da capacidade de retenção de água, odores, e textura, bem como alterações da aparência. Agentes antimicrobianos ou compostos antioxidantes incorporados no filme comestível podem impedir o crescimento e deterioração por microrganismos patogênicos, e reduzir a rancificação da gordura de carne, prevenção da descoloração, e ainda a melhoria da qualidade nutricional (SÁNCHEZ-ORTEGA et al., 2014).

Na indústria de carnes, os elevados custos de produção estimulam o estudo e o desenvolvimento de novas tecnologias visando à utilização de todas as partes do animal com objetivo de minimizar as perdas e maximizar o lucro das empresas. Isso inclui a implementação de métodos de reestruturação de carnes com aparas e cortes de baixo valor comercial para melhorar a aparência e textura do novo produto (FERREIRA et al., 2012).

Vários fatores afetam as decisões dos consumidores para comprar carne, mas provavelmente o mais importante é a percepção de qualidade. A cor vermelha brilhante para a carne é percebida pelos consumidores como sendo indicativo de frescura, salubridade, e boa qualidade alimentar (CAMO et al., 2011).

De acordo com Fernández-Ginés et al. (2008) a carne e os produtos cárneos são essenciais na dieta de diversos países. Carne e produtos cárneos são importantes fontes de proteína, gordura, aminoácidos essenciais, minerais, vitaminas e outros nutrientes. Com o crescente aumento na diversidade deste tipo de produto, que não demandam muito tempo para seu preparo, disponíveis no mercado, os hambúrgueres, linguiças, empanados, salames, mortadelas e salsichas se tornaram o lanche de muitas famílias do mundo (OLIVEIRA et al., 2013).

No entanto, a alta concentração de gordura saturada nestes produtos tem preocupado os consumidores, que procuram, cada vez mais, produtos com apelo saudáveis (HYGREEVA

et al., 2014). Neste contexto, o hambúrguer é um dos produtos cárneos utilizados nos testes de substitutos de gordura (SOUSA et al., 2012), pela sua facilidade de processamento (OLIVEIRA et al., 2013) e alta aceitação entre os consumidores.

### **2.3.1. Hambúrguer**

O hambúrguer é, atualmente, um dos alimentos produzidos em larga escala no Brasil com crescente consumo por pessoas de todas as idades (AKESOWAN, 2010), e representa o produto cárneo processado mais popular do mundo, devido à sua praticidade no consumo e baixo preço. Portanto, fatores que afetam sua qualidade possuem relevância (SCHEEDER et al., 2001). De acordo com o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) o hambúrguer é definido como “... o produto cárneo industrializado obtido da carne moída dos animais de açougue, adicionado ou não de tecido adiposo e ingredientes, moldado e submetido a processo tecnológico adequado” (BRASIL, 2000).

O hambúrguer é um alimento bastante apreciado pela população de diversas faixas etárias, sendo as crianças e adolescentes os maiores consumidores, mas os adultos também apresentam hábitos de consumo deste alimento. O consumo frequente deste tipo de produto pode apresentar como consequência um elevado índice de peso podendo causar a obesidade, riscos coronários, diabetes e até mesmo câncer (SILVA, 2013a).

No início do século XIX, imigrantes alemães levaram para os Estados Unidos a receita já adaptada aos seus costumes, que consistia em grelhar a carne levemente com cebolas. No final desse século, um dono de restaurante, em Washington, teve a idéia de colocar o hambúrguer entre duas fatias de pão e transformá-lo em sanduíche (SMITH, 2012).

Os produtos cárneos reestruturados (hambúrguer, almondega, quibe e bife reconstituído) possuem uma alta demanda devido à facilidade de utilização, menor preço e conveniência. Entretanto, o produto reestruturado cru deve ser conservado congelado. Além da estabilidade do produto, a indústria busca produzir carnes reestruturadas que possam competir com músculos íntegros em relação às características sensoriais como aparência, odor, sabor e textura, importantes para aceitação pelo consumidor (FERREIRA et al., 2012). Esta tecnologia permite ainda oferecer produtos com qualquer forma ou tamanho, podendo assim diversificar a oferta, e, sobretudo, a possibilidade de incorporação de outros alimentos ou compostos que os tornam mais saudáveis, nutritivos e atrativos (MENDES, 2011).

Os hambúrgueres possuem como ingredientes obrigatórios somente a carne oriunda de diferentes espécies de animais de açougue e, como ingredientes opcionais os seguintes: gordura animal, gordura vegetal, água, sal, proteínas de origem animal e/ou vegetal, leite em

pó, açúcares, maltodextrina, aditivos intencionais, condimentos, aromas, especiarias, vegetais, queijos e outros recheios. A legislação que vigora atualmente para esse tipo de produto, permite a adição de no máximo 4,0 % de proteína não cárnea na forma agregada e um limite máximo de carboidratos totais de 3 %. O produto em questão deve possuir características sensoriais como textura, cor, sabor e odor característicos do produto e as seguintes características físico-químicas: teor de gordura no máximo 23 %, proteína no mínimo 15% e teor de cálcio (máx. base seca) 0,1 % em hambúrguer cru e 0,45 % em hambúrguer cozido (BRASIL, 2000).

De acordo com Soltanizadeh e Ghiasi-Esfahani (2015), os consumidores apresentam um crescente interesse por alimentos que sejam aliados da vida movimentada, que sejam de rápido preparo e fácil consumo. Os hambúrgueres se enquadram como tal. A necessidade de satisfazer o consumidor, aliada às preferências e custos, impõe desafios à indústria de alimentos. Os hambúrgueres, hoje em dia, devem ser trabalhados para satisfazer estas necessidades, devendo as indústrias produtoras buscar formulações que ofereçam produtos variados, para ganhar a confiança do consumidor, sem comprometer os atributos relacionados à qualidade.

### **3. CONCLUSÕES**

Considerando as informações disponíveis na literatura, concluiu-se que as características das própolis são muitas, mas esta pesquisa focou nas características antimicrobianas e antioxidantes de três variedades típicas da região nordeste. Demonstrando assim, que estas apresentam resultados promissores e que deve-se estimular a sua utilização em estratégias preventivas de contaminação microbiana e da oxidação do produto cárneo, hambúrguer. Sugere-se ainda o desenvolvimento de estudos futuros, contemplando demais variedades encontradas no nordeste, especificamente na Paraíba.

### **4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- AGA, H.; SHIBUYA, T.; SUGIMOTO, T.; KURIMOTO, M.; NAKAJIMA, S. Isolation and identification of antimicrobial compounds in Brazilian propolis. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, v.58, n.5, p.945–946, 1994.
- AKESOWAN, A. Quality characteristics of light pork burgers fortified with soy protein isolate. *Food Sci. Biotechnol.* v.19, n.5, p.1143-1149, oct. 2010.
- ALENCAR, S.M.; OLDONI, T.L.C.; CASTRO, M.L.; CABRAL, I.S.R.; COSTA-NETO, C.M.; CURY, J.A.; ROSALEN, P.L.; IKEGAKID, M. Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: red propolis. *Journal of Ethnopharmacology*, 2007.

ALVES, E. Atividade Antioxidante de Extratos de Própolis Comercializados em Santa Maria – RS e Aplicação em Linguiça Toscana Refrigerada. Dissertação. (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, 2009.

ARAÚJO, M. J.; MATTAR, N. S.; REIS, A. S.; SERRA, I. C.; FIALHO, E. M.; ASSUNÇÃO, A. K.; DUTRA, R. P.; NOGUEIRA, A. M.; LIBÉRIO, S. A.; GUERRA, R. N.; LOPES, A. S.; RIBEIRO, M. N.; NASCIMENTO, F. R. Pharmacognostic and acute toxicological evaluation of *Scaptotrigona aff. postica* própolis extract in pre-clinical assays. **Natural Products Research**, v. 25, n 11, p.1037-1064, 2011.

BARBOSA-PEREIRA, L., ANGULO, I., LAGARÓN, J., PASEIROLOSADA, P., CRUZ, J. Development of new active packaging films containing bioactive nanocomposites. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, p. 9, 2014.

BARUD, H. S.; ARAÚJO-JÚNIOR, A. M.; SASKA, S.; MESTIERI, L. B.; CAMPOS, J. A. D. B.; FREITAS, R. M.; FERREIRA, N. U.; NASCIMENTO, A. P.; MIGUEL, F. G.; VAZ, M. M. O. L. L.; BORIZON, E. A.; OLIVEIRA, F. M.; GASPAR, A. M. M.; RIBEIRO, S. J. L.; BERRETTA, A. A. Antimicrobial Brazilian Propolis (EPP-AF) Containing Biocellulose Membranes as Promising Biomaterial for Skin Wound Healing. **Evidence based complementary and alternative medicine**, v. 2013, p.23-34, 2013.

BASTOS, E. M. A. F. et al. Indicadores físico- químicos e atividade antibacteriana de própolis marrom frente à *Escherichia coli*. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, Belo Horizonte, v. 63, n. 5, p.1255- 1259, 2011.

BERNARDO, P.E.M.; NAVAS, S.A.; MURATA, L.T.F.; ALCÂNTARA, M.R.S. Bisfenol A: o uso em embalagens para alimentos, exposição e toxicidade – Uma Revisão. *Rev Inst Adolfo Lutz*. São Paulo, 2015.

BITTENCOURT, F. O.; PADILHA, F. F.; SIQUEIRA, A. L.; DANTAS, C. G.; MENDONÇA, L. S.; ARAÚJO, Y. L. F. M.; ARAÚJO, E. D.; CARDOSO, J. C. Avaliação da atividade antifúngica de formulações semi-sólidas contendo extrato hidroalcoólico de própolis vermelha. **Scientia Plena**, v. 10, n. 10, p. 01-11, 2014.

BODAGHI, H. et al. Evaluation of the photocatalytic antimicrobial effects of a TiO<sub>2</sub> nanocomposite food packaging film by in vitro and in vivo tests. *LWT-Food Science and Technology*, v. 50, n. 2, p. 702-706, 2013.

BOTREL, D. A.; SOARES, N. F. F.; CAMILLOTO, G. P.; FERNANDES, R. V. B. Revestimento ativo de amido na conservação pós-colheita de pera Williams minimamente processada. *Ciência Rural*, v.40, n.8, 2010.

BRAGA, T. S. F. Extrato padronizado de própolis (EPP-AF®) aumenta a sobrevivência em camundongos imunossuprimidos com sepse induzida por *Candida Albicans*. 2017. 105f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997 ementa não oficial: Aprova o Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares - definições, classificação e emprego. Publicação: D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 28 de out. 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa e Agropecuária. Instrução Normativa N° 20, de 31 de julho de 2000. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade de almôndega, de apresentado, de fiambre, de hambúrguer, de kibe, de presunto cozido e de presunto. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 03 de agosto de 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa n° 03, de 19 de janeiro de 2001. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geléia Real, Geléia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, n. 149, p. 18, 3 ago. 2001a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, pecuária e abastecimento. Instrução Normativa n° 13 de 30 de nov. de 2004. Regulamento técnico sobre aditivos para produtos destinados à alimentação animal. Brasília, 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. In: CATEF: Câmara Técnica de Medicamentos Fitoterápicos. Nota Técnica sobre o Registro de Produtos Contendo Própolis. Brasília, 2005a. Disponível em: < <http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/catef/index.htm> >. Acesso em: 20. abril. 2018.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. GMEFH/GGMED. Prêmio Inovação na Gestão Pública Federal, de 28 de setembro de 2009. Medicamentos fitoterápicos: Parte I – Registro e políticas, Brasília, 2007. Disponível em: < [http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/fitoterapicos/medicamentos\\_fitoterapicos.pdf](http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/fitoterapicos/medicamentos_fitoterapicos.pdf) >. Acesso em: 20. abril. 2018.

BURDOCK, G.A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). Food and Chemical Toxicology 1998.

CABRAL, I.S.R.; OLDONI, T.L.C.; PRADO, A.; BEZERRA, R. M. N.; ALENCAR, S. M. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. Quim. Nova. 2009.

CAMO, J., LORÉS, A., DJENANE, D., BELTRÁN, J. A., RONCALÉS, P. Display life of beef packaged with an antioxidant active film as a function of the concentration of oregano extract. Meat Science, v. 88, n. 1, p. 174–178, 2011.

CAMPOS, C. A.; GERSCHENSON, L. N.; FLORES, S. K. Development of edible films and coatings with antimicrobial activity. Food and Bioprocess Technology, v. 4, n. 6, p. 849-875, 2011.

CERQUEIRA, M. A.; SOUSA-GALLAGHER, M. J.; MACEDO, I.; RODRIGUEZ-AGUILERA, R.; SOUZA, B. W. S.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A. Use of galactomannan edible coating application and storage temperature for prolonging shelf-life of “Regional” cheese. Journal of Food Engineering, v. 97, p. 87-94, 2010.

CHIATTONE, P. V. Ácido ascórbico, eritorbato e mistura comercial na redução da oxidação de hambúrguer bovino processado com água ozonizada. 2010. 124 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2010.

CHOUDHARI, M. K.; PUNEKAR, S. A.; RANADE, R. V.; PAKNIKAR, K. M. Antimicrobial activity of stingless bee (*Trigona* sp.) propolis used in the folk medicine of Western Maharashtra, India. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 141, n. 1, p. 363-367, 2012.

DAINELLI, D. et al. Active and intelligent food packaging: legal aspects and safety concerns. *Trends in Food Science & Technology*, v. 19, p. S103-S112, 2008.

DALL'AGNOL, R. P. A Utilização De Corantes Artificiais Em Produtos Alimentícios No Brasil/ The Utilization Of Artificial Colorings In Alimentary Products In Brazil. In: Simpósio Internacional de Inovação Tecnológica, 4., 2013, Aracaju. Anais... Aracaju: SIMTEC, 2013.

DAUGSCH, A. A própolis vermelha do nordeste do Brasil e suas características químicas e biológicas. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas- Faculdade de Engenharia de Alimentos, São Paulo, 2007.

FARIAS, J. H. C.; REIS, A. S.; ARAÚJO, M. A. R.; ARAÚJO, M. J. A. M.; ASSUNÇÃO, A. K. M.; FARIAS, J. C.; FIALHO, E. M. S.; SILVA, L. A.; COSTA, G. C.; GUERRA, R. N. M.; RIBEIRO, M. N. S.; NASCIMENTO, F. R. F. Effects of stingless bee propolis on experimental asthma. **Evidencebased Complementary and Alternative Medicine**, p. 1-8, 2014.

FERNANDES JUNIOR, A. Atividade antimicrobiana de própolis de *Apis mellifera* obtidas em três regiões do Brasil. *Cienc. Rural*, Santa Maria, v. 36, n. 1, 2006.

FERREIRA, M. S.; MÁRSICO, E. T.; MEDEIROS, R. J.; POMBO, C. R.; FREITAS, M. Q.; SÃO CLEMENTE, S. C.; CONTE-JUNIOR, C. A. Comparação das características físico-químicas e sensoriais de hambúrgueres de carne bovina elaborados com cloreto de sódio, polifosfato e transglutaminase. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 34, n. 1, p. 52-60, 2012.

FREITAS, J. A. de.; ANTONANGELO, R. P.; RIBERITO, J. L.; JOSLIN, M.; NOGUEIRA, S. R. P.; SOUZA, J. C. Extrato Etanólico de Própolis na Alimentação de Vacas Leiteiras. *Revista Brasileira de Saúde. Prod. Ani.* v.10, n.2, p. 333-343, 2009.

FROZZA, C.O.S.; GARCIA, C.S.C.; GAMBATO, G.; SOUZA, M.D.O.; SALVADOR, M.; MOURA, S.; PADILHA, F.F.; SEIXAS, F.K.; COLLARES, T.; BORSUK, S.; DELLAGOSTIN, O.A.; HENRIQUES, J.A.P.; ROESCH-ELY, M. Chemical characterization, antioxidant and cytotoxic activities of Brazilian red própolis. *Food and Chemical Toxicology*, Oxford, v. 52, n. 1, p. 137–142, 2013.

GALLO, J. A. Q. et al. Lipid hydrophobicity, physical state and distribution effects on the properties of emulsion- based films. *Journal of Membrane Science*, v. 180, n. 1, p. 37- 46, 2000.

GENNADIOS, A.; WELLER, C. Edible Films and Coatings from Wheat and Corn Proteins. *Food Technology*. v. 44, n. 10, p.63-69, 1990.

GEORGANTELIS, D. et al. Effect of Rosemary extract, chitosan and alfa-tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4°C. *Meat Science*, v. 76, n. 1, p. 172-181, 2007.

GÓMEZ-ESTACA, J. et al. Advances in antioxidant active food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, v. 35, n. 1, p. 42-51, 2014.

GONSALES, GZ; ORSI, RO; FERNANDES JUNIOR, A; RODRIGUES, P; FUNARI, SRC. Antibacterial activity of propolis collected in different regions of Brazil. *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis* 12: 276-284, 2006.

GONÇALVES, P. H. P. **Análise da variabilidade genética de uma pequena população de *Frieseomelitta varia* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) por meio de análise do DNA mitocondrial, microsatélites e morfometria geométrica das asas.** 2010. 148f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

HIPÓLITO, T. M. M. Própolis de abelha nativa sem ferrão da espécie *Frieseomelitta varia*: determinação da composição química e atividades biológicas. 2013. 96f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, Minas Geras, 2013.

HYGREEVA, D.; PANDEY, M. C.; RADHAKRISHNA, K. Potential applications of plant based derivatives as fat replacers, antioxidants and antimicrobials in fresh and processed meat products. *Meat Science*, v.98, n.1, p.47-57, 2014.

INABA, R.M.; PASIN, L.E.V. Custo da produção de mel no município de Taubaté. Taubaté: UNITAU; 1998. (Comunicado técnico).

INOUE, H. T. et al. Produção de própolis por diferentes métodos de coleta. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal (Arch. Latinoam. Prod. Anim.)* ISSN 1022-1301. Asociación Latinoamericana de Producción Animal. Vol 15, número 2: 65-69. 2007. Disponível em: < <http://www.alpa.org.ve/PDF/Arch%2015-2/htiemiinoue.pdf> > Acesso em: 20. abril. 2018.

JIMÉNEZ, A.; FABRA, M. J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Edible and Biodegradable Starch Films: A Review. *Food Bioprocess Technology*. v.4, 2012.

JÚNIOR, A. V. et al. Biodegradable duo-functional active film: antioxidant and antimicrobial actions for the conservation of beef. *Food and Bioprocess Technology*, v. 8, n. 1, p. 75-87, 2015.

KATIRCIOGLU, H.; MERCAN, M. Antimicrobial activity and chemical compositions of Turkish propolis from different region. *African Journal of Biotechnology*, Nairobi, v. 5, n. 11, p. 1151-1153, 2006.

KEENAN, D. F.; RESCONI, V.C.; KERRY, J.P., & HAMILL, R.M. Modelling the influence of inulin as a fat substitute in comminuted meat products on their physico-chemical characteristics and eating quality using a mixture design approach. *Meat science*, v. 96, n. 3, p. 1384–94, 2014.

KONISHI, S. et al. Análise da influência de agentes solubilizantes na atividade antimicrobiana de extratos de própolis e de uma formulação de spray hidroalcoólico. *Mensagem Doce*, São Paulo, v. 75, n. 1, p. 22-25, 2004.

KUROPATNICKI, A. K.; SZLISZKA, E.; KROL, W. Historical aspects of propolis research in modern times. **Evidence-based complementary and alternative medicine**, v. 2013, p. 37-45, 2013.

LINS, A. S. et al. Implantação das análises físico- químicas da própolis no laboratório da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola. *Rev. Eletrônica Multidisciplinar Pindorama*, Salvador, n. 1, vol.1, p. 1-20, ago, 2010. Disponível em: < [http://www.revistapindorama.ifba.edu.br/ed\\_at\\_ual.php](http://www.revistapindorama.ifba.edu.br/ed_at_ual.php) > Acesso em: 20. abril. 2018.

LORENZO, J. M.; BATLLE, R.; GÓMEZ, M. Extension of the shelflife of foal meat with two antioxidant active packaging systems. *LWT - Food Science and Technology*, v. 59, n. 1, p. 181–188, 2014.

LUVIELMO, M. M.; LAMAS, S. V.; Revestimentos comestíveis em frutas. *Estudos Tecnológicos em Engenharia*. Pelotas. Vol.8, N.1, p.8-15, 2012.

LUSTOSA, S. R. et al. Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. *Rev. bras. Farmacognosia*, Recife, vol. 18, n.3, p. 447-454, 2008.

MACHADO, J. L.; ASSUNÇÃO, A. K. M.; SILVA, M. C. P.; REIS, A. S.; COSTA, G. C.; ARRUDA, D. S.; ROCHA, B. A.; VAZ, M. M. O. L. L.; PAES, A. M. A.; GUERRA, R. N. M.; BERRETA, A. A.; NASCIMENTO, F. R. F. Brazilian green propolis: anti-inflammatory property by an immunomodulatory activity. **Evidence Based Complementary and Alternative Medicine**, p. 1-10, 2012.

MAIA, L. H.; PORTE, A.; SOUZA, V. F. de. Filmes comestíveis: aspectos gerais, propriedades de barreira a umidade e o oxigênio. *Boletim do CEPPA*, Curitiba, v.18, n.1, 2000.

MAIA-SILVA, C; SILVA, C.I DA; HRNCIR, M.; QUEIROZ, R. T DE;-FONSECA, V. L. I. **Guia de plantas: visitadas por abelhas na Caatinga**. Fortaleza, CE, Editora Fundação Brasil Cidadão, 2012. ISBN 978-85-98564-05-0. Disponível em: <[http://www.mma.gov.br/estruturas/203/\\_arquivos/livro\\_203.pdf](http://www.mma.gov.br/estruturas/203/_arquivos/livro_203.pdf)>. Acesso em: 01 agosto de 2018.

MARTINS, J. T; CERQUEIRA, M. A; SOUZA, W. S; AVIDES, M; VICENTE, A. A. Shelf life extension of ricotta cheese using coating of galactomannans from nonconventional sources incorporating nisin against *Listeria monocytogenes*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.58, p. 1884–1891, 2010.

MARTYN, D.M.; MCNULTY, B.A.; NUGENT, A.P.; GIBNEY, M.J. Food Additives and Preschool Children. *Proc Nutr Soc*. 2013.

MATTIGATTI, S.; JAIN, D.; RATNAKAR, P.; MOTURI, S.; VARMA, S.; RAIRAM, S. Antimicrobial Effect of Conventional Root Canal Medicaments vs Propolis against *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, v. 13, n. 3, p. 305-309, 2012.

MENDES, T. F. *Otimização de Produtos Reestruturados de Carne de Perna de Borrego*. 2011. 97p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar) – Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2011.

MIRABELLA, N.; CASTELLANI, V.; SALA, S. Current options for the valorization of food manufacturing waste: a review. *Journal of Cleaner Production*, v. 65, p. 28-41, 2014.

MORAES, C. S. *Isolamento e identificação de formononetina da própolis de João Pessoa-PB, estudo de sua sazonalidade e avaliação de suas atividades biológicas*. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas- Faculdade de Engenharia de Alimentos, São Paulo, 2009.

NAGAI, T. et al. Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis. *Food Chemistry*, London, v. 80, n. 1, p. 29-33, 2003.

NILSON, E. A. F.; JAIME, P. C.; RESENDE, D.O. Iniciativas desenvolvidas no Brasil para a redução do teor de sódio em alimentos processados. *Ver. Panam. Salud Pública*, v. 32, n. 6, p. 287– 292, 2012.

NUNES, L. C. C. et al. Variabilidade sazonal dos constituintes da própolis vermelha e bioatividade em *Artemia salina*. *Rev. bras. farmacogn*, João Pessoa, vol.19, n.2b, p. 524-529, 2009.

OLDONI, T. L.C.; CABRAL, I.C.R.; D'ARCEA, M.A.B.R.; ROSALEN, P.L.; IKEGAKIC, M.; NASCIMENTO, A.M.; ALENCAR, S.M. Isolation and analysis of bioactive isoflavonoids and chalcone from a new type of Brazilian propolis. *Separation and Purification Technology*. 2011.

OLIVEIRA, D. F., COELHO, A. R., BURGARDT, V. da C da F., HASHIMOTO, E. H., LUNKES, A. M., MARCHI, J. F., & TONIAL, I. B. Alternativas para um produto cárneo mais saudável: uma revisão. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 16, n.3, p.163-174, 2013.

PACKER, J. F; LUZ, M. M. S. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. *Rev. bras. Farmacognosia*, Curitiba, vol. 17, n. 1, p. 102-107, 2007.

PARK, Y.K; ALENCAR, S.M; SCAMPARINE, A.R.P.; AGUIAR, C.L. Própolis produzida no sul do Brasil, Argentina e Uruguai: Evidências fitoquímicas de sua origem vegetal. *Ciência Rural* 2: 2002.

PASCALL, M. A.; LIN, S. J. The Application of Edible Polymeric Films and Coatings in the Food Industry. *Journal Food Process Technology* 4: e116. doi:10.4172/2157-7110.1000e116. 2013.

PELLISSARI, F. M.; YAMASHITA, F.; GARCIA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E.; GROSSMANN, M. V. E. Constrained mixture design applied to the development of cassava starch–chitosan blown films. *Journal of Food Engineering*, Londres, v. 108, n. 2, p. 362-367, 2012.

PEREIRA, D. A. Extração Aquosa de Própolis e Secagem em Leito de Espuma para Uso em Alimentos. 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Itapetinga, 2008.

PETER, C. M.; PICOLI, T.; ZANI, J. L.; LATOSINSKI, G. S.; LIMA, M.;VARGAS, G. D.; HÜBNER, S. O.; FISCHER, G. Atividade antiviral e virucida de extratos hidroalcoólicos de própolis marrom, verde e de abelhas Jataí (*Tetragonisca angustula*) frente ao herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) e ao vírus da diarreia viral bovina (BVDV). **Revista Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 7, p. 667-675, 2017.

PHILIPPI, S.T. *Nutrição e Técnica Dietética*. 2 ed. Barueri: Manole, 2006.

PINTO, L. M. A.; PRADO, N. R. T.; CARVALHO, L. B. Propriedades, usos e aplicações da própolis. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 8, n. 3, p. 76 - 100, 2011.

POSSAMAI, M. M.; HONORIO-FRANÇA, A. C.; REINAQUE, A. P.; FRANÇA, E. L.; SOUTO, P. C. Brazilian propolis: a natural product that improved the fungicidal activity by blood phagocytes. **BioMed Research International**, p. 50-59, 2013.

PRADO, O.P.P. Própolis e monensina sódica em dietas volumosas sobre a digestibilidade e características ruminais de bovídeos. (Tese). Maringá (PR). Universidade Estadual de Maringá; 2008.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Química Nova*, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

REIDEL, R. V. B. Potencial antifúngico e antibiofilme sobre isolados patogênicos de *Candida não-albicans* de diferentes tipos de própolis brasileiras. 2014. 107f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

RIGHI, A. A.; ALVES, T.; NEGRI, G.; MARQUES, L. M.; BREYER, H.; SALATINO, A. Brazilian red propolis: unreported substances, antioxidant and antimicrobial activities. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, n. 13, p. 2363-2370, 2011.

ROBERTO, M. M.; MATSUMOTO, S. T.; JAMAL, C. M.; MALASPINA, O.; MARIN-MORALES, M. A. Evaluation of the genotoxicity/mutagenicity and antigenotoxicity/antimutagenicity induced by propolis and *Baccharis dracunculifolia*, by in vitro study with HTC cells. **Toxicology in Vitro**, v.33, p. 9-15, 2016.

RUBIN, L.; WAQUIL, P. Estrutura exportadora do agronegócio e impactos socioeconômicos para os países do cone sul. *Revista de Economia e Sociologia Rural*, Brasília, v.51, n.1, 2013.

SALOMÃO, K.; SOUZA, E. M.; PONS, A. H.; BARBOSA, H. S.; CASTRO, S. Brazilian Green Propolis: Effects *in vitro* and *in vivo* on *Trypanosoma cruzi*. **Evidence -Based Complementary and Alternative Medicine**, p. 11-22, 2011.

SÁNCHEZ-ORTEGA I., GARCÍA-ALMENDÁREZ B. E., SANTOS-LÓPEZ E. M., AMARO-REYES A., BARBOZA-CORONA E. J., AND REGALADO C. Antimicrobial Edible Films and Coatings for Meat and Meat Products Preservation. *The Scientific World Journal*. p.18. 2014.

SANTOS. A. V. dos; TEIXEIRA, A. S.; RODRIGUES, P. B.; FREITAS, R. T. F.; GUIMARÃES, A. M.; GIACOMETTI, R. A. Valor Nutritivo do Resíduo de Própolis Para Frangos de Corte. *Revista Ciência Agrotecnológica*. v.27, n.5. 2003.

SCHENATO, M. T. Coberturas comestíveis à base de quitosana, cálcio e ácidos graxos na qualidade pós-colheita de morangos. 2010. 59f. Monografia (Trabalho de conclusão do Curso de Tecnologia de Alimentos) - Instituto Federal do Rio grande do Sul, Bento Gonçalves, 2010.

SCHEEDER M. R. L. Fat acid composition cooking loss and texture of beef patties from meat of bulls fed different fats. *Meat Science*, Suíça, v.58, p.321-328, jan. 2001.

SEAPA-MG. SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO DE MINAS GERAIS (2012). Minas fortalece produção de própolis verde para aumentar exportação. Disponível em: < <http://www.reformaagraria.mg.gov.br/index.php>>. Acesso em: 03 agosto 2018.

SFORCIN, J. M.; BANKOVA, V. Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? *Journal of Ethnopharmacology*, v. 133, p. 253–260, 2011.

SILVA, J.F.M., SOUZA, M.C., MATTA, S.R., ANDRADE, M.R., VIDAL, F.V.N. Correlation analysis between phenolic levels of Brazilian propolis extracts and their antimicrobial and antioxidant activities. *Food Chemistry*, Reading, v.99, n.3, p.431– 435, 2006.

SILVA, H. M. Caracterização e identificação de leveduras do gênero *Candida* em pacientes transplantados de medula óssea. 2011. 53f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.

SILVA, V. A da. Avaliação citotóxica e genotóxica de *Minosa tenuiflora* (Wild) Poir. (Mimosaceae). 2012. 91p. Dissertação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, PB.

SILVA, C.E. da. Elaboração e avaliação de hambúrgueres de carne bovina com substituições de toucinho por farinha de linhaça. (Dissertação de Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. Londrina, 2013a.

SILVA, S. S.; THOMÉ, G. S.; CATANEO, A. H. D.; MIRANDA, M. M.; ANDRADE, C. G. T. J.; WATANABE, M. A. E.; PIANA, G. M.; SFORCIN, J. M.; PAVANELLI, W. R.; COSTA, I. C. Brazilian propolis antileishmanial and immunomodulatory effects. **Evidence - Based Complementary and Alternative Medicine**, p. 54- 61, 2013b.

SIMÕES, C. C.; ARAUJO, D. B; ARAUJO, R. P. C. Estudo in vitro e ex vivo da ação de diferentes concentrações de extratos de própolis frente aos microrganismos presentes na saliva de humanos. *Rev. bras. Farmacognosia*, Salvador, vol.18, n.1, p. 84-89, 2008.

SIQUEIRA, A. L. DANTAS, C. G.; GOMES, M. Z.; PADILHA, F. F.; ALBUQUERQUE-JÚNIOR, R. L. C.; CARDOSO, J. C. Estudo da ação antibacteriana do extrato hidroalcoólico de propolis vermelha sobre *Enterococcus faecalis*. *Revista de Odontologia da UNESP*, v. 43, n. 6, p. 359-366, 2014.

SMITH, A. F. Hambúrguer: uma história global. São Paulo: Editora Senac, 2012. 192 p.

SOLTANIZADEH, N.; GHIASII-ESFAHANI, H. Qualitative improvement of low meat beef burger using Aloe vera. *Meat Science*, Barking, v. 99, n. 1, p. 75–80, Jan. 2015.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Revista de Nutrição*, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOUSA, T.M.; NETO, A.C.; HERNANDES, T.; SOUTO, P.C.S. Microrganismos patogênicos e indicadores de condições higiênico-sanitária em carne moída comercializada na cidade de Barra do Garças, MT. *Acta Veterinaria Brasilica*, Mossoro, v.6, n.2, p.124-130, 2012.

STULP, M.; CLEMENTE, E.; OLIVEIRA, D.M.; GNAS, B.B.B. Conservação e qualidade de mirtilo orgânico utilizando revestimento comestível a base de fécula de mandioca. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*. Ponta Grossa, v. 6, n. 1, p. 713-721, 2012.

TANADA-PALMU, GROSSO, C. R. F. Development and characterization of edible films based on gluten from semi hard and soft Brazilian wheat flours. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 23, n. 2, p. 264-269, 2003.

TORETI, V. C.; SATO, H. H.; PASTORE, G. M.; PARK, Y. K. Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v.2013, p.1-13, 2013.

TORLAK, E.; SERT, D. Antibacterial effectiveness of chitosan–propolis coated polypropylene films against foodborne pathogens. *International Journal of Biological Macromolecules*, Philadelphia, v. 60, n. 1, p. 52–55, 2013.

VARELA, P., FISZMAN, S.M. Exploring consumers' knowledge and perceptions of hydrocolloids used as food additives and ingredients. *Food Hydrocolloids*, v.30, n.1, p.477-484, Jan., 2013.

VICTORINO, F. R. et al. Antibacterial activity of propolis-based toothpastes for endodontic treatment. *Braz. J. Pharm. Sci.*, Bauru, vol. 45, n.4, p. 795-800, 2009.

ZAHID, N. et al. Efficacy of ethanolic extract of propolis in maintaining postharvest quality of dragon fruit during storage. *Postharvest Biology and Technology*, Amsterdam, v. 79, n. 1, p. 69-72, 2013.

WIESE, H. *Apicultura: novos tempos*. 2. ed. Guaíba: Agrolivros; 2005. 378 p.

## CAPITULO II

### ARTIGO 2 - SCREENING FITOQUÍMICO DE AMOSTRAS DE PRÓPOLIS DO NORDESTE DO BRASIL POR HPLC: VARIEDADES VERDE, NEGRA E VERMELHA

#### RESUMO

A própolis é uma resina natural elaborado por abelhas do gênero *Apis sp.*, e devido à sua atividade antioxidante e antimicrobiana, tem sido usada frequentemente na medicina alternativa em diversos locais do mundo. Essas características biológicas estão atreladas a sua composição química, precisamente aos compostos fenólicos que variam em relação a sua estrutura e concentração dependendo da região de produção, disponibilidade de fontes vegetais para coleta de resinas e época do ano. Diversos experimentos têm sido conduzidos a fim de definir os compostos que caracterizam estas atividades, sendo assim, o objetivo deste estudo foi elaborar e identificar a composição química dos extratos hidroalcoólicos das própolis vermelha, verde e negra por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. Os perfis apresentados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) dos extratos das amostras da própolis verde, vermelha e negra foram bastante semelhantes, mas houve uma grande variação em termos de perfil quantitativo, além de desempenharem um papel essencial na atividade antioxidante. Através dos cromatogramas, verifica-se que em função da concentração de própolis, diferentes compostos fenólicos são extraídos a partir da própolis, resultando em extratos com diferentes propriedades biológicas. Estes dados associados contribuem para o conhecimento da atividade biológica do extrato hidroalcoólico de própolis verde, favorecendo a busca de novos agentes terapêuticos.

**Palavras-chave:** atividade antioxidante, perfil quantitativo, CLAE.

#### ABSTRACT

Propolis is a natural resin made by bees of the genus *Apis sp.*, And because of its antioxidant and antimicrobial activity, it has been used frequently in alternative medicine in several places of the world. These biological characteristics are related to their chemical composition, precisely to the phenolic compounds that vary in relation to their structure and concentration depending on the region of production, availability of plant sources for resin collection and time of year. Several experiments have been conducted in order to define the compounds that characterize these activities. The aim of this study was to elaborate and identify the chemical composition of the hydroalcoholic extracts of red, green and black propolis by High Performance Liquid Chromatography. The profiles presented by High Efficiency Liquid Chromatography (HPLC) of the extracts of the green, red and black propolis samples were very similar, but there was a great variation in terms of quantitative profile, besides playing an essential role in the antioxidant activity. Through the chromatograms, it is verified that as a function of the concentration of propolis, different phenolic compounds are extracted from the propolis, resulting in extracts with different biological properties. These data contribute to the knowledge of the biological activity of the hydroalcoholic extract of green propolis, favoring the search for new therapeutic agents.

**Keywords:** antioxidant activity, quantitative profile, HPLC.

## 1. INTRODUÇÃO

A depender da fonte botânica do ecossistema de onde a própolis está sendo produzida, a mesma apresenta diferente *Screening* fitoquímico, por isso, para a instalação de uma terapêutica adequada com o uso deste produto natural se faz necessário determinar a sua origem botânica através da análise de seu perfil químico comparado com a provável fonte vegetal, bem como determinar sua origem geográfica, aliada à fenologia da planta hospedeira (LINS et al., 2010; PORTILHO et al., 2013).

A origem botânica é o fator determinante na variabilidade química da composição da própolis, e como consequência, das propriedades biológicas a partir de uma determinada região. Na Europa, América do Norte e regiões não tropicais da Ásia, a fonte dominante para a produção da própolis é o exsudato do botão de álamo (*Populus* sp.); já na América do Sul outras espécies vegetais são empregadas como fontes de produção da própolis como o alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia*), rabo-de-bugio (*Dalbergia Ecastophyllum*), copaíba (*Copaifera langsdorffii*), cipreste (*Cupressus sempervirens*) e palmeira-sagu (*Macaranga tanarius*). As amostras originárias destas regiões são quimicamente similares, predominantemente compostas por substâncias flavonoides, como o CAPE (BANKOVA et al., 2013; CASTRO et al., 2013; HIPÓLITO, 2013; SOUZA; FICHER; VARGAS, 2013).

Bankova; Popova; Trusheva (2014) descrevem que o controle da origem geográfica da própolis é fundamental para assegurar uma composição constante e alcançar uma melhor padronização possível.

Estudos recentes apontaram que a composição química e o efeito antimicrobiano das amostras de própolis são dependentes da vegetação ao redor dos apiários. Castro et al. (2007), Siqueira et al. (2014), em estudo sobre a influência da sazonalidade na atividade antibacteriana da própolis das regiões sudeste e nordeste, ao longo dos períodos de safra apícola, pode constatar que a medida que a sazonalidade mudava a atividade antibacteriana das própolis dos tipos 6 (região nordeste) e 12 (região sudeste), sofriam alterações nas concentrações dos compostos bioativos.

Muitos são os métodos utilizados para analisar os compostos químicos da própolis, como os métodos analíticos que se baseiam em curvas de calibração e absorbância, que apesar de pouco sensíveis ainda hoje continuam a serem utilizados; Dentre os métodos pode-se destacar os métodos cromatográficos, a cromatografia em papel, Cromatografia em Camada Delgada (CCD), bidimensional em papel, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e Cromatografia Gasosa (CG), além dos métodos de espectrofotometria de massa. Destes os de

maiores sucesso aplicados à separação e identificação das moléculas que estão solubilizadas nos extratos de própolis são os de Cromatografia Gasosa (CG), Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e a espectrofotometria de massa, que apesar de serem métodos onerosos, são extremamente sensíveis neste processo (ALMEIDA, 2014; PEREIRA et al., 2016).

Sendo assim o objetivo desta pesquisa foi elaborar e identificar a composição química dos extratos hidroalcoólicos das própolis vermelha, verde e negra por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

## **2. METODOLOGIA**

### **2.1. Local da pesquisa**

A pesquisa foi desenvolvida nos Laboratórios do Centro Vocacional Tecnológico (CVT) e no Laboratório de Química, ambos, do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar (CCTA), da Universidade Federal de Campina Grande, campus Pombal, PB.

### **2.2. Procedência das própolis**

As amostras de própolis vermelha, verde e negra utilizadas nesta pesquisa, foram fornecidas pelo especialista Edivaldo Ferreira Pacheco Filho, proprietário dos Apiários EDIMEL – Apicultura e Apiterapia – João Pessoa, no Estado da Paraíba. A vermelha foi escolhida por ser padronizada, tendo seus componentes químicos e seus flavonóides identificados por meio de cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (CLAE) em trabalho desenvolvido por Dausch (2007). As amostras de própolis foram conservadas a temperatura ambiente e protegidas do sol até o momento da elaboração do extrato hidroalcoólico.

### **2.3. Elaboração dos extratos hidroalcoólico de própolis vermelha, verde e negra.**

A extração iniciou-se com o prévio congelamento da própolis bruta (vermelha, verde e negra) a  $-18^{\circ}\text{C}$  por 24 horas, após este período as amostras foram trituradas de modo mecânico em liquidificador industrial de alta rotação (Vithory) para obtenção de um pó (Figura 1).

**Figura 1:** Própolis verde, vermelha e negra em pó.



**Própolis verde**

**Própolis vermelha**

**Própolis negra**

Fonte: Autor (2018)

Após a trituração as amostras (02 gramas de pó) foram pesadas em balança analítica de alta precisão (Shimadzu), diluídas em 25 mL de álcool etílico a 70%. Para a extração o material foi incubado em banho-maria estático a 50 °C por 30 minutos com agitação manual a cada 5 minutos. Em seguida, as soluções ficaram por 48 horas à temperatura ambiente, sendo submetidas a agitações manuais periódicas a cada 2 horas. As amostras foram filtradas a vácuo e centrifugadas a 3.500 rpm por 10 minutos, a 35°C em centrífuga refrigerada NT 815 (Nova Técnica). O sobrenadante foi levado para rotaevaporação a 55°C, a fim de evaporar todo o solvente, e concentrar os extratos hidroalcoólico da própolis bruta. O material foi pesado e o rendimento da extração calculado em relação à massa inicial utilizada e expresso em porcentagem. Seguiu-se metodologia descrita por Bruschi (2006), com pequenas alterações.

A figura 2 apresenta os extratos hidroalcoólicos de própolis verde, vermelha e negra após o processo de rotaevaporação.

**Figura 2:** Extrato hidroalcoólico da própolis bruta.



Própolis verde  
Fonte: Autor (2018)



Própolis vermelha



Própolis negra

#### **2.4. Identificação do perfil químico dos extratos de própolis por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)**

O perfil químico dos extratos de própolis foram determinados pela técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência desenvolvida em colaboração com o Laboratório de Combustíveis e Materiais da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB.

A metodologia utilizada para esta análise seguiu o protocolo descrito por Zhao, Dong, Sun (2009), com adaptações para analisar os compostos fenólicos presentes nos extratos. Foram usados o módulo de separação (LC-20 AT, Shimadzu Corporation, Japão) equipado com uma coluna de 18 cadeias de Carbono em fase reversa (SUPELCOSIL™ LC-PAH CLAE Column, 250 x 4,6 mm, tamanho de partícula 5 µm, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) e um detector UV-VISÍVEL (Rheodyne, EUA).

As amostras foram aluídas em um sistema gradiente que consistiu nas seguintes fases móveis: solvente A (2% de ácido acético, v/v) e solvente B (acetonitrila: metanol, 2:1, v/v), em fluxo constante de 1 mL/min. A temperatura da coluna foi mantida a 40 °C e o volume de injeção foi de 20 µL.

Os picos dos compostos fenólicos foram monitorados a 280 nm e os espectros de absorção de UV-VIS foram registrados em linha a partir de 200 para 600 nm durante a análise por CLAE.

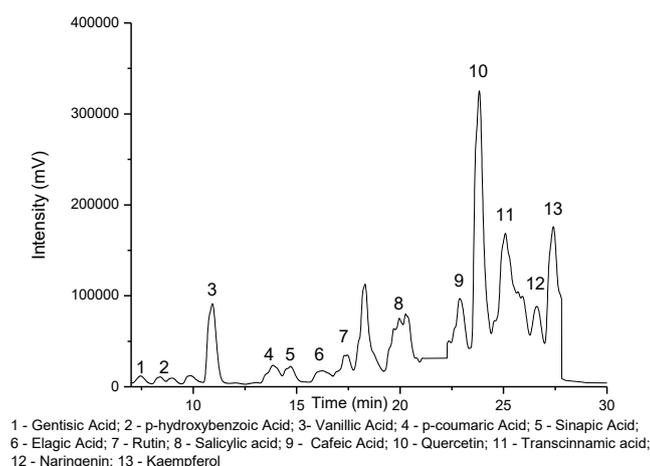
Os compostos fenólicos foram identificados por meio da comparação dos tempos de retenção com os padrões de ácidos fenólicos e flavonoides, sendo quantificados em concentrações de mg/mL. Os cromatogramas foram registrados em software tipo LabSolutions Data System.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Identificação do perfil químico dos extratos hidroalcoólico das própolis vermelha, verde e negra por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

Na figura 3 podemos visualizar o cromatograma do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha bruta (80mg/mL).

**Figura 3:** Cromatograma do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha bruta (80mg/mL)



Fonte: Software tipo LabSolutions Data System, (2018).

O perfil cromatográfico do extrato da própolis vermelha com as concentrações de cada composto químico presente na amostra está apresentado na Tabela 1.

**Tabela 1:** Resultados da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), apresentando os nomes dos compostos químicos, tempo de retenção e concentração dos compostos químicos no extrato hidroalcoólico de própolis vermelha bruta (80 mg/mL).

Nome dos compostos químicos	Tempo de retenção	Concentração do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha bruta (mg/mL)
Ácido 4 Hidroxibenzoico	8,407	0,041
Ácido p Cumárico	13,852	0,04
Ácido Salicílico	19,698	0,93
Ácido Sinapico	14,708	0,279
Ácido Trans cinamico	24,567	0,015
Ácido 2,5 dihidroxibenzoico	7,457	1,028
Ácido Vanílico	9,884	0,035
Ácido Elagico	16,252	0,107
Ácido Cafeíco	22,882	0,642
Rutina	17,312	0,294
Naringenina	25,698	0,109
Kampferol	27,406	1,189

Fonte: Autor, (2018).

Analisando os compostos químicos descritos na Tabela 1, destaca-se os que apresentaram maiores concentrações na própolis vermelha que foram o Ácido 2,5 dihidroxibenzoico (1,028 mg/mL), o Kampferol (1,189 mg/mL) e o ácido salicílico (6,25 mg/mL), sendo esses responsáveis por atividade antioxidante e antibacteriana (OLIVEIRA et al., 2016).

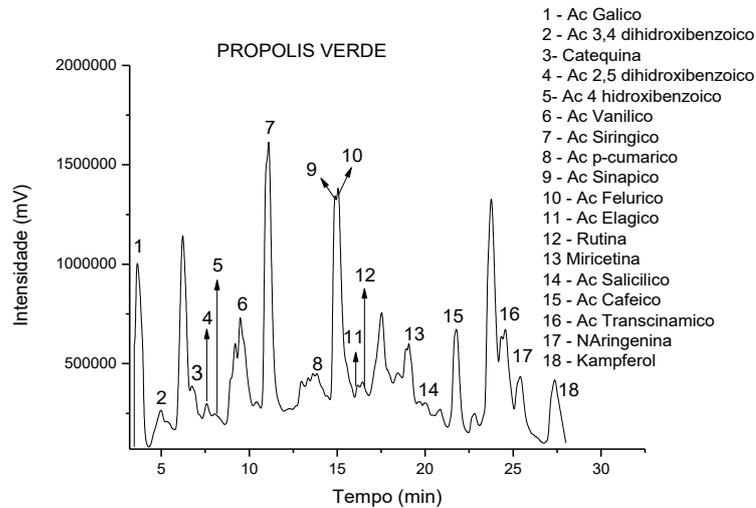
No Brasil, tem sido realizadas pesquisas com a própolis vermelha que tem se mostrado promissora. Foram isolados vários compostos desse tipo de própolis, dentre eles o 2,3-epoxi-2-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftalenodiona um composto inédito que se mostrou um bom agente antibacteriano e observou-se ainda atividade de outras duas benzofenonas preniladas contra bactérias (TRUSHEVA et al., 2006). Em estudos com esse tipo de própolis foi observada atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e *S. mutans* a partir de uma fração clorofórmica desta própolis (ALENCAR et al., 2007), comprovando que esta própolis, assim como a própolis verde, merece estudos mais profundos.

No entanto em análise realizada por Oldoni (2011) foram identificados pela primeira vez em amostras de própolis brasileira os seguintes compostos: metil-oorsellinato, metil-abietato, medicarpina, homopterocarpina, mesitol e 4',7-dimetoxi-2'-isoflavonol e 7,4'-Diidroxiiisoflavona. Pode-se observar a presença de pelo menos 4 isoflavonas nunca antes relatadas, sendo que as isoflavonas homopterocarpina, medicarpina e 4',7-dimetoxi-2'-isoflavonol apresentaram-se como os compostos de maior abundância pela técnica de Cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrofotometria em massa.

A origem botânica da própolis vermelha brasileira tem sido há algum tempo investigada e, agora parece ter sido elucidada. Estudos realizados por Silva et al. (2007), demonstraram que a própolis vermelha possui composição química idêntica à planta *Dalbergia ecasthopyllum*, que é uma leguminosa normalmente encontrada na América tropical e África, rica em isoflavonas. Existem vários trabalhos na literatura demonstrando que essas isoflavonas possuem atividade antimicrobiana, antifúngica, anticâncer e antioxidante (MILITAO, 2006; RUFER; KULING, 2006).

Na figura 4 podemos visualizar o cromatograma do extrato hidroalcoólico de própolis verde bruta (80mg/mL).

**Figura 4:** Cromatograma do extrato hidroalcoólico de própolis verde bruta (80mg/mL)



Fonte: Software tipo LabSolutions Data System, (2018).

A análise cromatográfica do extrato hidroalcoólico de própolis verde bruta detectou a presença e quantificou 18 compostos secundários (Figura 4), identificado dentre eles o ácido 2,5 dihidroxibenzoico, ácido cafeico, ácido gálico, ácido p cumárico, ácido salicílico, catequina, kampferol, miricetina e rutina, principais compostos secundários relacionados às atividades biológicas conferidas à própolis.

O perfil cromatográfico do extrato da própolis verde com as concentrações de cada composto químico presente na amostra está apresentado na Tabela 2.

**Tabela 2:** Resultados da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), apresentando os nomes dos compostos químicos, tempo de retenção e concentração dos compostos químicos no extrato hidroalcoólico de própolis verde bruta (80 mg/mL).

Nome dos compostos químicos	Tempo de retenção	Concentração do extrato hidroalcoólico de própolis verde bruta (mg/mL)
Ácido 2,5 dihidroxibenzoico	7,58	21,39
Ácido 3,4 diroxibenzoico	5,31	1,81
Ácido 4 Hidroxibenzoico	8,03	2,68
Ácido Cafeico	22,81	1,39
Ácido Elágico	16,18	0,69
Ácido Felúrico	15,05	5,07
Ácido Gálico	3,64	0,56
Ácido p Cumárico	13,62	0,56
Ácido Salicílico	19,62	1,78
Ácido Sinápico	14,88	5,66
Ácido Siríngico	10,41	1,02
Ácido Trans cinâmico	24,33	0,31
Ácido Vanílico	9,49	1,35
Catequina	6,74	2,97
Kampferol	27,37	2,46
Miricetina	19,07	3,41
Naringenina	25,41	1,98
Rutina	16,44	4,32

Fonte: Autor, (2018).

O ácido 2,5 dihidroxibenzoico (21,39mg/mL), ácido sinápico (5,66 mg/mL) e o ácido felúrico (5,07mg/mL) que foram os compostos mais abundantes detectados, são largamente difundidos como sendo compostos responsáveis por combater radicais livre, apresentando alto potencial antioxidante, maior até do que a alfa-tocoferol (vitamina E), o ácido ascórbico (vitamina C), e o betacaroteno (VIEIRA, 2016).

Costa et al. (2013), identificou que os derivados das catequinas constituem os principais compostos encontrados no extrato de chá verde dos Açores (108 g/kg) sendo este um potente agente fungistático natural, de baixo custo, frente a cepas de *C. glabrata*, *C. guilliermondii* e *C. krusei*. Os flavonoides miricetina e catequina foram detectados na amostra na concentração de 3,41 mg/mL e 2,97 mg/mL, respectivamente.

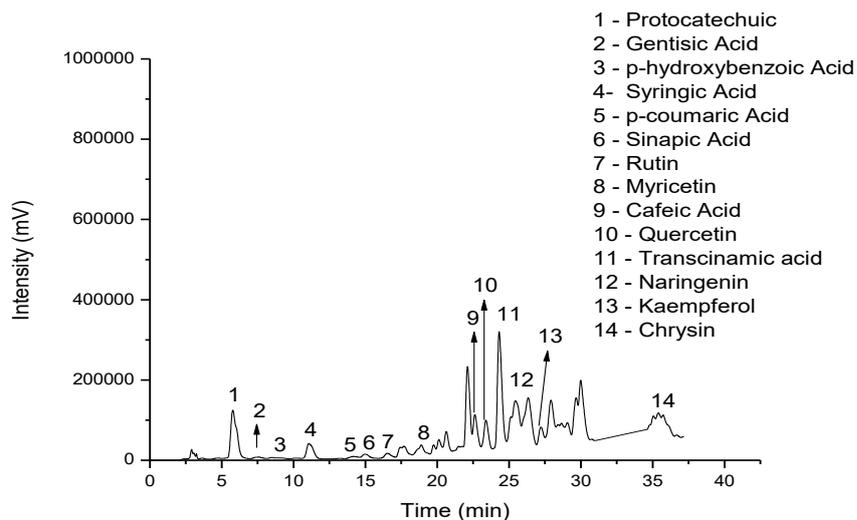
O ácido salicílico também identificado no extrato, na concentração de (1,78 mg/mL) possui ampla atividade antimicrobiana, sendo utilizado em associação com medicamentos como o tolnaftato, no tratamento de micoses cutâneas, como as lesões hiperqueratóticas causadas pela Candidíase ungueal (DELUCIA, 2014).

Queiroz (2010), em trabalho semelhante a este, também identificou a presença do ácido p cumarico (0,75 mg/mL), kaempferol (1,43 mg/mL), ácido ferúlico (1,12 mg/mL) e ácido cafeico (0,44 mg/mL) no extrato etanólico de própolis verde. As concentrações destas substâncias no extrato em questão são maiores, exceto a do ácido p-cumárico (0,56 mg/mL), no entanto, apenas a sua presença já garante ao extrato hidroalcoólico de própolis verde um potencial significativo de atividade farmacológica.

A figura 5 apresenta o cromatograma do extrato hidroalcoólico da própolis negra.

Os principais compostos químicos presentes no extrato de própolis, são reconhecidos na literatura por apresentarem significativas propriedades anti-inflamatória, cicatrizante, anestésica, anticarcinogênica, antiviral, antioxidante e fitotóxica têm sido atribuídas à própolis e aos seus constituintes (SFORCIN, BANKOVA, 2011).

**Figura 5:** Cromatograma do extrato hidroalcoólico de própolis negra bruta (80mg/mL)



Fonte: Software tipo LabSolutions Data System, (2018).

A literatura científica evidencia que mais de trezentas substâncias tem sido identificada em amostras de própolis, das quais se destacam: os flavonoides (galangina, crisina, tectocrisina, pinocembrina, canferol e quercetina), além dos aldeídos aromáticos (vanilina e isovanilina), cumarinas, ácidos fenólicos (ácido caféico, ferúlico, cinâmico e cumárico), ácidos orgânicos (ácido benzóico), ácidos e ésteres alifáticos e aromáticos, açúcares, alcoóis, ácidos graxos, aminoácidos, esteroides, cetonas, chalconas e diidrochalconas, terpenoides e proteínas. Dentre estas classes de substâncias, destacam-se a dos flavonoides e a dos ácidos fenólicos, com inúmeras atividades biológicas descritas para a própolis, segundo Salgueiro e Castro (2016).

O perfil cromatográfico do extrato da própolis negra com as concentrações de cada composto químico presente na amostra está apresentado na Tabela 3.

**Tabela 3:** Resultados da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), apresentando os nomes dos compostos químicos, tempo de retenção e concentração dos compostos químicos no extrato hidroalcoólico de própolis negra bruta (80 mg/mL)

Nome dos compostos químicos	Tempo de retenção	Concentração do extrato hidroalcoólico de própolis negra bruta (mg/mL)
Ácido 3,4 dihidroxibenzoico	5,772	1,135
Ácido 4 Hidroxibenzoico	8,492	0,064
Ácido p Cumárico	14,167	0,033
Ácido Sinapico	14,98	0,204
Ácido Siringico	10,114	0,028
Ácido Trans cinamico	24,313	0,285
Ácido 2,5 dihidroxibenzoico	7,568	1,017
Ácido Cafeico	22,62	0,487
Rutina	16,544	0,278
Miricetina	18,892	0,443
Quercetina	23,392	0,5
Naringenina	25,445	0,428
Kampferol	27,223	0,457
Crisina	35,733	0,152

Fonte: Autor, (2018).

Pode ser constatado na Tabela 3, os compostos químicos que apresentaram maiores concentrações na própolis preta foram o ácido 3,4-dihidroxibenzoico (14,19 mg/mL), a Rutina (12,71 mg/mL), o ácido transcinâmico (6,25 mg/mL), sendo esses responsáveis por atividade antioxidante e antibacteriana (OLIVEIRA et al., 2016) .

Devido à variação na composição química da própolis, é necessária uma padronização destes extratos de própolis. (SALATINO et al., 2011).

#### 4. CONCLUSÕES

Por meio das análises dos cromatogramas, pôde-se verificar que, em função da concentração de própolis, diferentes compostos fenólicos são extraídos a partir da própolis, resultando em extratos com diferentes propriedades biológicas. Estes dados associados contribuem para o conhecimento da atividade biológica do extrato hidroalcoólico de própolis verde, favorecendo a busca de novos agentes terapêuticos.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, T. A. de S.; ALENCAR, N. L.; AMORIM, E. L. C. de; ALBUQUERQUE, U. P. de. A new approach to study medicinal plants with tannins and flavonoids contents from the local knowledge. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, n 1, p. 72-80, 2008.

COSTA, C. D. P. **Avaliação da atividade anti-Candida do chá verde dos Açores Experiência Profissionalizante na Vertente de Farmácia Comunitária, Hospitalar e Investigação**. 2013. 123f. Relatório de Estágio (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade da Beira Interior, Covilhã, 2013.

DAUGSCH, A., MORAES, C. S., FORT, P. e PARK, Y. K. Brazilian Red Propolis-Chemical Composition and Botanical Origin. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 5, p. 435-441, 2008.

DELUCIA, R. (Org). **Farmacologia Integrada : uso racional de medicamentos**. 2 ed. São Paulo: Clube de Autores, 2014.

FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J., SENDRA, E., SAYAS-BARBERÁ, E., NAVARRO, C., & PÉREZ-ALVAREZ, J. A. Physico-chemical and microbiological profiles of “salchichón” (Spanish dry-fermented sausage) enriched with orange fiber. *Meat Science*, v. 80, n.2, p.410-417, 2008.

MELO, L. S. M.; CLERICI, M. T. P. S. Desenvolvimento e avaliação tecnológica, sensorial e físico-química de produto cárneo, tipo hambúrguer, com substituição de gordura por farinha desengordurada de gergelim. *Revista Alimentos e Nutrição – Brazilian Journal of Food and Nutrition*. v. 24, n. 4, p. 361-368, 2013.

MILITAO, G. C. G.; DANTAS, I. N. F.; PESSOA, C.; FALCAO, M. J. C.; SILVEIRA, E. R.; LIMA, M. A. S.; CURI, R.; LIMA, T.; MORAES, M. O.; COSTA-LOTUFO, L. V. Induction of apoptosis by pterocarpanes from *Platymiscium floribundum* in HL-60 human leukemia cells. **Life Sciences**, Amsterdam v. 78, n. 20, p. 2409-2417, Apr. 2006.

OLIVEIRA, V.B.; ZUCHETTO, M.; OLIVEIRA, C.F.; PAULA, C.S.; DUARTE, A.F.S.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G. Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por claudina de *Dicksonia sellowiana* (presl.). Hook dicksoniaceae, **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.18, n.1, supl. I, p.230-239, 2016.

PEREIRA, D. S; FREITAS, C. I. A.; FREITAS, M. O.; MARACAJÁ, P. B.; DA SILVA, J. B. A; SILVA, R. A. da; SILVEIRA, D. C da. Histórico e principais usos da própolis apícola. **ACSA – Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v. 11, n. 2, p. 01-21, abr – jun, 2015.

QUEIROZ, V. C. P. P. **Avaliação do potencial antifúngico de própolis de *Apis mellifera* contra leveduras do gênero *Candida***. 2010. 82f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Odontologia, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, São Paulo, 2010.

RUFER, C. E.; KULLING, S. E. Antioxidant activity of isoflavones and their major metabolites using different in vitro assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, p. 2926-2931, 2006.

SALATINO, A., FERNANDES-SILVA, C. C., RIGHI, A. A., SALATINO, M. L. F. Propolis research and the chemistry of plant products. *Natural Product Reports*, 28, 925-936., 2011.

SALGUEIRO, F. B.; CASTRO, R. N. Comparação entre a composição química e capacidade antioxidante de diferentes extratos de própolis verde. **Quim. Nova**, v. 39, n. 10, p. 1192-1199, 2016.

SILVA, B. B.; ROSALEN, P. L.; CURY, J. A.; IKEGAKI, M.; SOUZA, V. C.; ESTEVES, A.; ALENCAR, S.M. Chemical composition and botanical origin of red própolis, a new type of Brazilian própolis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2007.

SIMÕES-AMBROSIO, L.M.C. ; GREGÓRIO, L.E.; SOUSA, J.P.B.; FIGUEIREDO-RINHEL, A.S.G.; AZZOLINI, A.E.C.S.; BASTOS, J.K.; LUCISANO-VALIM, Y.M. The role of seasonality on the inhibitory effect of Brazilian green propolis on the oxidative metabolism of neutrophils. *Fitoterapia*. 2010.

TONDO, E. C.; BARTZ, S. *Microbiologia e sistemas de gestão da segurança de alimentos*. Porto Alegre: Sulina, 2011. 263 p.

TRUSHEVA, B.; POPOVA M, BANKOVA V, SIMOVA S, MARCUCCI MC, MIORIN PL. Bioactive Constituents of Brazilian Red Própolis. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2006;3(2):249–254.

VIEIRA, E. A. **Potencial nutricional e antioxidante de Goji berry (*Lycium barbarum* L.)**. 2016. 76f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Curso de Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2016.

## CAPITULO III

### ARTIGO 3 - EXTRATOS DE PRÓPOLIS UTILIZADOS COMO ADITIVOS ALIMENTARES NATURAIS NA CONSERVAÇÃO DE HAMBURGUER BOVINO

#### RESUMO

O consumidor tem-se tornado cada vez mais exigente frente às suas escolhas alimentares, procurando cada vez mais produtos que sejam o mais natural possível. Esta pesquisa tem por objetivo elaborar hambúrgueres com adição de extratos hidroalcoólicos de própolis como aditivo natural, verificando suas características físico-químicas e microbiológicas. Foram produzidas quatro formulações, ACTL (formulação controle, sem adição de extrato de propolis), APVA (formulação adicionada de 1% de extrato de própolis vermelha), APVE (formulação adicionada de 1% de extrato de própolis verde) e APNE (formulação adicionada de 1% de extrato de própolis negra). No produto final cru foram realizadas análises físico-químicas de pH, acidez titulável, teor de umidade, teor de cinzas, teor de proteínas, atividade de água, índice de TBARS e teor de lipídios e microbiológicas de Coliformes a 35°C e a 45°C, *Staphylococcus* spp e *Salmonella* sp. Os hambúrgueres foram avaliados durante todo o processo de conservação a cada 30 dias durante 120 dias. Os teores de lipídios aumentaram com a adição de extratos hidroalcoólicos de própolis verde, vermelha e negra quando comparados com a amostra tradicional, o que pode ser visto pelas medias dos 120 dias para cada tratamento, 2,43% (ACTL), 3,66% (APVA), 2,99% (APVE) e 2,83% (APNE). Com isso, ficou demonstrado ser possível elaborar produtos cárneos tipo hambúrguer que agreguem praticidade, sabor e qualidade nutricional.

**Palavras-chave:** microrganismos, produtos cárneos, antioxidante.

#### ABSTRACT

The consumer has become increasingly demanding in front of their food choices, looking for more and more products that are as natural as possible. This research aims to elaborate hamburgers with the addition of hydroalcoholic extracts of propolis as natural additive, verifying their physical-chemical and microbiological characteristics. Four formulations, ACTL (control formulation, without addition of propolis extract), APVA (formulation added with 1% of red propolis extract), APVE (formulation added with 1% of green propolis extract) and APNE (added formulation of 1% of black propolis extract). In the final raw product, physical and chemical analyzes of pH, titratable acidity, moisture content, ash content, protein content, water activity, TBARS index and lipid and microbiological content of Coliforms at 35°C and at 45°C, *Staphylococcus* spp and *Salmonella* sp. The burgers were evaluated throughout the conservation process every 30 days for 120 days. The lipid contents increased with the addition of hydroalcoholic extracts of green, red and black propolis compared to the traditional sample, which can be seen by means of the 120 days for each treatment, 2.43% (ACTL), 3.66 % (APVA), 2.99% (APVE) and 2.83% (APNE). With this, it was demonstrated that it is possible to produce hamburger meat products that add practicality, flavor and nutritional quality.

**Keywords:** microorganisms, meat products, antioxidant.

## 1. INTRODUÇÃO

Produtos cárneos podem se deteriorar devido ao crescimento microbiano e deterioração química, sendo que a forma mais comum de deterioração química é oxidação lipídica e proteica (KARAKAYA; BAYRAK; ULUSOY, 2011). A susceptibilidade à oxidação se deve às altas concentrações de lipídios insaturados, pigmentos heme, catalisadores e vários diferentes tipos de agentes oxidativos presentes no tecido muscular. A deterioração oxidativa em carnes se manifesta com a mudança na coloração, sabor, formação de compostos tóxicos, menor vida de prateleira, perda de nutrientes e água (CONTINI *et al.*, 2014)

O consumo de hambúrguer é um hábito alimentar mundial em virtude das suas características sensoriais, facilidade de preparo e elevado teor de lipídios, proteínas, vitaminas e minerais em sua composição (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Em virtude da sua praticidade de elaboração e por saciar a fome rapidamente, o hambúrguer tornou-se um produto consumido por todas as classes populares. Porém, o consumo exagerado deste tipo de alimento pode ser prejudicial à saúde humana, podendo promover aumento da pressão arterial, excedente de gordura no sangue e obesidade, doenças estas tidas como um problema de saúde pública e que recentemente tem afetado além de adultos e idosos, crianças. Nos Estados Unidos 9% dos indivíduos ingerem hambúrgueres diariamente. Estes alimentos estão relacionados com o sobrepeso, obesidade e doenças crônicas degenerativas que são os principais motivos de morte em vários países. Sem contar que, muitos não apresentam segurança higiênico-sanitárias, ocasionando risco a população pela instalação e circulação de patógenos de origem alimentar (TAVARES e SERAFINI, 2003; SILVA JÚNIOR, 1995).

A própolis possui uma natureza pegajosa e, portanto, não pode ser utilizada em sua forma bruta por isso, muitas vezes é purificada por extração com solventes que são destinados a preservar os compostos fenólicos, pois o método de extração, também pode afetar a atividade biológica (ALENCAR *et al.*, 2013).

No Brasil, o “Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Extrato de Própolis”, presente na normativa nº. 03, de 19 de Janeiro de 2001 do MAPA, preconizam os limites para fixação de identidade e qualidade da própolis e visa manter a qualidade do extrato alcoólico de própolis brasileiro e determinar os requisitos mínimos de qualidade. Algumas dessas especificações são: determinar características sensoriais como aroma, cor, sabor, aspecto, características físico-químicas como teor mínimo de extrato seco (11% m/v), teor

máximo de cera do extrato seco (1% m/m), teor mínimo de flavonoides (0,25% m/m) teor mínimo de compostos fenólicos (0,25% m/m), propriedades antioxidantes (máximo 22 segundos), não autorização de uso de aditivos, critérios macroscópicos e microscópicos, acondicionamento, rotulagem, dentre outros (BRASIL, 2001).

Dentro dos produtos naturais podemos destacar os diferentes produtos apícolas, mel, pólen e as diferentes própolis já caracterizadas, entre elas a própolis vermelha de Alagoas. Conhecida como o decimo terceiro tipo de própolis, a vermelha é rica em metabolitos secundários como flavonoides, ésteres e ácidos fenólicos, isoflavonóides e seus derivados (*pterocarpan*s), estes constituintes, são vastamente utilizados e requerem atenção para novos estudos (RIGHI, 2011).

No bioma da caatinga foi descoberto um tipo de própolis verde diferente daquele produzido na região sudeste do país. Verificou-se que esse tipo de própolis é produzido tanto por abelhas *Apis mellifera L.* (africanizada) como por uma espécie de abelha nativa *Scaptotrigona postica* (abelha sem ferrão) (FERREIRA *et al.*, 2017).

Araújo *et al.*(2008) e Silva (2012) em seus estudos relatam que os constituintes ativos da jurema preta que tem sido descritos, são principalmente os esteroides, terpenoides, flavanoides e taninos. Sendo os taninos considerados um dos responsáveis por atividade contra bactérias, fungos, vírus e protozoários. Por sua vez, a literatura oferece raros relatos de suas propriedades farmacológicas exploradas, e em especial com a própolis preta, proveniente da Jurema preta.

Os aditivos são utilizados para vários fins durante a preparação dos géneros alimentícios, assumindo um papel importante na manutenção da qualidade e características organolépticas dos alimentos, uma vez que as condições ambientais a que os alimentos estão sujeitos, desde o fabrico à comercialização, como alterações de temperaturas, oxidação lipídica, exposição a microrganismos, podem alterar a composição original do produto. A utilização dos aditivos tem contribuído para garantir a segurança do produto, seja no sentido da sua inocuidade, seja no sentido de disponibilidade alimentar (ASAE, 2013).

Um dos desafios da indústria de carnes é a substituição de aditivos artificiais por aditivos naturais que tenham ação antimicrobiana (DIAS, 2011). A utilização de aditivos alimentares não está isenta de riscos para a saúde pública, pois uma má utilização destas substâncias seja por aplicação de teores excessivos ou por inclusão de um aditivo não declarado poderá originar alguns perigos, contudo quando estes são utilizados corretamente, de acordo com a legislação em vigor, não coloca em risco a saúde dos consumidores (ASAE, 2013).

Devido aos poucos estudos de produtos cárneos que utilizam extratos de própolis na formulação e com a importância de se obter um produto cárneo mais saudável e o aproveitamento de subprodutos esta pesquisa, objetivou elaborar hambúrgueres com adição de extratos hidroalcoólicos de própolis como aditivo natural, verificando suas características físico-químicas e microbiológicas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios do Centro Vocacional Tecnológico (CVT) da Universidade Federal de Campina Grande, campus Pombal.

### 2.1. Procedência da carne

A carne utilizada para a elaboração dos hambúrgueres foi o corte acém (carne magra localizada no dianteiro bovino) adquirida diretamente do fornecedor da Masterboi. A carne foi levada para o laboratório em ambiente refrigerado e foi mantida a 4°C até sua utilização. Utilizou-se cerca de 50Kg de carne para a elaboração dos três experimentos. A mesma foi dividida em porções menores de 1Kg para facilitar a manipulação reduzindo os riscos de contaminação.

A figura 1 apresenta as carnes utilizadas na elaboração dos hambúrgueres.

**Figura 1:** Carne utilizada na elaboração dos hambúrgueres.



Fonte: Autor (2018)

### 2.2. Formulação do hambúrguer bovino

Os hambúrgueres foram preparados baseada na metodologia proposta por Melo e Clerici (2013), com algumas modificações. A principal matéria-prima utilizada foi à carne bovina magra acém. Todos os utensílios e equipamentos utilizados na elaboração dos hambúrgueres foram previamente higienizados com hipoclorito de sódio a 200 mg/L (TONDO; BARTZ, 2011). Após a limpeza da carne (retirada da gordura e tecido conjuntivo aparente), esta foi moída em moedor elétrico. Após a moagem, foram adicionados na

sequência à água (gelada) e o sal, para a extração das proteínas miofibrilares. Após conveniente mistura, os demais ingredientes (fécula de mandioca, pimenta do reino em pó, realçador de sabor e fixador de cor) foram colocados um a um. Essa massa foi então dividida em porções, onde foram sendo originados os tratamentos apresentados na Tabela 2. Após a homogeneização dos ingredientes de cada formulação, os hambúrgueres foram prensados e moldados em uma hamburgueira manual de 11 cm de diâmetro, obtendo-se hambúrgueres com peso líquido de 100 g cada e em sequência foram embalados. Os hambúrgueres foram congelados a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  até o momento da realização da caracterização microbiológica e físico-química.

Foram produzidas quatro formulações, que receberam as seguintes codificações: ACTL (formulação controle, sem adição de extrato de propolis), APVA (formulação adicionada de 1% de extrato de própolis vermelha), APVE (formulação adicionada de 1% de extrato de própolis verde) e APNE (formulação adicionada de 1% de extrato de própolis negra).

### **2.3. Caracterização físico-química e microbiológica**

No produto final cru foram realizadas análises físico-químicas de pH, acidez titulável, teor de umidade, teor de cinzas, teor de proteínas, atividade de água, índice de TBARS e teor de lipídios e microbiológicas de Coliformes a  $35^{\circ}\text{C}$  e a  $45^{\circ}\text{C}$ , *Staphylococcus* spp e *Salmonella* sp. As análises foram todas realizadas em triplicata.

Os hambúrgueres foram avaliados durante todo o processo de conservação a cada 30 dias durante 120 dias. As análises foram todas realizadas em triplicata.

#### **2.3.1. Caracterização físico-química**

##### **2.3.1.1. Potencial Hidrogeniônico (pH)**

Foi determinado através do método potenciométrico, com pHmetro de bancada da marca Lucadema e modelo mPA, previamente calibrado com solução tampão de pH 4,00 e 7,00. Seguindo o método 017/IV do Instituto Adolfo Lutz (2008).

##### **2.3.1.2. Acidez Titulável (AT)**

As análises foram realizadas por titulometria de neutralização, utilizando-se 5g amostra/50 mL água destilada, obtido por centrifugação. Os resultados foram expressos em porcentagem (%) de ácido por 100 gramas da amostra. Seguindo o método 016/IV do Instituto Adolfo Lutz (2008).

#### **2.3.1.3. Teor de Umidade (%)**

Foram determinados através do método de secagem a 105°C, em estufa de secagem, de acordo com a metodologia 012/IV do Instituto Adolfo Lutz (2008).

#### **2.3.1.4. Teor de Cinzas (%)**

Foram determinadas segundo o método 018/IV do Instituto Adolf Lutz (2008) e os resultados expressos em porcentagem (p/p).

#### **2.3.1.5. Teor de proteínas (%)**

Foram determinados através do método Kjeldahl, 036/IV descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008) e os resultados encontrados foram expressos em porcentagem (p/p).

#### **2.3.1.6. Teor de lipídios (%)**

Foi determinado através do aparelho extrator de Soxhlet, seguindo o método descrito 033/IV do Instituto Adolf Lutz (2008).

#### **2.3.1.7. Análise de atividade de água (Aw)**

Foram determinados através de equipamento Aqualab Pre Dew (*Water Activity Analyzer*) DECAGON.

#### **2.3.1.8. Análise de TBARS**

Foram realizadas de acordo com a metodologia de Rosmini et al (1996). Onde 5g da amostra, foi transferida para um tubo de 50mL, adicionou-se 10mL de solução de TCA a 10% (v/v), em seguida adicionou-se 5mL de água destilada. Agitou-se por 5min para promover a extração do Malonaldeído (MDA), posteriormente foi centrifugada por 5min a 3500 rpm, filtrou-se o sobrenadante e transferiu-se para tubos de ensaio de 15mL com tampa. Em seguida adicionou-se 5mL de solução de TBA 0,02M, aquecendo em banho-maria (100°C por 35min). Resfriando rapidamente e fazendo a leitura da absorbância a 532nm em espectrofotômetro.

### **2.3.2. Análises microbiológicas**

#### **2.3.2.1. Teste Presuntivo**

Técnica de tubos múltiplos, na qual homogeneizou-se 25 g de amostra, com 225 mL de Água Peptonada 0,1 %. Para o teste presuntivo alíquotas de 1 mL de cada diluição foram inoculadas em três tubos contendo 9 mL de Caldo Lauryl Sulfato Triptose, com tubos de Duhran invertidos e incubados a 35° C/24-48 hs (SILVA, 2015).

#### **2.3.2.2. Coliformes a 35°C**

A partir dos tubos com leitura positiva do teste presuntivo, foi transferida uma alçada da cultura para o teste confirmatório no Caldo Verde Bile Brilhante, com período de incubação a 35°C de 24 a 48 horas, conforme a metodologia Silva, (2015).

#### **2.3.2.3. Coliformes a 45°C**

Para a quantificação de coliformes a 45° C foi utilizada a técnica do Número Mais Provável (NMP), incubados em banho-maria a 45° C/48 h, conforme a metodologia Silva, (2015).

#### **2.3.2.4. *Staphylococcus spp***

Para a determinação de *Staphylococcus spp* foi utilizado o método em superfície no meio de cultura Ágar Baid-Parker suplementado com solução de gema de ovo a 50% e telurito de potássio a 3,5 %. As placas foram incubadas a 35°C/48 horas, segundo a metodologia recomendada (SILVA, 2015).

#### **2.3.2.5. *Salmonella sp***

Na determinação de presença de *Salmonella sp* foi utilizado o método em superfície no meio de cultura *Salmonella* Diferencial Ágar, incubando-se a temperatura de  $36 \pm 1$  °C/48 horas, segundo a metodologia recomendada (SILVA, 2015).

### **2.4. Análise estatística**

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. As análises foram realizadas em triplicata. Todos os cálculos foram realizados nos softwares Microsoft Office Excel 2010 e SISVAR 5.6. As amostras foram submetidas a análise de variância e a diferença entre os tratamentos foi comparada pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A legislação brasileira (BRASIL, 2001) prevê padrões microbiológicos sanitários aceitáveis para hambúrgueres, como mostra a Tabela 1, para garantir um produto microbiologicamente aceitável para os consumidores.

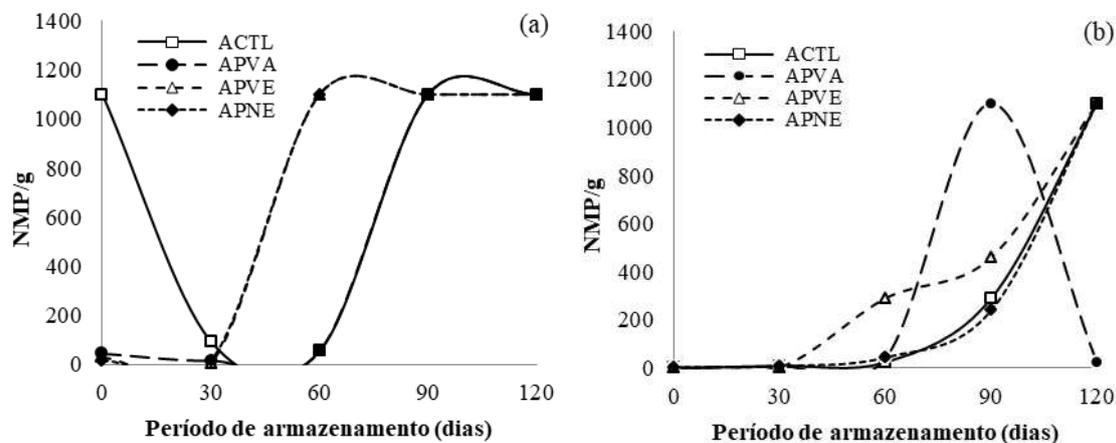
**Tabela 1:** Padrões microbiológicos sanitários aceitáveis para hambúrgueres.

Microrganismo	Tolerância para amostra indicativa
Coliformes a 45 °C/g	$5 \times 10^3$
<i>Staphylococcus</i> Coagulase Positiva/g	$5 \times 10^3$
<i>Salmonella</i> sp./25 g	Ausência

Fonte: Brasil, 2001.

Nenhuma amostra apresentou contaminação por *Salmonella* sp. A RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001, estabelece como padrão de qualidade para produtos cárneos crus, refrigerados ou congelados (hambúrgueres, almôndegas, quibe e similares); produtos a base de sangue e derivados "in natura"; embutidos frescos (linguiças cruas e similares), a ausência de *Salmonella* sp. em 25g da amostra (BRASIL, 2001).

A Figura 2 apresenta os resultados da análise de coliformes a 35°C e a 45°C realizados nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Figura 2:** Número Mais Provável (NMP/g) de coliformes a 35°C (a) e de coliformes a 45°C (b) em hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis.

As contagens de coliformes a 35°C e a 45°C mostram a presença de coliformes em todos os tempos avaliados, nas quatro amostras, variando de <2 a 1100 NMP/g para coliformes a 35°C (Figura 1a) e a 45°C (Figura 1b). Segundo Brasil (2001) é permitido até  $5 \times 10^3$  NMP/g para coliformes termotolerantes (coliformes a 45°C), de tolerância máxima para amostras indicativas. Assim, os resultados revelam que apesar da presença de coliformes, todas as amostras de hambúrgueres de carne bovina estavam dentro dos padrões exigidos pela legislação vigente, indicando que as amostras podem ser consumidas sem causar danos a

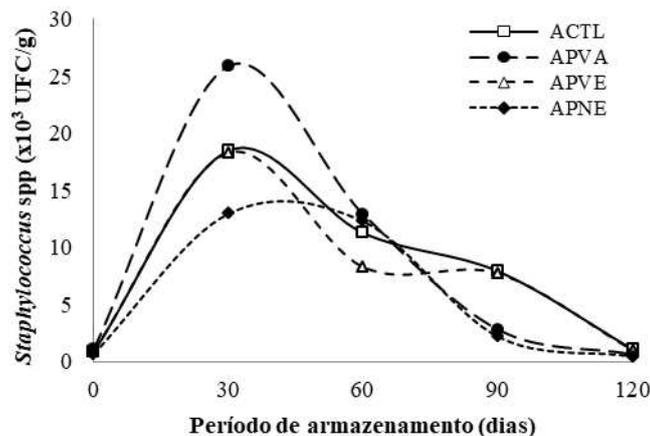
saúde do público consumidor. Entretanto, a presença de coliformes mostra que o processamento não foi realizado de forma higiênica.

Na figura 2a observa-se que as quatro amostras apresentaram comportamento semelhantes, no entanto na figura 2b a amostra APVA apresentou um pico aos 90 dias de armazenamento o que pode ter ocorrido por contaminação cruzada.

Melo et al. (2012), avaliando a qualidade higiênico sanitária de hambúrguer industrializado encontraram valores de <3 até 1.1000 NPM/g para coliformes totais (a 35°C). Menezes e Alexandrino (2014) realizaram as contagens de coliformes a 35°C e a 45°C em hambúrgueres comercializados em embalagens primárias e secundárias, eles encontraram valores de >1.100 NMP/g para coliformes totais e termotolerantes, estando acima do valor permitido pela legislação.

A Figura 3 apresenta os resultados da análise de *Staphylococcus* spp realizados nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Figura 3:** Contagem de *Staphylococcus* spp realizados nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis.



A carne e seus derivados são excelentes meios de cultura para os mais diferentes microrganismos. Isso devido a sua rica composição química em água e nutrientes que favorecem o desenvolvimento microbiano. Como podemos observar na figura 3 houve um crescimento microbiano aos 30 dias, decaindo aos 60 dias de armazenamento, evidenciando a eficiência da aplicação dos extratos das própolis como aditivo antimicrobiano, já que as amostras APVA, APVE e APNE, reduziram a contaminação quando comparadas a amostra controle (ACTL).

*Staphylococcus* spp. são membros da microbiota da pele e das mucosas de seres humanos, sendo o *S. aureus* causador de toxinas termoestáveis, responsáveis por intoxicações alimentares (KONEMAN et al., 2001; LE LOIR et al., 2003). Os *Staphylococcus* spp. são microrganismos mesófilos com temperatura de crescimento entre 7 e 47,8° C e podem gerar enterotoxinas termorresistentes a temperaturas entre 10 e 46° C, com temperatura ótima entre 40 e 45° C. O pH ideal para seu desenvolvimento varia entre 7 a 7,5, mas é possível a multiplicação em alimentos com pH variando entre 4,2 e 9,3 (SANTANA, 2010).

A Tabela 2 apresenta o resumo da análise de variância dos parâmetros físico-químicos realizados nas amostras de hambúrguer bovino adicionados de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Tabela 2:** Resumo da análise de variância para a atividade de água ( $A_w$ ), pH, acidez total titulável (ATT), teor de água (TA), proteínas, lipídeos e índice de oxidação (TBARS) em hambúrguer bovino adicionados de extratos de própolis em um período de armazenamento.

FV	GL	Quadrados médios							
		$A_w$	pH	ATT	TU	PT	LIP	TBARS	Cinzas
Aditivos (A)	3	0,00001*	0,019 <sup>ns</sup>	0,976**	8,358*	2,374 <sup>ns</sup>	3,933**	21,723**	0,008 <sup>ns</sup>
Tempo (T)	4	0,00003**	0,303**	2,944**	3,348 <sup>ns</sup>	93,878**	0,339**	0,201*	0,425**
Interação A x T	12	0,00002**	0,005 <sup>ns</sup>	0,197**	6,141**	5,631 <sup>ns</sup>	0,781**	1,339**	0,007 <sup>ns</sup>
Erro	40	0,00001	0,025	0,043	2,217	3,563	0,011	0,077	0,024
CV (%)	-	0,18	2,70	5,21	2,04	8,75	3,57	6,75	8,09

ns, \*\*, \* respectivamente não significativos, significativo a  $p < 0,01$  e  $p < 0,05$ .

De acordo com a Instrução Normativa nº 20/ DAS - DIPOA/MAPA (2000), que regulamenta a identidade e qualidade de produtos cárneos tipo hambúrguer, diz que, os requisitos das características sensoriais do hambúrguer envolvem textura, cor, sabor e odor próprios. Também devem atender as seguintes características físico-químicas: gordura (máxima) 23,0%; proteína (mínima) 15,0%; carboidratos totais 3,0%; teor de cálcio (máximo base seca) 0,1% em hambúrguer cru e 0,45% em hambúrguer cozido. Os hambúrgueres devem ser embalados com materiais adequados que confirmam proteção apropriada ao mesmo. Na exposição à venda, devem ser mantidos sob congelamento (BRASIL, 2000).

A Tabela 3 apresenta os resultados para a atividade de água ( $a_w$ ) realizados nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Tabela 3:** Resultados para atividade de água (aw) dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis.

Tratamentos	Tempos				
	0	30	60	90	120
ACTL	0,994 <sup>Aa</sup>	0,992 <sup>Aab</sup>	0,990 <sup>Ab</sup>	0,990 <sup>Bab</sup>	0,991 <sup>Aab</sup>
APVA	0,995 <sup>Aa</sup>	0,991 <sup>Ab</sup>	0,990 <sup>Abc</sup>	0,991 <sup>Bb</sup>	0,987 <sup>Bc</sup>
APVE	0,990 <sup>Bb</sup>	0,991 <sup>Ab</sup>	0,991 <sup>Ab</sup>	0,996 <sup>Aa</sup>	0,994 <sup>Aab</sup>
APNE	0,994 <sup>Aa</sup>	0,991 <sup>Aa</sup>	0,984 <sup>Bb</sup>	0,991 <sup>Ba</sup>	0,993 <sup>Aa</sup>

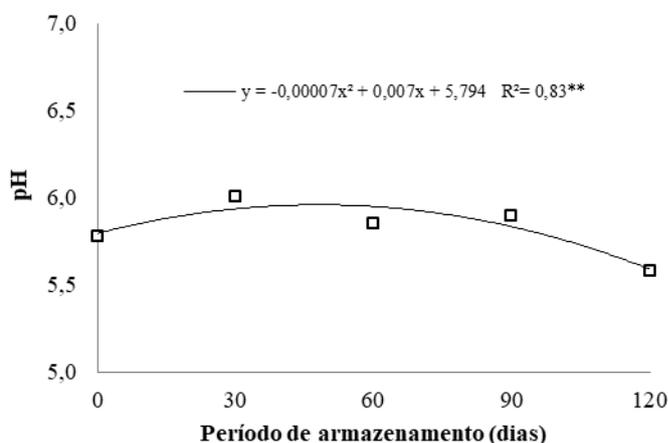
Médias seguidas por letras maiúsculas iguais nas linhas e seguidas por letras minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente entre si.

Não foram observadas diferenças significativas na atividade de água das amostras analisadas, sendo que todos os valores foram superiores a 0,984. Esses valores são bastante altos, no entanto, como os hambúrgueres são armazenados congelados e preparados apenas no momento de consumo, não existe problema para sua conservação.

A atividade de água é a medida mais comumente empregada para expressar a disponibilidade de água em alimentos. Atividade de água entre 0,98 a 0,99 e nutrientes favorece o crescimento de microrganismos. A maior parte da água no músculo está presente nas miofibrilas, nos espaços entre os filamentos grossos de miosina e os filamentos finos de actina/tropomiosina (LAWRIE, 2005). A água representa 65 a 80% do total da massa muscular e boa parte desta, está dentro das células ligadas a diversas proteínas, mas sabe-se que aproximadamente 24% destas proteínas são retiradas por forças capilares e podem exudar sob pressão (OLIVO, 2002).

A figura 4 apresenta os resultados para a análise de pH realizada nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Figura 4:** pH dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis.



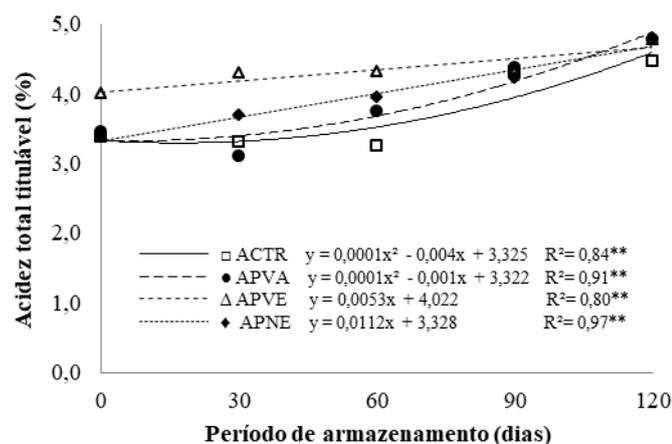
Como observado na figura 4 os valores de pH não foram alterados até os 60 dias de armazenamento e, aos 90 dias, os valores decaíram para todas as formulações. Aos 120 dias, foi onde pH apresentou-se mais ácido. Observa-se que para todas as formulações o pH médio foi de 5,8, onde de acordo com a literatura, o pH de 5,8 a 6,2 indica que a carne está aceitável para o consumo, pH de 6,4 mostra que a carne é recomendada apenas para o consumo imediato e pH acima de 6,4 indica que a carne está em início de decomposição (TERRA; BRUM, 1988).

Os valores são inferiores aos obtidos para hambúrgueres comerciais de carne bovina (6,61) avaliados por Lima (2008), porém a variação do pH foi menor do que a observada por Queiroz et al. (2005) que encontraram na formulação de hambúrguer bovino pH na faixa de pH de 5,1 a 6,2

Após a morte do animal, o pH do músculo acidifica-se à medida em que o potencial glicolítico aumenta, com conseqüente produção de ácido láctico. Quanto maior for o potencial glicolítico mais baixo serão os valores do pH final (LAWRIE, 2005; NELSON; COX, 2008). Já o pH elevado, resulta da baixa quantidade de glicogênio presente no músculo do animal, e formação insuficiente de ácido láctico (NELSON; COX, 2008).

A figura 5 apresenta os resultados para a análise de acidez titulável realizada nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Figura 5:** Acidez titulável dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis.

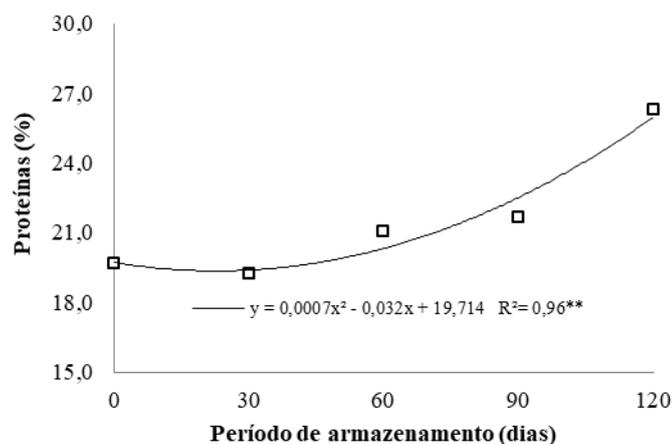


A acidez titulável total foi realizada no intuito de determinar um valor inicial para o controle do estado de conservação do produto após ser armazenado, pois ácidos orgânicos presentes em alimentos influenciam o sabor, odor, cor, estabilidade e a manutenção de qualidade (AMORIM et al., 2012).

Observa-se um aumento na acidez titulável, tanto na amostra controle quanto nas amostras formuladas com a adição dos extratos de própolis, principalmente após 60 dias de armazenamento. Nos dois primeiros períodos analisados (1 e 30 dias) verificou-se um aumento da acidez titulável nas amostras APNE e APVA em relação ao controle (ACTL).

A figura 6 apresenta os resultados para a análise de teor de proteínas realizada nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Figura 6:** Teor de proteínas (%) dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis.

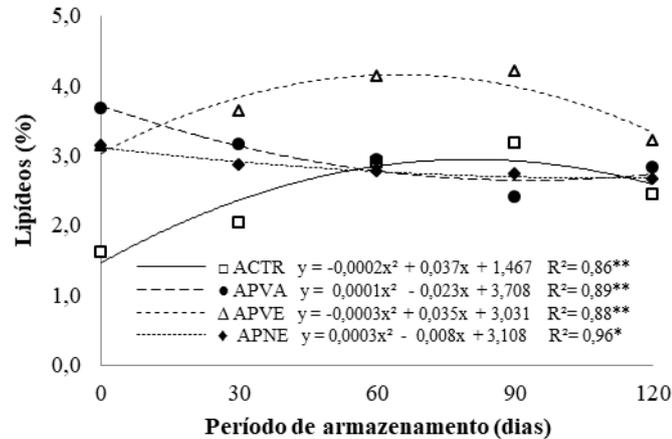


Segundo o que estabelece a Instrução Normativa (MAPA nº 20/2000) referente ao Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Hambúrguer, que exige valores mínimos de 15% de proteínas, todas as amostras estão dentro do que estabelece à normativa.

Valores de proteínas inferiores aos deste estudo foram encontrados Passos e Kuaye (2002) em hambúrgueres bovinos, cujos valores variaram de 16,37 a 19,17% e por Marques (2007) em hambúrgueres bovino adicionado diferentes percentuais de farinha de aveia com valores que variaram de 17,21 a 18,90%. Valores semelhantes (21,28%) em hambúrguer bovino foram encontrados por Hautrive et al., (2008) quando comparados os valores das amostras *in natura* deste estudo.

A figura 7 apresenta os resultados para a análise de teor de lipídios realizada nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Figura 7:** Teor de lipídios (%) dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis.



Os resultados obtidos para o teor de lipídios estão em concordância com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Hambúrguer do MAPA (BRASIL, 2000), que preconiza o máximo de 23% de gordura para hambúrgueres, onde nesta pesquisa os valores foram inferiores a 5%. A gordura é um ingrediente importante aplicado nas formulações de produtos alimentícios, pois contribui para melhor palatabilidade, maciez e suculência (ARISSETO, 2003).

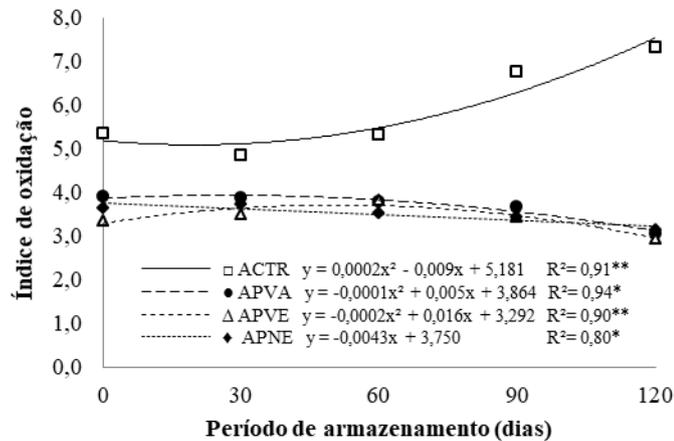
Pode-se visualizar que ocorreu um aumento nos teores de lipídios conforme a adição dos extratos, o mesmo ocorreu com Santa (2008), que ao elaborar salame, onde suas formulações apresentaram teores de gordura de 23,99 para amostra controle e 25,44 para a amostra com adição de 0,1% de extrato hidroalcoólico de própolis.

Os teores de lipídios encontrados por Borba (2010) foram superiores aos encontrados neste estudo, sendo de 18,31% (hambúrguer cru), 21,68% (hambúrguer frito), 16,38% (hambúrguer assado) e 19,51% (hambúrguer em microondas).

Trevisan et al. (2016), observou diferenças significativas nos teores de gordura nas formulações enriquecidas com aveia, no qual os hambúrgueres sem adição encontrou-se 19,01% de lipídios, e as amostras com 6% de adição observou-se 11,94%, superiores aos resultados obtidos no presente estudo.

A figura 8 apresenta os resultados para a análise de oxidação lipídica por TBARS realizada nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Figura 8:** Oxidação lipídica por TBARS realizada nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

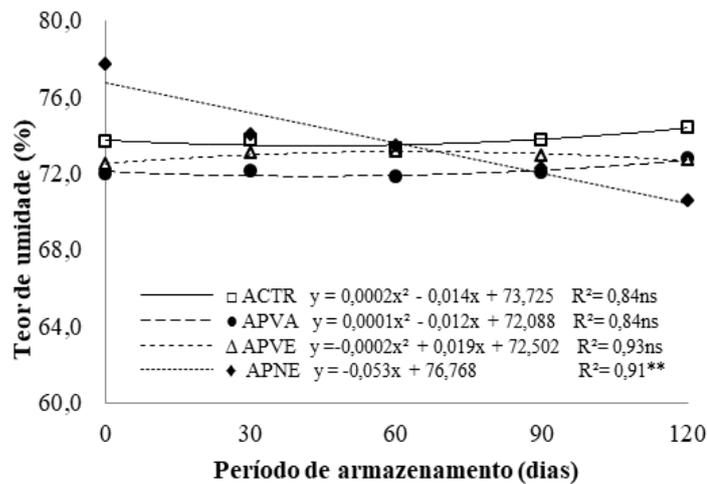


Observando o índice de oxidação na Figura 8, estes demonstraram que as formulações com adição de extratos hidroalcoólicos de própolis influenciaram na oxidação ao longo do armazenamento. Os produtos apresentaram diferenças significativas nos valores de malonaldeído entre as formulações aditivadas com os extratos e a formulação controle, durante todo o período de armazenamento. Os produtos elaborados com adição dos extratos hidroalcoólicos de própolis (APVA, APVE, APNE) apresentaram os maiores valores entre os períodos de 30 e 60 dias de armazenamento, começando a decair aos 90 dias de armazenamento.

A legislação vigente no Brasil não apresenta limite máximo para malonaldeído/kg em produtos cárneos e produtos derivados de pescado, entretanto, o produto cárneo pode ser considerado em bom estado, se apresentar valores abaixo de 3mg de malonaldeído/Kg de amostra (AL-KAHTANI; ABU-TARBOUSH; BAJABER, 1996).

A figura 9 apresenta os resultados para a análise de teor de água realizada nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Figura 9:** Teor de umidade (%) dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis.



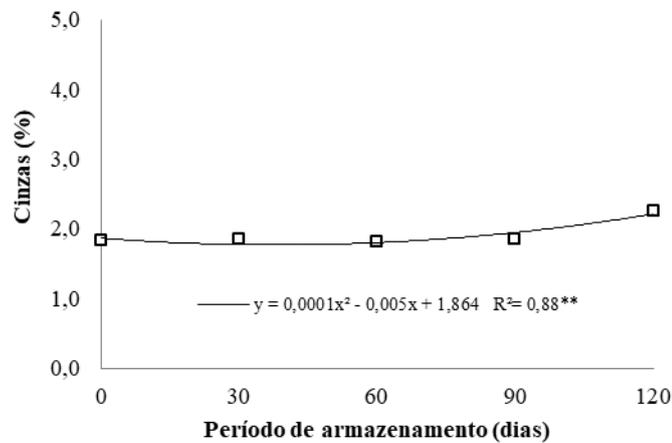
Dos resultados obtidos, pode-se observar que os teores de umidade dos hambúrgueres nas formulações ACTL, APVA e APVE analisadas não apresentaram diferença significativa estatisticamente ( $p > 0,05$ ) entre si. Onde nesta pesquisa os teores variaram entre 72% e 78% para todas as amostras, sendo que a amostra APNE apresentou maior perda de teor de água.

Em trabalho realizado por Giongo et al. (2016), avaliando diferentes formulações de hambúrgueres com variadas concentrações de carne bovina e ovina, obtiveram dados que se assemelham ao presente estudo, com variações entre F3 (50% ovina e bovina), 67,31%, F1(100% ovina) 66,45 e F2 (75% ovina e 25% bovina), 66,47%.

Trevisan et al. (2016), quando avaliaram hambúrgueres bovinos enriquecidos com aveia, verificaram que a adição de 6% de fibra de aveia contribuiu para diminuir a umidade dos hambúrgueres, provavelmente devido à menor quantidade de água adicionada.

A figura 10 apresenta os resultados para a análise de teor de cinzas realizada nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Figura 10:** Teor de cinzas (%) dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis.



O teor de cinzas em um alimento representa o conteúdo mineral presente em sua composição, constituído de macro, micronutrientes e elementos traços, além de constituir o ponto de partida para a análise de minerais específicos. Corroborando com Oliveira et al. (2014) encontraram 2,49% de cinzas em hambúrguer reduzido em sódio utilizando sal light, um valor muito próximo ao encontrado no presente estudo para o hambúrguer adicionado de extratos de própolis.

No entanto estes resultados são superiores aos encontrados por Seabra et al. (2002) em hambúrguer de carne ovina adicionados de fécula de mandioca e farinha de aveia, com 1,06% e 1,10% de cinzas.

Os resultados obtidos neste estudo foram superiores aos encontrados por Ferrão et al. (2018) em hambúrguer bovino com adição de extrato de arroz, que apresentou variações de 1,96 a 1,98% e aos encontrados por Salvino et al., (2009) que apresentou variações de 1,96 a 1,98% de cinzas em hambúrgueres adicionados a amido modificado.

#### 4. CONCLUSÕES

Os hambúrgueres elaborados com carne bovina e aditivados com extratos de própolis vermelha, verde e negra apresentaram características tecnológicas muito similares ao hambúrguer de carne bovina tradicional, ambos atendendo aos parâmetros de composição estabelecidos pela legislação brasileira, permitindo, portanto, concluir que os extratos hidroalcoólicos também podem ser utilizados para a elaboração desse produto.

De acordo com os estudos microbiológicos relatados, os *Staphylococcus* spp constituem um dos melhores indicadores microbiológicos para avaliação da qualidade

higiênico-sanitária de alimentos, sendo notória a redução desta carga microbiana nas formulações elaboradas com os extratos hidroalcoólicos das própolis.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALENCAR, S. M.; OLDONI, T. L. C.; CASTRO, M. L.; CABRAL, I. S. R.; COSTANETO, C. M.; CURY, J. A.; ROSALEN, P. L.; IKEGAKI, M. Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: red propolis. *Journal of Ethnopharmacology*, v.113, n.2, p. 278-283, 2013.

AMORIM, A.G. SOUZA, T.A. SOUZA, A. O. Determinação do pH e acidez titulável da farinha de semente de abóbora. In: VII Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação. 19 a 21 de Outubro. Palmas, Tocantins, 2012.

ARAÚJO, T. A. de S.; ALENCAR, N. L.; AMORIM, E. L. C. de; ALBUQUERQUE, U. P de. A new approach to study medicinal plants with tannins and flavonoids contents from the local knowledge. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 120, n 1,p. 72-80, 2008.

ARISSETO, A.P. Avaliação da qualidade global de hambúrguer tipo calabresa com reduzidos teores de nitrito. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), São Paulo, 2003, 145p.

ASAE. Segurança Alimentar - Aditivos Alimentares. Disponível: <<http://www.asae.pt/aaaDefault.aspx?f=1&back=1&codigono=5960596361426144AAAAAA A A>>. Acesso em 15 de agosto de 2018.

BORBA, C.M. Avaliação físico-química de hambúrguer de carne bovina e de frango submetidos a diferentes processamentos térmicos. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001. Aprova os regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geleia Real, Geleia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis. Brasília, 2001.

CONTINI, C. et al. Effect of an active packaging with citrus extract on lipid oxidation and sensory quality of cooked turkey meat. *Meat Science*, v. 96, n. 3, p. 1171-1176, 2014.

DIAS, N.A.A. Avaliações microbiológica e físico química de mortadelas elaboradas com óleos essenciais e inoculadas com *Clostridium perfringens* tipo A. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

FERREIRA, R; SIMM, E. M. Análise microbiológica da carne moída de um açougue da região central do município de Pará de Minas-MG. *SynThesis Revista Digital FAPAM*. n. 3, p. 37- 61, 2012.

FERREIRA, J. M. New propolis type from north-east Brazil: chemical composition, antioxidant activity and botanical origin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 97, n. 11, p. 3552–3558, 2017.

FERRÃO, T. S.; MACAGNAN, F. T.; BRUM, F.B.; SILVA, L. P. Aplicação de extrato de farelo de arroz como antioxidante em hambúrguer bovino. Disponível em:<[http://irga.rs.gov.br/uploads/anexos/3.2.11\\_Aplic.pdf](http://irga.rs.gov.br/uploads/anexos/3.2.11_Aplic.pdf)> . Acesso: 17/08/2018.

GIONGO, C. Teor de umidade e de gordura total de diferentes formulações de hambúrgueres elaborado a base de carne de ovinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 25., 2016. Gramado. Anais... Gramado: FAURGS, 2016.

HAUTRIVE, T.P.; OLIVEIRA, V.R.; SILVA, A.R.D.; TERRA, N.N.; CAMPAGNOL, P.C.B. Análise físico-química e sensorial de hambúrguer elaborado com carne de 37 avestruz. *Physicochemical and sensorial analyses of ostrich hamburger. Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 28(Supl.): 95-101, dez. 2008.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos do Instituto Adolfo Lutz: Métodos físicos e químicos para análise de alimentos. 4 ed. São Paulo, 2008.

KARAKAYA, M.; BAYRAK, E.; ULUSOY, K. Use of natural antioxidants in meat and meat Products. *Journal of Food Science and Engineering*, v. 1, n. 1, p. 1, 2011.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN Jr W. C. Diagnóstico Microbiológico – Texto e Atlas Colorido. 5. ed., Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica, 2001.

LAWRIE, R. A. Ciência da carne. 6. ed. São Paulo: Artmed, 2005, 384p.

LE LOIR, Y.; BARON, F.; GAUTIER, M. Staphylococcus aureus and food poisoning. *Genet Mol Res* 2: 63-76, 2003.

LIMA, J.R. Caracterização físico-química e sensorial de hambúrguer vegetal elaborado à base de caju. *Ciênc. Agrotec.*, v.32 n.1 jan./fev. 2008.

MARQUES, J. M. Elaboração de um produto de carne bovina “tipo hambúrguer” adicionado de farinha de aveia. 2007. 55f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – UFPR, Curitiba, 2007.

MELO, L. F.; VILELA, N. A.; CARVALHO, P. L. N.; VEIGA, S. M. O. M.; NASCIMENTO, L. C.. Qualidade higiênico - sanitária da carne de hambúrguer industrializada. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 10, n. 2, p.370-375. 2012.

MENEZES, A. C.; ALEXANDRINO, A. M. Análise microbiológica de hambúrgueres comercializados em embalagens primárias e secundárias. **Revista de Saúde e Biologia**, v. 3, n. 9, p.94-100. 2014.

OLIVEIRA, D. F, COELHO, A. R.; BURGARDT, V. C. F. Alternatives for a healthier meat product: a review. *Brazilian Journal of Food Technology*, 16(3), 163-174, 2013.

- OLIVEIRA, D. F.; MILESK, J. P. F.; CARLI, C. G.; MARCHI, J. F. SILVA, D. C.; COELHO, A.R.; TONIAL, I. B. Farinha de linhaça dourada como substituto de gordura animal em hambúrguer de carne bovina com redução de sódio. *Brazilian Journal Food Technology*, Campinas, v. 17, n. 4, p. 273-282, out.- dez. 2014.
- OLIVO, R. Atualidades na qualidade da carne de aves. *Rev. Nac. da Carne*, v.28, n.331, p.38-50, 2004.
- PASSOS, M. L. C. R.; KUAYE, A. Y. Influence of the formulation, cooking time and final internal temperature of beef hamburgers on the destruction of *Listeria monocytogenes*. *Food Control*. 13, 33-40, 2002.
- QUEIROZ, Y. U. et al. Desenvolvimento e avaliação das propriedades físico químicas de hambúrgueres com reduzidos teores de gordura e de colesterol. *Rev. Nac. Carne*. ed. 338. Abril, 2005.
- RIGHI, A. A. et al. Brazilian red propolis: unreported substances, antioxidante, and antimicrobial activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. V. 91, n. 13, p. 2363-2370, out. 2011.
- ROSMINI, M. R. et al, “TBA test by an extractive method applied to pate”. *MEAT SCIENCE*, v. 42, n.1, pp. 103-110, 1996.
- SALVINO, E.M.; SILVA, J.S.; NOBREGA, E. S.; NASCIMENTO, M. J. C.; COSTA, M. J. C.; MACIEL, J. F. Caracterização microbiológica, físico-química e sensorial de hambúrgueres de carne de avestruz (*Struthio camellus*), elaborados com substituto de gordura. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 68, 1, 34-41, 2009.
- SANTA, O.R.D. Avaliação da qualidade de salames artesanais e seleção de Culturas starter para produção de salame tipo italiano. 147 f. 2008. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Pós –graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, Paraná, 2008.
- SANTANA, E.H.W.; BELOTI, V.; ARAGON-ALEGRO L.C.; MENDONÇA, M.B.O.C. Estafilococos em alimentos. Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Londrina, PR, Brasil. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.77, n.3, p.545-554, jul./set., 2010.
- SEABRA, L. M. J.; ZAPATA, J. F. F.; NOGUEIRA, C. M. Fécula de mandioca e farinha de aveia como substituinte de gordura na formulação de hambúrguer de carne ovina. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 22, n. 3, p. 245-248, 2002.
- SFORCIN, J.M., BANKOVA, V., Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? *Journal of Ethnopharmacology*, v.133, n.2, p.253-260, 2011.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água. 5ª edição. São Paulo: Livraria Varela, 2015.

SILVA, V. A da. **Avaliação citotóxica e genotóxica de *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poir. (Mimosaceae)**. 2012. 91p. Dissertação em Produtos Naturais e Síntéticos Bioativos. Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, PB.

SILVA JÚNIOR, E. A. Manual de controle higiênico-sanitário em serviço de alimentação. São Paulo: Livraria Varela, 1995, 223p.

TAVARES, T.M.; SERAFINI, A.B. Avaliação microbiológica de hambúrgueres de carne bovina comercializados em sanduicherias tipo “trailers” em Goiânia, GO. Rev Patol Trop 32: 46-52, 2003.

TREVIZAN, Y. C. et al. Efeito da adição de fibra de aveia sobre as propriedades físico-químicas de hambúrguer cozido e congelado com redução de gordura e sal. Braz. J. Food Technol., Campinas, v. 19, e2015079, 2016.

## CAPITULO IV

### ARTIGO 4 – EFEITOS DA APLICAÇÃO DE REVESTIMENTOS A BASE DE EXTRATOS DE PRÓPOLIS NA CONSERVAÇÃO DE HAMBURGUER BOVINO

#### RESUMO

O emprego de revestimentos na conservação de produtos cárneos tem sido utilizado como uma tecnologia de grande potencial. A própolis é uma resina que é sintetizada por abelhas do gênero *Apis sp.*, produzida a partir de substâncias coletadas das plantas. Com isso, várias pesquisas têm sido realizadas, considerando seu potencial antimicrobiano e antioxidante, percussores para o aumento do tempo de armazenamento dos alimentos. O presente estudo teve como objetivo elaborar hambúrgueres bovinos, aplicar revestimentos comestíveis a base de extratos de própolis e avaliar o efeito desses revestimentos na qualidade do produto. Todo o processamento foi realizado adotando as boas práticas de fabricação. Foram então realizados testes que permitiram determinar com maior detalhamento a atuação do revestimento elaborado com a própolis. Com a aplicação dos revestimentos, os hambúrgueres adquiriam boa aparência e um aspecto de coloração mais intenso e brilhoso. Observou-se que nas amostras com aplicação dos revestimentos de própolis e estes associados à temperatura, houve redução no desenvolvimento do grupo de microrganismos *Staphylococcus spp.* Os hambúrgueres revestidos e sob congelamento, com a adição de 5% de extrato hidroalcoólico de própolis proporcionou, ao término do período de armazenamento, maiores teores de lipídios. A composição centesimal dos hambúrgueres adicionados dos extratos de própolis se mostrou dentro dos limites exigidos pela legislação vigente, na sua forma crua, exceto para o teor de atividade de água.

**Palavras-chave:** processamento, conservação, extratos hidroalcoólicos.

#### ABSTRACT

The use of coatings in the preservation of meat products has been used as a technology of great potential. Propolis is a resin that is synthesized by bees of the genus *Apis sp.*, Produced from substances collected from plants. With this, several researches have been carried out, considering its antimicrobial and antioxidant potential, percussors to increase the time of food storage. The present study aimed to elaborate bovine hamburgers, to apply edible coatings based on propolis extracts and to evaluate the effect of these coatings on product quality. All the processing was done adopting good manufacturing practices. Tests were carried out to determine the performance of the coating made with propolis. With the application of the coatings, the burgers looked good and had a more intense and shiny appearance. It was observed that in the samples with application of the propolis coatings and these associated to the temperature, there was a reduction in the development of the group of microorganisms *Staphylococcus spp.* The coated and frozen burgers, with the addition of 5% hydroalcoholic propolis extract, provided, at the end of the storage period, higher lipid contents. The centesimal composition of the burgers added from the propolis extracts was within the limits required by the current legislation, in its raw form, except for the content of water activity.

**Keywords:** processing, preservation, hydroalcoholic extracts.

## 1. INTRODUÇÃO

Revestimentos comestíveis vêm sendo estudados como bons transportadores para a incorporação de compostos ativos, tais como, vitaminas, antioxidantes, probióticos e antimicrobianos em alimentos (SOUKOULIS et al., 2014). Eles são finas camadas de materiais biopoliméricos comestíveis aplicados à superfície dos alimentos, como frutas e hortaliças minimamente processadas, proporcionando uma barreira contra a migração da umidade, oxigênio, dióxido de carbono, aromas e outros solutos (MISIR; BRISHTI; HOQUE, 2014).

As propriedades físicas do revestimento comestível estão diretamente ligadas às condições do processo de aplicação, sendo na indústria de alimentos a pulverização e a imersão as principais técnicas utilizadas. A técnica de pulverização resulta em um revestimento uniforme com espessura controlada e possibilita a aplicação de multicamadas e a de imersão é dependente de propriedades do revestimento como densidade, viscosidade e tensão superficial possibilitando a formação de camadas grossas de revestimento (VALDÉS et al. 2017).

Produtos de origem natural ganha cada vez mais destaque e espaço frente a aplicação na terapêutica ou com a finalidade de conferir função a alimentos. Dentro dos produtos naturais podemos destacar os diferentes produtos apícolas, mel, pólen e as diferentes própolis já caracterizadas, entre elas a própolis vermelha de Alagoas. Conhecida como o decimo terceiro tipo de própolis, a vermelha é rica em metabolitos secundários como flavonoides, ésteres e ácidos fenólicos, isoflavonóides e seus derivados, estes constituintes, são vastamente utilizados e requerem atenção para novos estudos (RIGHI, 2011). Quando avaliadas para aplicações nos usos supracitados surge à necessidade do melhoramento das características peculiares como a baixa solubilidade em meio aquoso e o odor e sabor fortes, que a torna inviável para algumas aplicações. Com isso as indústrias farmacêuticas e de alimentos busca aplicar mecanismos capazes de melhorar esses aspectos desagradáveis (ACKERMAN, 1991; NORI et al. 2010).

A própolis conhecida no sudeste do Brasil como “própolis verde” é oriunda, de acordo com Bastos et al. (2000) e Bastos (2001), da resina da espécie *Baccharis dracunculifolia* DC. (“Alecrim-do-campo”) pertencente à família Asteraceae. Grãos de pólen dessa família ocorreram em todas as amostras analisadas, é necessário um conhecimento detalhado da flora da região para uma identificação mais específica dos tipos encontrados.

Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo elaborar hambúrgueres bovinos, aplicar revestimentos comestíveis a base de extratos de própolis e avaliar o efeito desses revestimentos na qualidade do produto.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios do Centro Vocacional Tecnológico (CVT) da Universidade Federal de Campina Grande, campus Pombal.

### 2.1. Procedência da carne

A carne utilizada para a elaboração dos hambúrgueres foi o corte acém (carne magra localizada no dianteiro bovino) adquirida diretamente do fornecedor da Masterboi. A carne foi levada para o laboratório em ambiente refrigerado e foi mantida a 4°C até sua utilização. Utilizou-se cerca de 50Kg de carne para a elaboração dos três experimentos. A mesma foi dividida em porções menores de 1Kg para facilitar a manipulação reduzindo os riscos de contaminação.

A figura 1 apresenta as carnes utilizadas na elaboração dos hambúrgueres.

**Figura 1:** Carne utilizada na elaboração dos hambúrgueres.



Fonte: Autor (2018)

### 2.2. Formulação do hambúrguer bovino

Os hambúrgueres foram preparados baseada na metodologia proposta por Melo e Clerici (2013), com algumas modificações. A principal matéria-prima utilizada foi à carne bovina magra acém. Todos os utensílios e equipamentos utilizados na elaboração dos hambúrgueres foram previamente higienizados com hipoclorito de sódio a 200 mg/L (TONDO; BARTZ, 2011). Após a limpeza da carne (retirada da gordura e tecido conjuntivo aparente), esta foi moída em moedor elétrico. Após a moagem, foram adicionados na sequência à água (gelada) e o sal, para a extração das proteínas miofibrilares. Após conveniente mistura, os demais ingredientes (fécula de mandioca, pimenta do reino em pó,

realçador de sabor e fixador de cor) foram colocados um a um. Essa massa foi então dividida em porções, onde foram sendo originados os tratamentos apresentados na Tabela 2. Após a homogeneização dos ingredientes de cada formulação, os hambúrgueres foram prensados e moldados em uma hamburgueira manual de 11 cm de diâmetro, obtendo-se hambúrgueres com peso líquido de 100 g cada e em sequência foram embalados. Os hambúrgueres foram congelados a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  até o momento da realização da caracterização microbiológica e físico-química.

Foram produzidas quatro formulações, que receberam as seguintes codificações: ACTL (formulação controle, sem aplicação de revestimento), RPVA (formulação com aplicação de revestimento a base de extrato de própolis vermelha), RPVE (formulação com aplicação de revestimento a base de extrato de própolis verde) e RPNE (formulação com aplicação de revestimento a base de extrato de própolis negra).

### 2.3. Elaboração e aplicação dos revestimentos

Os revestimentos foram elaborados segundo a técnica *casting* (ZAVAREZE et al., 2012; YAN et al., 2012; SOUZA et al., 2012; TORRES et al., 2011), que consiste no preparo de uma solução filmogênica, por dissolução em água destilada dos ingredientes da formulação utilizada.

Os revestimentos foram produzidos seguindo a formulação expressas na Tabela 1, segundo metodologia de Santos (2007) com algumas modificações. Em seguida aquecemos a solução até atingir a temperatura de  $70^{\circ}\text{C}$ , posteriormente a solução ficou em repouso em temperatura ambiente até esfriar.

**Tabela 3:** Formulação dos revestimentos de acordo com a aplicabilidade dos extratos da própolis.

FORMULAÇÃO DO REVESTIMENTO
5 gramas de própolis
110 mL água destilada
10 gramas de amido
8 mL de glicerina
2 mL de ácido clorídrico 1N
Neutralizar com hidróxido de sódio 0,1mol

Posteriormente as soluções ficaram em repouso em temperatura ambiente até esfriarem. Seguiu-se com a aplicação dos revestimentos nos hambúrgueres por imersão. Conforme pode ser visto na figura 2.

**Figura 2:** Aplicação dos revestimentos a base de extratos hidroalcoólicos das própolis vermelha, verde e negra.



Própolis vermelha

Fonte: Autor (2018)

Propolis verde

Propolis negra

Após a aplicação dos revestimentos os mesmos foram embalados em plástico filme e armazenados em freezer a  $-18^{\circ}\text{C}$ , onde posteriormente, foram avaliados durante todo o processo de conservação a cada 30 dias durante 120 dias. As análises foram todas realizadas em triplicata.

#### **2.4. Caracterização físico-química e microbiológica**

No produto final cru foram realizadas análises físico-químicas de pH, acidez titulável, teor de umidade, teor de cinzas, teor de proteínas, atividade de água, índice de TBARS e teor de lipídios e microbiológicas de Coliformes a  $35^{\circ}\text{C}$  e a  $45^{\circ}\text{C}$ , *Staphylococcus* spp e *Salmonella* sp. As análises foram todas realizadas em triplicata.

Os hambúrgueres foram avaliados durante todo o processo de conservação a cada 30 dias durante 120 dias. As análises foram todas realizadas em triplicata.

##### **2.4.1. Caracterização físico-química**

###### **2.4.1.1. Potencial Hidrogeniônico (pH)**

Foi determinado através do método potenciométrico, com pHmetro de bancada da marca Lucadema e modelo mPA, previamente calibrado com solução tampão de pH 4,00 e 7,00. Seguindo o método 017/IV do Instituto Adolfo Lutz (2008).

###### **2.4.1.2. Acidez Titulável (AT)**

As análises foram realizadas por titulometria de neutralização, utilizando-se 5g amostra/50 mL água destilada, obtido por centrifugação. Os resultados foram expressos em

porcentagem (%) de ácido por 100 gramas da amostra. Seguindo o método 016/IV do Instituto Adolfo Lutz (2008).

#### **2.4.1.3. Teor de Umidade (%)**

Foram determinados através do método de secagem a 105°C, em estufa de secagem, de acordo com a metodologia 012/IV do Instituto Adolfo Lutz (2008).

#### **2.4.1.4. Teor de Cinzas (%)**

Foram determinadas segundo o método 018/IV do Instituto Adolf Lutz (2008) e os resultados expressos em porcentagem (p/p).

#### **2.4.1.5. Teor de proteínas (%)**

Foram determinados através do método Kjeldahl, 036/IV descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008) e os resultados encontrados foram expressos em porcentagem (p/p).

#### **2.4.1.6. Teor de lipídios (%)**

Foi determinado através do aparelho extrator de Soxhlet, seguindo o método descrito 033/IV do Instituto Adolf Lutz (2008).

#### **2.4.1.7. Análise de atividade de água (Aw)**

Foram determinados através de equipamento Aqualab Pre Dew (*Water Activity Analyzer*) DECAGON.

#### **2.4.1.8. Análise de TBARS**

Foram realizadas de acordo com a metodologia de Rosmini et al (1996). Onde 5g da amostra, foi transferida para um tubo de 50mL, adicionou-se 10mL de solução de TCA a 10% (v/v), em seguida adicionou-se 5mL de água destilada. Agitou-se por 5min para promover a extração do Malonaldeído (MDA), posteriormente foi centrifugada por 5min a 3500 rpm, filtrou-se o sobrenadante e transferiu-se para tubos de ensaio de 15mL com tampa. Em seguida adicionou-se 5mL de solução de TBA 0,02M, aquecendo em banho-maria (100°C por 35min). Resfriando rapidamente e fazendo a leitura da absorbância a 532nm em espectrofotômetro.

### **2.4.2. Análises microbiológicas**

#### **2.4.2.1. Teste Presuntivo**

Técnica de tubos múltiplos, na qual homogeneizou-se 25 g de amostra, com 225 mL de Água Peptonada 0,1 %. Para o teste presuntivo alíquotas de 1 mL de cada diluição foram

inoculadas em três tubos contendo 9 mL de Caldo Lauryl Sulfato Triptose, com tubos de Duhran invertidos e incubados a 35° C/24-48 hs (SILVA, 2015).

#### **2.4.2.2. Coliformes a 35° C**

A partir dos tubos com leitura positiva do teste presuntivo, foi transferida uma alçada da cultura para o teste confirmatório no Caldo Verde Bile Brilhante, com período de incubação a 35°C de 24 a 48 horas, conforme a metodologia Silva, (2015).

#### **2.4.2.3. Coliformes a 45° C**

Para a quantificação de coliformes a 45° C foi utilizada a técnica do Número Mais Provável (NMP), incubados em banho-maria a 45° C/48 h, conforme a metodologia Silva, (2015).

#### **2.4.2.4. *Staphylococcus spp***

Para a determinação de *Staphylococcus spp* foi utilizado o método em superfície no meio de cultura Ágar Baid-Parker suplementado com solução de gema de ovo a 50% e telurito de potássio a 3,5 %. As placas foram incubadas a 35°C/48 horas, segundo a metodologia recomendada (SILVA, 2015).

#### **2.4.2.5. *Salmonella sp***

Na determinação de presença de *Salmonella sp* foi utilizado o método em superfície no meio de cultura *Salmonella* Diferencial Ágar, incubando-se a temperatura de  $36 \pm 1$  °C/48 horas, segundo a metodologia recomendada (SILVA, 2015).

### **2.5. Análise estatística**

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. As análises foram realizadas em triplicata. Todos os cálculos foram realizados nos softwares Microsoft Office Excel 2010 e SISVAR 5.6. As amostras foram submetidas a análise de variância e a diferença entre os tratamentos foi comparada pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

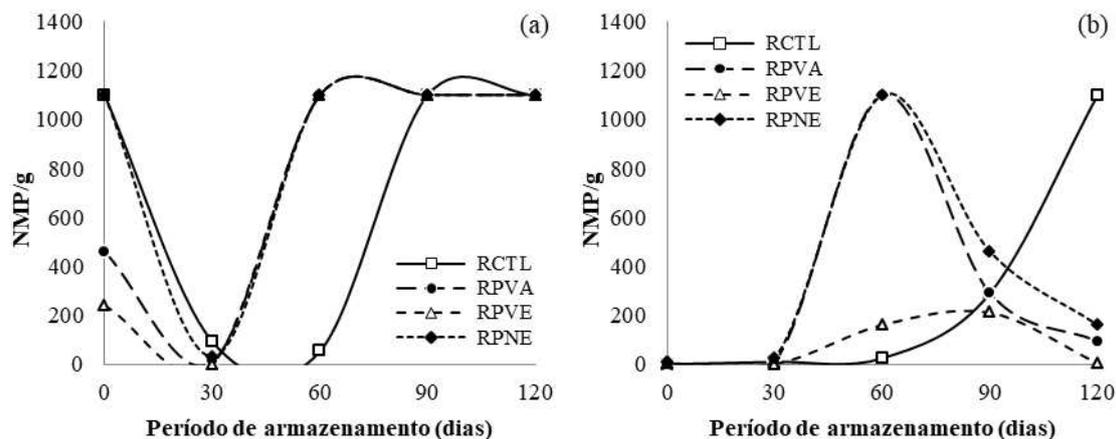
A resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), estabelece os critérios de padrões microbiológicos para caracterização dos micro-organismos e/ou suas toxinas consideradas de interesse sanitário para produtos cárneos embutidos, sendo: bactérias termotolerantes, clostrídios sulfito redutores e estafilococos coagulase positiva num limite de

tolerância máxima de  $10^3$ ,  $3 \times 10^3$  e  $5 \times 10^2$  UFC/g, respectivamente, e ausência de *Salmonella* sp.

Em todas as amostras ao longo do tempo o resultado de *Salmonella* sp. foi ausente, até os 60 dias de armazenamento, assim como recomendado pela RDC nº 12/2001. A partir dos 90 dias de armazenamento as amostras RPVA e RPNE apresentaram contaminação por *Salmonella*, tornando o produto inapto para consumo.

A Figura 3 apresenta os resultados da análise de coliformes a 35°C e a 45°C realizados nos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Figura 3:** Número Mais Provável (NMP/g) de coliformes a 35°C (a) e de coliformes a 45°C (b) realizados nos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis.



Podemos observar que na análise de coliformes totais todas as amostras apresentaram comportamento semelhante quando comparado à amostra controle durante todo o período de armazenamento, e obtiveram o mesmo resultado do tempo zero ao 120º dia de armazenamento. Todas as amostras obtiveram contagem para coliformes termotolerantes, no entanto os maiores valores foram observados aos 60 dias de armazenamento para as amostras RPVA e RPNE, o que pode ser considerado, como contaminação cruzada, considerando o comportamento posterior, e aos 120 dias para a amostra controle, o que determina a fase de deterioração da amostra.

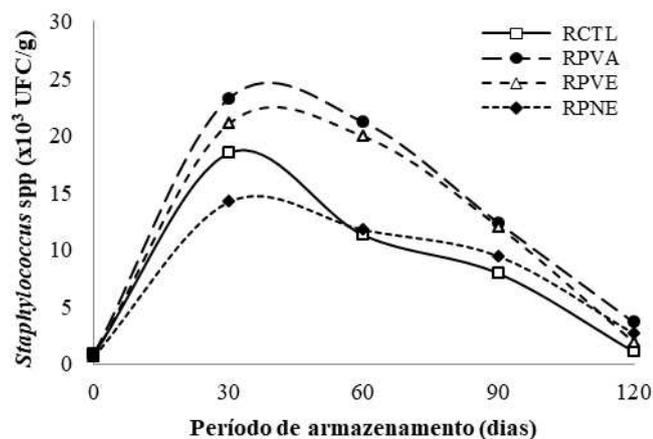
A legislação brasileira não estabelece limites de tolerância para o grupo dos coliformes totais em hambúrgueres. Entretanto, a presença desse microrganismo pode indicar condições higiênico-sanitárias deficientes, colocando em risco a saúde dos consumidores desses produtos. Lundgren et al. (2009) tiveram valor médio de  $1,8 \times 10^3$  NMP/g. Segundo

Kasnowski (2004), em seu trabalho com 15 amostras de carne moída, 14 amostras apresentaram contaminação que variaram entre 0 a  $3 \times 10^5$  NMP/g.

Resultados semelhantes aos apresentados nesta pesquisa foram encontrados na literatura disponível. Ferreira e Simm (2012), ao analisarem seis amostras de carne moída, sendo três pré-moídas e três moídas no momento da compra, encontraram contagens elevadas de coliformes totais e de coliformes termotolerantes em cinco delas, e apenas uma amostra de carne moída na hora da compra encontrava-se com contaminação abaixo do número máximo contabilizado pelo método de NMP.

A Figura 4 apresenta os resultados da análise de *Staphylococcus* spp realizados nas amostras de hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Figura 4:** Contagem de *Staphylococcus* spp realizados nos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis.



A legislação brasileira preconiza a contagem de *Staphylococcus* spp, cujo limite está estabelecido em  $10^3$  UFC/g, conforme o adotado na presente investigação. Os resultados encontrados indicam que esses microrganismos aos 30 dias de armazenamento, representaram risco à saúde, no entanto, a partir dos 60 dias de armazenamento estes valores começam a decrescer. Esse resultado é melhor que o encontrado por outros autores, como Kuhn et al. (2012), que relataram a ocorrência de amostras classificadas como insatisfatórias quanto ao número desses microrganismos.

A Tabela 2 apresenta o resumo da análise de variância dos parâmetros físico-químicos realizados nas amostras de hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Tabela 2:** Resumo da análise de variância para a atividade de água (Aw), pH, acidez total titulável (ATT), teor de água (TA), proteínas, lipídeos e índice de oxidação (TBARS) em hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos.

FV	GL	Quadrados médios							
		Aw	pH	ATT	TA	PT	Lip	TBARS	Cinzas
Revestimentos (R)	3	0,00001**	0,015 <sup>ns</sup>	0,131**	1,652 <sup>ns</sup>	20,897 <sup>ns</sup>	4,491**	16,381**	0,247*
Tempo (T)	4	0,00005**	0,264**	6,745**	6,191**	48,281**	0,495**	0,900**	0,199 <sup>ns</sup>
Interação A x T	12	0,00001**	0,099 <sup>ns</sup>	0,194**	0,935 <sup>ns</sup>	8,355 <sup>ns</sup>	0,684**	0,938**	0,091 <sup>ns</sup>
Erro	40	0,00001	0,023	0,025	0,767	9,701	0,025	0,087	0,085
CV (%)	-	0,12	2,60	4,23	1,19	14,39	5,21	6,76	16,70

ns, \*\*, \* respectivamente não significativos, significativo a  $p < 0,01$  e  $p < 0,05$ .

A Tabela 3 apresenta os resultados para a atividade de água (aw) realizados nos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Tabela 3:** Resultados para atividade de água (aw) dos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis.

Tratamentos	Tempos				
	0	30	60	90	120
ACTL	0,994 <sup>Aa</sup>	0,992 <sup>Bab</sup>	0,990 <sup>ABb</sup>	0,990 <sup>Bb</sup>	0,991 <sup>Cb</sup>
RPVA	0,995 <sup>Ab</sup>	0,997 <sup>Aab</sup>	0,990 <sup>Ac</sup>	0,991 <sup>Bc</sup>	0,998 <sup>Aa</sup>
RPVE	0,995 <sup>Aa</sup>	0,994 <sup>Ba</sup>	0,991 <sup>Ab</sup>	0,996 <sup>Aa</sup>	0,992 <sup>BCb</sup>
RPNE	0,996 <sup>Aa</sup>	0,992 <sup>Bb</sup>	0,988 <sup>Bc</sup>	0,995 <sup>Aab</sup>	0,994 <sup>Bab</sup>

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais nas linhas e seguidas por letras minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente entre si.

Os valores obtidos para atividade variaram de 0,988 a 0,998, valores elevados que favorecem o desenvolvimento microbiano que tem seu ponto ótimo a partir de 0,98. Kirchof, Crizel e Mendonça (2008) constataram que a vida útil de um alimento não está ligada somente a quantidade de água total que está presente no mesmo, e sim como a água está interagindo com os componentes sólidos deste; sendo essa interação expressa pela aw. Assim, a aw é um fator que influência diretamente nas características e na estabilidade dos produtos cárneos, especificamente nos hambúrgueres.

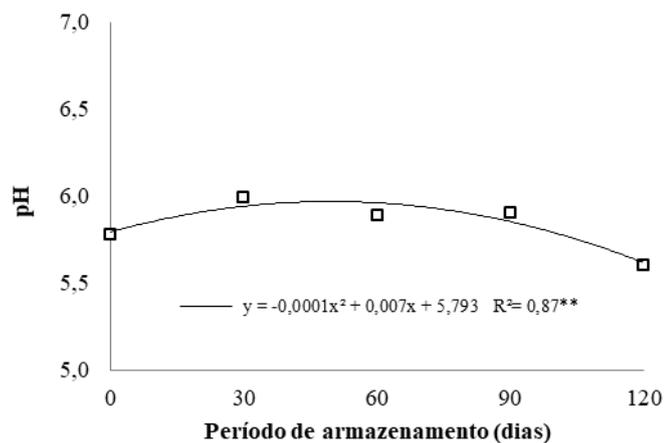
Fatores como atividade de água e pH são critérios que devem ser levados e consideração para se determinara a temperatura de armazenamento de produtos cárneos. Considerando isso, esses produtos podem ser divididos em três grupos: a) muito perecível; com  $pH > 5,2$  e  $aw > 0,95$ , sendo a temperatura de armazenamento recomendada  $\leq 5^\circ C$ ; b) perecível; com pH entre 5,2 até 5,0 e aw entre 0,95 e até 0,90, com temperatura recomendada

$\leq 10$  °C; e c) estáveis; com  $\text{pH} \leq 5,2$  e  $a_w \leq 0,95$  ou somente  $\text{pH} < 5,0$  ou  $a_w 0,91$ , não sendo recomendada refrigeração para conservação (SABATAKOU, 2001). Estando, portanto os hambúrgueres elaborados nesta pesquisa enquadrados no grupo dos muito perecíveis.

GARCÍA et al. (1995) enfatizam que os produtos que podem ser armazenados à temperatura ambiente são os que apresentam valor de  $a_w 0,86$ , por possuírem excelente estabilidade microbiológica.

A figura 5 apresenta os resultados para a análise de pH realizada nos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Figura 5:** pH dos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis.



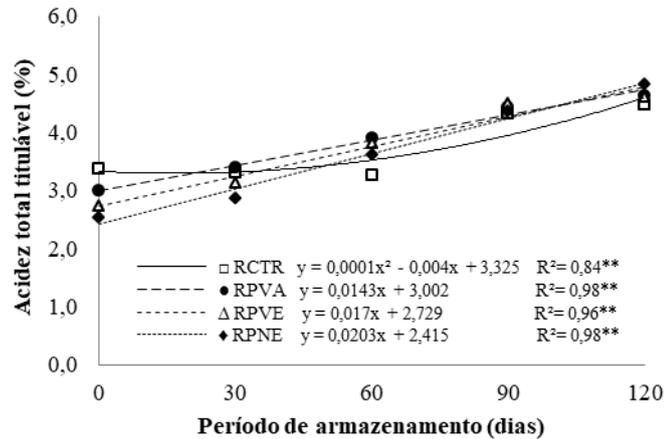
O potencial hidrogeniônico (pH) inicial das amostras de hambúrgueres com e sem revestimento não apresentou uma variação significativa, apresentando entre 5,57 a 6,06, resultados estes que podem ser justificados pela possibilidade de crescimento microbiano. Outros fatores como temperatura, atividade de água e natureza dos extratos utilizados como base para a elaboração dos revestimentos podem interferir diretamente nos valores de pH (MARTINS et al. 2011).

Bernadino Filho et al. (2012) também não encontraram diferenças nos valores de pH em hambúrgueres bovino adicionados ou não de inulina, ficando próximos a 6,13.

O valor de pH de 6,1 determinado, indica que o hambúrguer está aceitável para o consumo, pois segundo Terra (1998) e Forrest (1979) pH de 6,4 mostra que a carne é recomendada para consumo imediato, e acima disso está em início de decomposição.

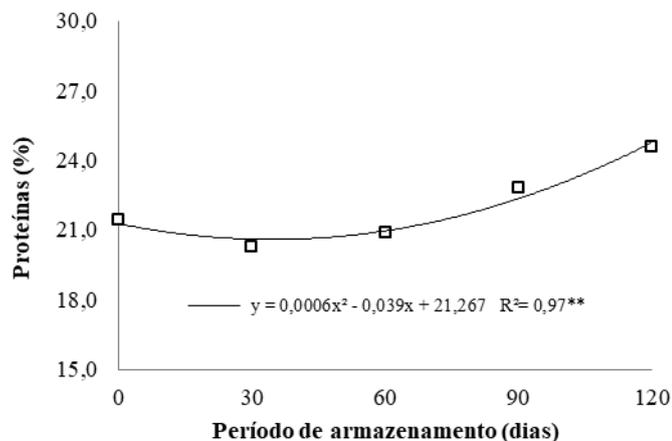
A figura 6 apresenta os resultados para a análise de acidez titulável realizada nos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Figura 6:** Acidez titulável dos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis.



A figura 7 apresenta os resultados para a análise de teor de proteínas realizada nos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Figura 7:** Teor de proteínas (%) dos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis.



Os resultados para proteínas não diferiram significativamente entre as amostras controle e as adicionadas de extratos de própolis. SIQUEIRA et al. (2001) encontraram teores de lipídios, proteína e umidade na faixa de 2,1-2,6%, 17,8-19,5% e 77,1-77,7%,

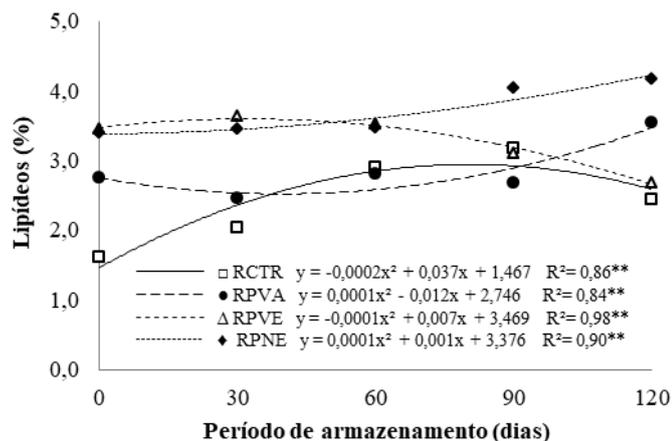
respectivamente, no desenvolvimento de um hambúrguer bovino de baixo teor de gordura, utilizando carne de soja e como amido modificado e proteína de soja, valores estes inferiores aos obtidos nesta pesquisa.

O regulamento técnico de identidade e qualidade de hambúrguer do Ministério da Agricultura preconiza valor o 23% de gordura (máxima), 15% proteína (mínima) e 3% de carboidratos totais (BRASIL, 2000). Pode-se verificar, observando as figuras 5 e 6 que as amostras estão de acordo com a legislação, já que apresentam valores condizentes ao permitido, para porcentagem de gordura e proteínas. Por esse motivo, o produto em questão será denominado como produto “hambúrguer”, por se enquadrar nesse item preconizado pela legislação vigente.

Já em pesquisa realizada por Bernadino Filho et al. (2012), em um estudo com a elaboração de hambúrgueres de carne bovina adicionados de inulina como substituto de gordura, verificaram teores de lipídios de 1,54 a 5,57%, resultados estes inferiores aos obtidos nesta pesquisa

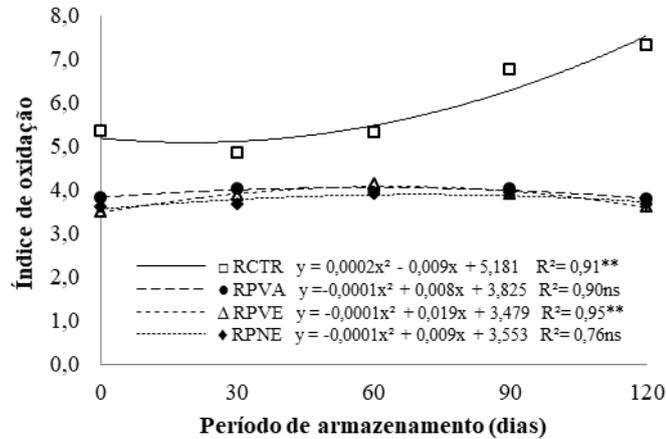
A figura 8 apresenta os resultados de teor de lipídios para a análise realizada nos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Figura 8:** Teor de lipídios (%) dos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis.



A figura 9 apresenta os resultados para a análise de oxidação lipídica por TBARS realizada nos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

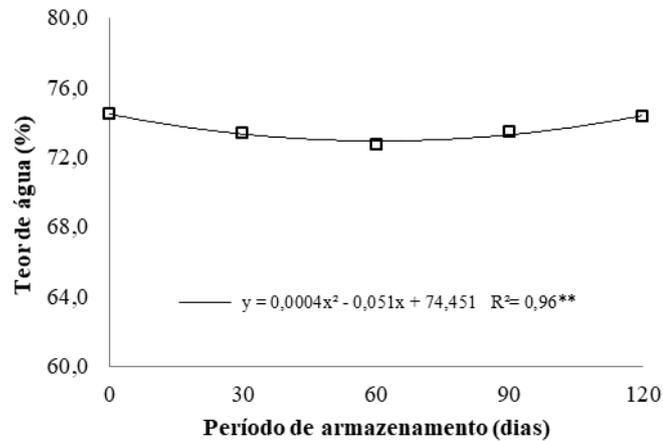
**Figura 9:** Oxidação lipídica por TBARS realizada nos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis.



No geral, as amostras com a aplicação dos revestimentos comestíveis a base dos extratos de própolis mantiveram os valores de TBARS próximos ao longo do tempo, quando comparados à amostra controle (ACTL). No tempo final de armazenamento, amostra ACTL apresentou maior oxidação aos 120 dias. De acordo com Limbo et al. (LIMBO, 2010) valores de TBARS superiores a 1,0 mg malonaldeído/ kg de carne podem ser considerados oxidados. Verificou-se que os valores médios de TBARS nas amostras ao longo do tempo foram todos superiores a 1,0 mg MDA/ kg de amostra, portanto as amostras foram consideradas fora do padrão aceitável. Fernandes et al. (2012) ao analisar oxidação lipídica em carne ovina estocada a vácuo sob refrigeração encontrou valores abaixo de 0,5mg de MDA/kg .

A figura 10 apresenta os resultados para a análise de teor de água realizada nos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Figura 10:** Teor de umidade (%) dos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis.

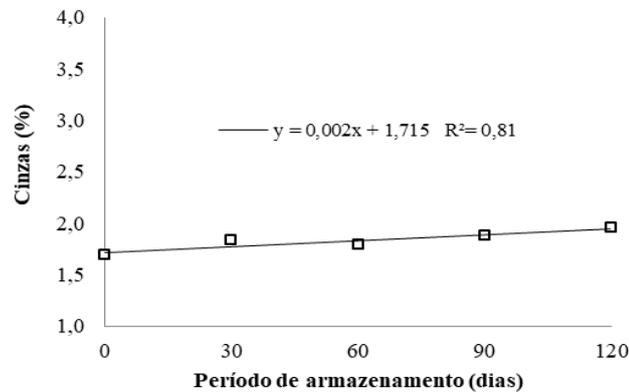


Não houve diferença entre as amostras quanto ao teor de umidade, podemos então afirmar que a aplicação dos revestimentos não interferiram significativamente neste parâmetro.

Em trabalho realizado por Santos et al. (2009) com hambúrgueres elaborados com diferentes proporções de carne ovina e carne suína (proporção de carne ovina variou de 100 a 50%, porém sem acréscimo de gordura), mostrou resultados semelhantes de umidade, os quais variaram de 66,57% a 73,64%. O mesmo foi observado por Marques (2007) que encontrou valores de umidade entre 60,06% e 73,54% em hambúrgueres produzidos com diferentes proporções de aveia e carne bovina, variando entre 100% e 75%. Já para hambúrgueres desenvolvidos com 50% de carne ovina e 50% carne suína, e diferentes quantidades de chia, obtiveram resultados de umidade em 68,37% (MELO, 2013).

A figura 11 apresenta os resultados para a análise de teor de cinzas realizada nos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Figura 11:** Teor de cinzas (%) dos hambúrgueres bovinos elaborados com a aplicação de revestimentos a base de extratos de própolis.



Os valores de cinzas variaram entre 1,65 e 1,98, não havendo diferença significativa entre as amostras. Resultados superiores foram encontrados por Oliveira et al. (2014) encontraram 2,49% de cinzas em hambúrguer reduzido em sódio utilizando sal light, um valor muito próximo ao encontrado no presente estudo para o hambúrguer adicionado de extratos de própolis. Seabra et al. (2002) em hambúrguer de carne ovina adicionados de fécula de mandioca e farinha de aveia, com 1,06% e 1,10% de cinzas.

No estudo de Machado (2014), os percentuais de minerais totais (cinzas) apresentaram variação de 2,80% a 3,09% para os hambúrgueres na forma *in natura* dados superiores aos obtidos no presente estudo.

#### 4. CONCLUSÕES

A composição centesimal dos hambúrgueres adicionados dos extratos de própolis se mostrou dentro dos limites exigidos pela legislação vigente, na sua forma crua, exceto para o teor de atividade de água. Dessa forma, mais estudos são necessários para melhor adequar este produto, uma vez que se mostra como uma opção viável tecnologicamente, segura e saudável. Contudo, estudos adicionais tornam-se necessários visando à otimização de tecnologia de processamento e desenvolvimento de novas formulações.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACKERMAN, T. Fast Chromatographic study propolis crudes. Food Chemistry. v. 42. p. 135-138. Israel, 1991.

BASTOS, E. M. A. F. Origem botânica e indicadores de qualidade da “própolis verde” produzida no Estado de Minas Gerais, Brasil. Ribeirão Preto, SP: USP, 2001.

- BASTOS, E. M .A. F., Oliveira, V. D. C. & Soares, A. E. E. Microscopic characterization of the green propolis, produced in Minas Gerais state, Brazil. *Honeybee Science*, 21, 179-180, 2000.
- BERNADINO FILHO, R.; OLIVEIRA, C. P.; GOMES, Q. O. Elaboração de hambúrguer bovino adicionado de inulina como ingrediente funcional prebiótico e substituto de gordura. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, Pompal, v. 7, n. 4, p. 33-37, 2012.
- FERNANDES, R.P.P. Estabilidade físico-química, microbiológica e sensorial de carne ovina embalada a vácuo estocada sob refrigeração. *Ciência Rural*. 2012; 42(4):724-729.
- FERREIRA, R. S.; SIMM, E. M. Análise microbiológica da carne moída de um açougue da região central do município de Pará de Minas/MG. *SynThesis Revista Digital Fapam*, Pará de Minas, n. 3, p. 37-61, abr. 2012.
- FORREST, J. C.; ABERLE, E. D.; HAROLD, B. H.; JUDGE, M. D.; MERKEL, R. A. *Fundamentos de Ciencia de La Carne*. Zaragoza, Acribia: 1979.
- GARCÍA, I.; ZUMALACÁRREGUI, J. M.; DÍEZ, V. Microbial succession and identification of Micrococcaceae in dried beef cecina, an intermediate moisture meat product. *Food Microbiology* v. 12, n. 1, p. 309-315, 1995
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). *Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos do Instituto Adolfo Lutz: Métodos físicos e químicos para análise de alimentos*. 4 ed. São Paulo, 2008.
- KASNOWSKI, M. C. *Listeria spp., Escherichia coli: Isolamento, identificação, estudo sorológico e antimicrobiano em corte de carne bovina (alcatra) inteira e moída*. 2004. 111f. Dissertação (Mestrado em Concentração em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de P.O.A) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2004.
- KIRCHHOF, S. C.; CRIZEL, G. R.; MENDONÇA, C. R. B. A influência da água na conservação dos alimentos. *Congresso de Iniciação Científica - Universidade Federal de Pelotas*. 2008.
- LIMBO, S. Evaluation and predictive modeling of shelf life of minced beef stored in high-oxygen modified atmosphere packaging at different temperatures. *Meat Science*. 2010; 84(1): 129-136.
- LINARES, M.B. Lipid oxidation in lamb meat: Effect of the weight, handling previous slaughter and modified atmospheres. *Meat Science*. 2007; 76: 715–720.
- LUNDGREN, P. U.; SILVA, J. A.; MACIEL, J. F.; FERNANDES, T. M. Perfil da qualidade higiênico-sanitária da carne bovina comercializada em feiras livres e mercados públicos de João Pessoa/PB, Brasil. *Alim. Nutr., Araraquara* v.20, n.1, p. 113-119, jan./mar. 2009.
- MACHADO, E. A. Avaliação da qualidade nutricional de hambúrgueres suplementados com farinha de quinoa. TCC (curso Superior de Tecnologia em Alimentos) Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Francisco Beltrão - PR, 2014.

MELO, J. M.. Elaboração e avaliação de produto cárneo tipo hambúrguer com carnes de ovinos velhos e suíno adicionado de semente de chia (*Salvia hispanica*) (Dissertação de mestrado). Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2013.

MISIR, J.; BRISHTI, F. H.; HOQUE, M. M. Aloe vera gel as a Novel Edible Coating for Fresh Fruits: A Review. *American Journal of Food Science and Technology*, v. 2, p. 93-97, 2014.

NORI, M. P.; et al. Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. *Food Science and Technology*.v. 44 p. 429-435. São Paulo, 2011.

RIGHI, A. A. et al. Brazilian red própolis: unreported substances, antioxidante, and antimicrobial activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. V. 91, n. 13, p. 2363-2370, out. 2011.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água. 5ª edição. São Paulo: Livraria Varela, 2015.

SABATAKOU, O. et al. Classification of Greek meat products on the basis of pH and Aw values. *Fleischwirtschaft*, v. 18, n. 8, p. 91 - 95, 2001.

SIQUEIRA, P. B. et al. Desenvolvimento e Aceitação de Hambúrguer com Baixo Teor de Gordura. *Food Ingredients*, n. 14, p. 74-7, 2001.

SOUKOULIS, C.; YONEKURA, L.; GAN, H.; BEHBOUDI-JOBBEHDAR, S.; PARMENTER, C.; FISK, I. Probiotic edible films as a new strategy for developing functional bakery products: The case of pan bread. *Food Hydrocolloids*, v. 39, p. 231- 242, 2014.

TERRA, N. N. Apontamentos de Tecnologia de Carnes. São Leopoldo: UNISINOS, 1998.

TORRES, F. G. *et al.* Biodegradability and mechanical properties of starch films from Andean crops. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 48, p. 603-603, 2011.

VALDÉS, A.; RAMOS, M.; BELTRÁN, A.; JIMÉNEZ, A.; GARRIGÓS, M. C. State of the Art of Antimicrobial Edible Coatings for Food Packaging Applications: Review. *Coatings*, v. 7, p. 1-23, 2017.

ZAVAREZE, E. D. R. *et al.* Development of oxidised and heat–moisture treated potato starch film. **Food Chemistry**, v. 132, n. 01, p. 344–350, mai. 2012.

YAN, Q. *et al.* Effects of extrusion and glycerol content on properties of oxidized and acetylated. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 707–712, 2012.

## CAPITULO V

### ARTIGO 5 – HAMBURGUER BOVINO ADICIONADO DE EXTRATOS DE PRÓPOLIS E REVESTIDO POR SOLUÇÃO FILMOGÊNICA A BASE DE EXTRATOS DE PRÓPOLIS: AVALIAÇÃO DA QUALIDADE

#### RESUMO

Esta pesquisa teve por objetivo elaborar hambúrgueres adicionados de extratos de própolis, como aditivo natural e revestido com solução filmogênica a base de extratos de própolis. No produto final cru foram realizadas análises físico-químicas de pH, acidez titulável, teor de umidade, teor de cinzas, teor de proteínas, atividade de água, índice de TBARS e teor de lipídios e microbiológicas de Coliformes a 35°C e a 45°C, *Staphylococcus* spp e *Salmonella* sp. Os hambúrgueres foram avaliados durante todo o processo de conservação a cada 30 dias durante 120 dias. Nesta pesquisa a própolis foi utilizada como antioxidante natural, ficando evidente sua ação pela redução no grau de oxidação das formulações adicionadas e revestidas dos extratos de própolis. Conclui-se então que os hambúrgueres elaborados com a aplicação do revestimento e adicionados de extratos hidroalcoólicos de própolis foram eficazes, sendo uma alternativa para reduzir a oxidação lipídica e manter estáveis os teores de pH e acidez, sem prejudicar suas características físico-químicas e físicas. Para as condições microbiológicas corroboradas pela atividade água todas as amostras apresentaram contaminação microbiana que comprometem a qualidade e o tempo de vida útil do produto.

**Palavras-chave:** aditivo alimentar, revestimento, qualidade.

#### ABSTRACT

This research aimed to elaborate hamburgers with extracts of propolis, as natural additive and coated with filmogenic solution based on extracts of propolis. In the final raw product, physical and chemical analyzes of pH, titratable acidity, moisture content, ash content, protein content, water activity, TBARS index and lipid and microbiological content of Coliforms at 35°C and at 45°C, *Staphylococcus* spp and *Salmonella* sp. The burgers were evaluated throughout the conservation process every 30 days for 120 days. In this research the propolis was used as a natural antioxidant, being evident its action by the reduction in the degree of oxidation of the formulations added and coated of the extracts of propolis. It was concluded that the burgers elaborated with the coating application and the addition of hydroalcoholic extracts of propolis were effective, being an alternative to reduce the lipid oxidation and to maintain stable pH and acidity contents, without harming their physicochemical and physical characteristics. For the microbiological conditions corroborated by the water activity all the samples presented microbial contamination that compromise the quality and the useful life of the product.

**Keywords:** food additive, coating, quality.

## 1. INTRODUÇÃO

O material comestível ideal utilizado para o revestimento de alimentos deve ser isento de qualquer componente tóxico, alérgico ou não digerível e deve ser facilmente produzido e economicamente viável (JANJARASSKUL; KROCHTA, 2010). O material de revestimento deve fornecer estabilidade estrutural, boa propriedade de adesão à superfície do alimento, semi-permeabilidade, barreira à umidade, oxigênio e movimento de soluto e deve manter os atributos sensoriais do produto (RHIM; LEE; NG, 2007; JANJARASSKUL; KROCHTA, 2010). Deve, também, proteger contra a contaminação, a infestação de pragas, a multiplicação microbiana e outros tipos de deterioração (FALGUERA et al., 2011).

A aplicação de ingredientes derivados de fontes naturais na indústria de alimentos, adicionados como conservantes naturais é uma nova tendência para redução de substâncias sintéticas e de aditivos alimentares (DICASTILLO et al., 2016). Pesquisas que relatam a incorporação de própolis para melhorar as propriedades de filmes e revestimentos ainda são limitadas. BODINI et al, (2013) investigou as propriedades de filmes de gelatina incorporado à extrato etanólico de própolis.

No Brasil a Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001 dispõe o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Extrato de própolis. Por definição desta IN 03, entende-se por Extrato de Própolis o produto proveniente da extração dos componentes solúveis da Própolis em álcool neutro (grau alimentício), por processo tecnológico adequado. Além disso, a Instrução classifica a própolis quanto ao seu teor de flavonoides, define a composição e requisitos para a produção do extrato de própolis, entre outros prosseguimentos (BRASIL, 2001).

Segundo Belmiro, Oki e Fernandes (2011), no Brasil podem ser encontradas própolis nas cores verde, vermelha, marrom, preta e amarela. A própolis verde, também conhecida como própolis brasileira, tem um alto valor agregado. Em 2009, seu preço médio era mais de 20 vezes maior do que o do mel (IBGE, 2012).

Um dos exemplos mais populares são as própolis verde de maior preferência no mercado internacional e, atualmente, a própolis vermelha de origem botânica *Dalbergia ecastophyllum* encontrada na região Nordeste do Brasil, a qual está sendo bastante investigada em função de suas ações antimicrobianas (SIQUEIRA et al., 2014), sugerindo existir um elo entre sua coloração e seu alto teor de compostos fenólicos.

Esta pesquisa teve por objetivo elaborar hambúrgueres adicionado de extratos de própolis, como aditivo natural e revestido com solução filmogênica a base de extratos de própolis.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios do Centro Vocacional Tecnológico (CVT) da Universidade Federal de Campina Grande, campus Pombal.

### **2.1. Elaboração do hambúrguer bovino**

Os hambúrgueres foram preparados baseada na metodologia proposta por Melo e Clerici (2013), com algumas modificações. A principal matéria-prima utilizada foi à carne bovina magra acém. Todos os utensílios e equipamentos utilizados na elaboração dos hambúrgueres foram previamente higienizados com hipoclorito de sódio a 200 mg/L (TONDO; BARTZ, 2011). Após a limpeza da carne (retirada da gordura e tecido conjuntivo aparente), esta foi moída em moedor elétrico. Após a moagem, foram adicionados na sequência à água (gelada) e o sal, para a extração das proteínas miofibrilares. Após conveniente mistura, os demais ingredientes (fécula de mandioca, pimenta do reino em pó, realçador de sabor e fixador de cor) foram colocados um a um. Essa massa foi então dividida em porções, onde foram produzidas quatro formulações, que receberam as seguintes codificações: ACTL (formulação controle, sem aplicação de revestimento e do aditivo), RAPVA (formulação com adição de 1% de extrato de propolis vermelha e aplicação de revestimento a base de extrato de própolis vermelha), RAPVE (formulação com adição de 1% de extrato de propolis verde e aplicação de revestimento a base de extrato de própolis verde) e RAPNE (formulação com adição de 1% de extrato de propolis negra e aplicação de revestimento a base de extrato de própolis negra).

Após a homogeneização dos ingredientes de cada formulação, os hambúrgueres foram prensados e moldados em uma hamburgueira manual de 11 cm de diâmetro, obtendo-se hambúrgueres com peso líquido de 100 g cada e em sequência foram embalados. Os hambúrgueres foram congelados a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  até o momento da realização das análises físico-químicas e microbiológicas.

No produto final cru foram realizadas análises físico-químicas de pH, acidez titulável, teor de umidade, teor de cinzas, teor de proteínas, atividade de água, índice de TBARS e teor de lipídios e microbiológicas de Coliformes a  $35^{\circ}\text{C}$  e a  $45^{\circ}\text{C}$ , *Staphylococcus* spp e *Salmonella* sp.

## 2.2. Elaboração e aplicação dos revestimentos

Os revestimentos foram elaborados segundo a técnica *casting* (ZAVAREZE et al., 2012; YAN et al., 2012; SOUZA et al., 2012; TORRES et al., 2011), que consiste no preparo de uma solução filmogênica, por dissolução em água destilada dos ingredientes da formulação utilizada.

Os revestimentos foram produzidos seguindo a formulação expressas na Tabela 1, segundo metodologia de Santos (2007) com algumas modificações. Em seguida aquecemos a solução até atingir a temperatura de 70°C, posteriormente a solução ficou em repouso em temperatura ambiente até esfriar.

**Tabela 4:** Formulação dos revestimentos de acordo com a aplicabilidade dos extratos da própolis.

FORMULAÇÃO DO REVESTIMENTO
5 gramas de própolis
110 mL água destilada
10 gramas de amido
8 mL de glicerina
2 mL de ácido clorídrico 1N
Neutralizar com hidróxido de sódio 0,1mol

Posteriormente as soluções ficaram em repouso em temperatura ambiente até esfriarem. Seguiu-se com a aplicação dos revestimentos nos hambúrgueres por imersão. Conforme pode ser visto na figura 1

**Figura 1:** Aplicação dos revestimentos a base de extratos hidroalcoólicos das própolis vermelha, verde e negra.



Própolis vermelha  
Fonte: Autor (2018)



Propolis verde



Propolis negra

Após a aplicação dos revestimentos os mesmo foram embalados em plástico filme e armazenados em freezer a -18°C, onde posteriormente, foram avaliados durante todo o

processo de conservação a cada 30 dias durante 120 dias. As análises foram todas realizadas em triplicata.

### **2.3. Caracterização físico-química**

#### **2.3.1. pH**

O potencial hidrogeniônico (pH) foi determinado através do método potenciométrico, com pHmetro de bancada da marca Lucadema e modelo mPA, previamente calibrado com solução tampão de pH 4,00 e 7,00. Seguindo o método 017/IV do Instituto Adolfo Lutz (2008).

#### **2.3.2. Acidez Titulável (AT)**

Foi realizada por titulometria de neutralização, utilizando-se 5g amostra/50 mL água destilada, obtido por centrifugação. Os resultados foram expressos em porcentagem (%) de ácido por 100 gramas da amostra. Seguindo o método 016/IV do Instituto Adolfo Lutz (2008).

#### **2.3.3. Umidade (%)**

Os teores de umidade foram determinados através do método de secagem a 105°C, em estufa de secagem, de acordo com a metodologia 012/IV do Instituto Adolfo Lutz (2008).

#### **2.3.4. Teor de Cinzas (%)**

Foram determinadas segundo o método 018/IV do Instituto Adolf Lutz (2008) e os resultados expressos em porcentagem (p/p).

#### **2.3.5. Teor de proteínas (%)**

Os teores de proteínas foram determinados através do método Kjeldahl, 036/IV descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008) e os resultados encontrados foram expressos em porcentagem (p/p).

#### **2.3.6. Teor de lipídios (%)**

Foi determinado através do aparelho extrator de Soxhlet, seguindo o método descrito 033/IV do Instituto Adolf Lutz (2008).

#### **2.3.7. Análise de atividade de água (Aw)**

Foi determinado através de equipamento Aqualab Pre Dew (*Water Activity Analyzer*) DECAGON.

### **2.3.8. Análise de TBARS**

Foi realizada de acordo com a metodologia de Rosmini et al (1996). Onde pesou-se 5g da amostra, foi transferida para um tubo de 50mL, adicionou-se 10mL de solução de TCA a 10% (v/v), em seguida adicionou-se 5mL de água destilada. Agitou-se por 5min para promover a extração do Malonaldeído (MDA), posteriormente foi centrifugada por 5min a 3500 rpm, filtrou-se o sobrenadante e transferiu-se para tubos de ensaio de 15mL com tampa. Em seguida adicionou-se 5mL de solução de TBA 0,02M, aquecendo em banho-maria (100°C por 35min). Resfriando rapidamente e fazendo a leitura da absorbância a 532nm em espectrofotômetro.

## **2.4. Análises microbiológicas**

### **2.4.1. Teste Presuntivo**

Técnica de tubos múltiplos, na qual homogeneizou-se 25 g de amostra, com 225 mL de Água Peptonada 0,1 %. Para o teste presuntivo alíquotas de 1 mL de cada diluição foram inoculadas em três tubos contendo 9 mL de Caldo Lauryl Sulfato Triptose, com tubos de Duhran invertidos e incubados a 35° C/24-48 hs (SILVA, 2015).

### **2.4.2. Coliformes a 35°C**

A partir dos tubos com leitura positiva do teste presuntivo, foi transferida uma alçada da cultura para o teste confirmatório no Caldo Verde Bile Brillante, com período de incubação a 35°C de 24 a 48 horas, conforme a metodologia Silva (2015).

### **2.4.3. Coliformes a 45°C**

Para a quantificação de coliformes a 45° C foi utilizada a técnica do Número Mais Provável (NMP), incubados em banho-maria a 45° C/48 h, conforme a metodologia Silva (2015).

### **2.4.4. *Staphylococcus spp***

Para a determinação de *Staphylococcus spp* foi utilizado o método em superfície no meio de cultura Ágar Baid-Parker suplementado com solução de gema de ovo a 50% e telurito de potássio a 3,5 %. As placas foram incubadas a 35°C/48 horas, segundo a metodologia recomendada (SILVA, 2015).

#### **2.4.5. *Salmonella* sp**

Na determinação de presença de *Salmonella* sp foi utilizado o método em superfície no meio de cultura *Salmonella* Diferencial Ágar, incubando-se a temperatura de  $36 \pm 1$  °C/48 horas, segundo a metodologia recomendada (SILVA, 2015).

#### **2.5. Análise estatística**

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. As análises foram realizadas em triplicata. Todos os cálculos foram realizados nos softwares Microsoft Office Excel 2010 e SISVAR 5.6. As amostras foram submetidas a análise de variância e a diferença entre os tratamentos foi comparada pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

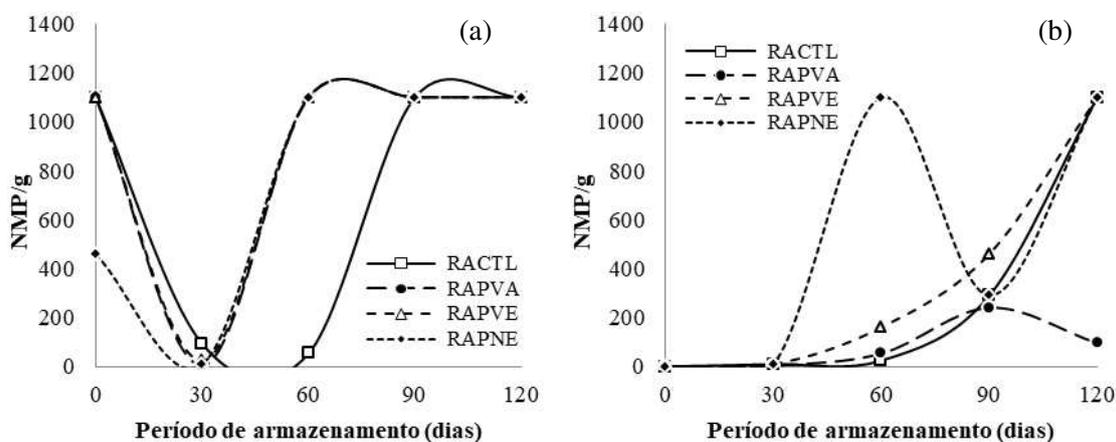
### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Não foi constatada a presença de *Salmonella* sp. em nenhuma das amostras analisadas até os 60 dias de armazenamento, aos 90 dias constatou-se que os níveis mais altos de contaminação foram encontrados nas amostras RAPVE e RAPNE.

Souza et al. (2012) encontraram *Salmonella* sp. em 17% das 30 amostras de carne moída comercializadas em açougues e supermercados na cidade de Barra do Graças, MT. Resultados semelhantes obtiveram Ferreira et al. (2012), através da análise de 6 amostras de carne moída, detectou *Salmonella* sp. em uma delas (16,67%). Diferentemente, Oliveira et al. (2008), pesquisando este patógeno em máquinas de moer, mãos dos manipuladores e nas carnes após moagem, não o detectou em nenhuma das amostras, estando todas as amostras de carnes dentro dos padrões estabelecidos pela legislação, e, então, em condições satisfatórias e aptas para consumo humano.

A Figura 2 apresenta os resultados da análise de coliformes a 35°C e a 45°C realizados nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Figura 2:** Número Mais Provável (NMP/g) de coliformes a 35°C (a) e de coliformes a 45°C (b) realizados nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis.

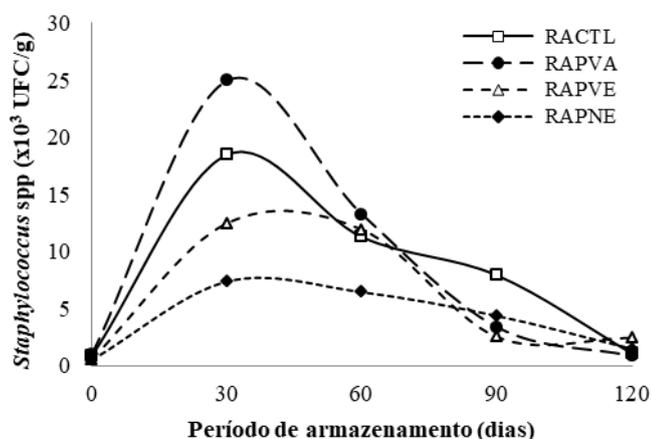


Como observado na figura 2a, houve efetiva presença dos mesmos dos 60 dias em diante, corroborando com o início da deterioração. Não foi encontrado referência para coliformes a 35°C em carne de hambúrgueres, no entanto a presença dos coliformes assume importância, pois é um indicador da possibilidade da existência de microrganismos patogênicos. A RDC nº 12 (BRASIL, 2001) permite um máximo de coliformes a 45°C em carne de hambúrgueres de  $5,0 \times 10^3$  UFC/g, a alta população deste parâmetro indica um alto nível de contaminação fecal, o que pode ser atribuído à contaminação por manipulação inadequada.

Quanto à presença de coliformes a 45°C, estes apresentam resultados elevados tanto para a amostra controle quanto para as amostras revestidas e aditivadas, em todos os tempos. A avaliação de coliformes é utilizada para verificar as condições higiênicas, sendo que a esse microrganismo em grande número significa a contaminação pós-processamento, limpeza deficientes, tratamento térmicos ineficientes ou multiplicação durante o processo de estocagem (SILVA et al., 2010).

A Figura 3 apresenta os resultados da análise de *Staphylococcus* spp realizados nas amostras de hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Figura 3:** Contagem de *Staphylococcus* spp realizados nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis.



A microbiota normal de produtos à base de carne bovina moída sob condições higiênicas é composta, predominantemente, por bactérias Gram-negativas da família *Enterobacteriaceae* e do gênero *Pseudomonas* e por Gram-positivas dos gêneros *Enterococcus*, *Lactobacillus* e *Staphylococcus* (JAY, 2005).

Como observado na figura 3 os resultados obtidos para *Staphylococcus* ssp, foram superiores a  $10^3$  UFC/g, que de acordo com a legislação (BRASIL, 2001), estão fora do padrão, onde de acordo com SORIANO et al. (2002) é necessário a presença de aproximadamente  $10^5$  UFC/g deste microrganismo no alimento para causar intoxicação alimentar.

Sendo possível ainda observar que o crescimento do mesmo só ocorreu até os 30 dias de armazenamento, após este período a multiplicação do mesmo começa a decrescer para todas as amostras, no entanto a amostra RAPNE, apresenta redução de carga microbiana mais evidente durante todo o período de armazenamento em comparação à amostra controle.

O estudo realizado por SANTOS et al. (2012) na cidade de São Luís –MA, revelou que das 20 amostras de carne moída analisadas, 10 amostras (50%) apresentaram contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva que variaram de  $1,8 \times 10^3$  a  $1,2 \times 10^4$  UFC/g. ALMEIDA et al. (2010) analisaram 15 amostras de acém moído proveniente de 15 açougues na cidade de Diamantina, MG e detectaram *Staphylococcus* coagulase positiva em 60% das amostras analisadas, com contagens médias de  $2,6 \times 10^6$  UFC/g. Os riscos veiculados pelos alimentos com altas contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva são amplos, uma vez que esta bactéria além de ser patogênica para o homem apresenta resistência a determinadas

drogas antimicrobianas, agravando sua importância para a saúde pública (ALMEIDA et al., 2010).

A Tabela 2 apresenta o resumo da análise de variância dos parâmetros físico-químicos realizados nas amostras de hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias

**Tabela 2:** Resumo da análise de variância para a atividade de água ( $A_w$ ), pH, acidez total titulável (ATT), teor de água (TA), proteínas, lipídeos e índice de oxidação (TBARS) em hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução.

FV	GL	Quadrados médios							
		$A_w$	pH	ATT	TA	PT	Lip	TBARS	Cinzas
Aditivos (A)	3	0,00002**	0,028**	0,533**	53,470**	9,5542*	5,864**	22,359**	0,161**
Tempo (T)	4	0,00006**	0,200**	4,211**	3,443**	40,875**	2,789**	0,713*	0,124**
Interação A x T	12	0,00002**	0,004**	0,382**	1,822**	1,161 <sup>ns</sup>	0,568**	1,266**	0,048 <sup>ns</sup>
Erro	40	0,00002	0,001	0,044	0,679	2,983	0,032	0,206	0,029
CV (%)	-	0,14	0,62	5,24	1,09	7,88	5,40	11,06	9,56

ns, \*\*, \* respectivamente não significativos, significativo a  $p < 0,01$  e  $p < 0,05$ .

A Tabela 3 apresenta os resultados para a atividade de água ( $a_w$ ) realizados nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias

**Tabela 3:** Resultados para atividade de água ( $a_w$ ) dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis.

Tratamentos	Tempos				
	0	30	60	90	120
RACTL	0,994 <sup>Aa</sup>	0,992 <sup>Aab</sup>	0,990 <sup>Ab</sup>	0,990 <sup>Bb</sup>	0,991 <sup>Bb</sup>
RAPVA	0,996 <sup>Aab</sup>	0,995 <sup>Aab</sup>	0,987 <sup>Ac</sup>	0,996 <sup>Aa</sup>	0,993 <sup>Bb</sup>
RAPVE	0,990 <sup>Bb</sup>	0,994 <sup>Aa</sup>	0,989 <sup>Ab</sup>	0,995 <sup>Aa</sup>	0,997 <sup>Aa</sup>
RAPNE	0,997 <sup>Aa</sup>	0,994 <sup>Aab</sup>	0,990 <sup>Ac</sup>	0,993 <sup>ABbc</sup>	0,997 <sup>Aa</sup>

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais nas linhas e seguidas por letras minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente entre si.

Em relação aos valores de atividade de água ( $A_w$ ) realizados nas amostras de hambúrguer de carne observou-se uma variação de 0,987 a 0,997 (Tabela 3). E é justamente pelos seus altos teores de atividade de água e pelo pH favorável que os produtos cárneos em geral são excelentes meios de cultura para os microrganismos, apesar dos valores obtidos

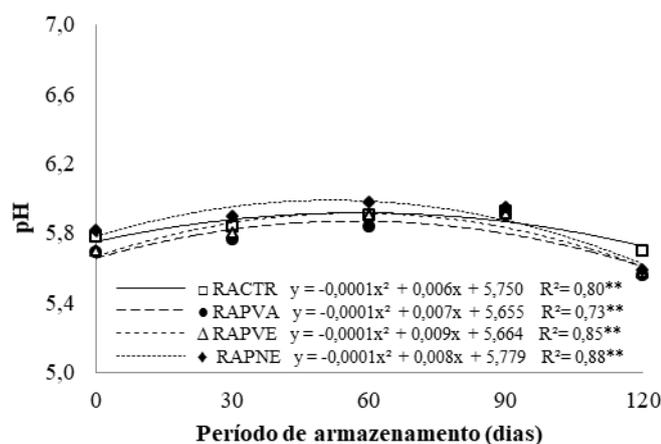
serem altos, porém, devido a sua forma de armazenamento (congelados) e preparados no instante de consumo, não há problema para sua conservação.

Os valores obtidos são considerados insatisfatórios, pois todos os valores obtidos estão acima de 0,98, pois de acordo com Carrascosa e Cornejo (1989) a maioria dos microrganismos deteriorantes, incluindo as bactérias patogênicas, se desenvolve em produtos com atividade de água acima de 0,98, tendo como consequência alterações das características dos produtos cárneos.

A atividade de água ( $A_w$ ) em um alimento está diretamente relacionada com sua composição química, normalmente as bactérias necessitam de  $A_w$  superior a 0,91, sendo de fundamental importância para seu metabolismo e multiplicação (FRANCO; LANDGRAF, 2002).

A figura 4 apresenta os resultados para a análise de pH realizada nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Figura 4:** pH dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis.



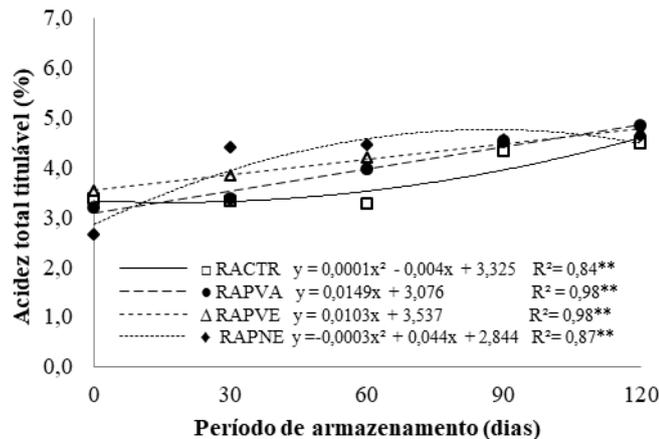
O pH dos hambúrgueres elaborados com a adição de extratos e revestimentos a base de extratos de própolis não sofreram diferenças significativas em relação a amostra controle, o que foi positivo, já que os consumidores tendem a esperar que formulações novas de produtos sejam semelhantes aos tradicionais de forma organoléptica. Bernadino Filho et al. (2012) também não encontraram diferenças nos valores de pH em hambúrgueres bovino adicionados ou não de inulina, ficando próximos a 6,13.

O valor de pH de 6,1 determinado, indica que o hambúrguer está aceitável para o consumo, pois segundo Terra (1998) e Forrest (1979) pH de 6,4 mostra que a carne é recomendada para consumo imediato, e acima disso está em início de decomposição.

Observando-se os valores obtidos para a variável acidez titulável (Figura 5) verificamos que não houve alterações significativas no decorrer dos 120 dias de experimento. Podendo assim afirmar que a interação dos hambúrgueres com os extratos hidroalcoólicos foi excelente, devido os mesmos não terem provocado modificações nas variáveis de acidez, corroborando com os valores obtidos para pH.

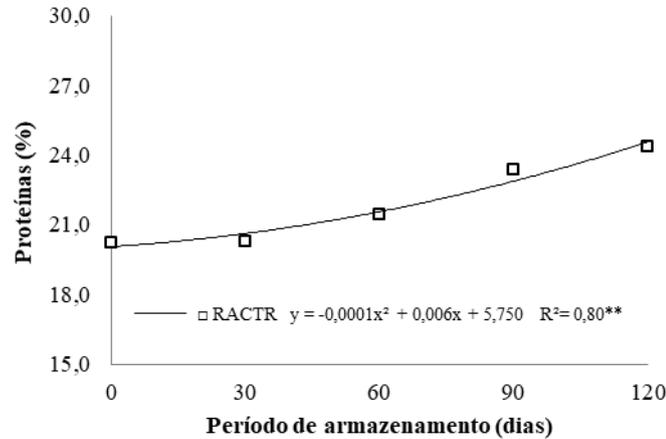
A figura 5 apresenta os resultados para a análise de acidez titulável realizada nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Figura 5:** Acidez titulável dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis.



A figura 6 apresenta os resultados para a análise de teor de proteínas realizada nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Figura 6:** Teor de proteínas (%) dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis.

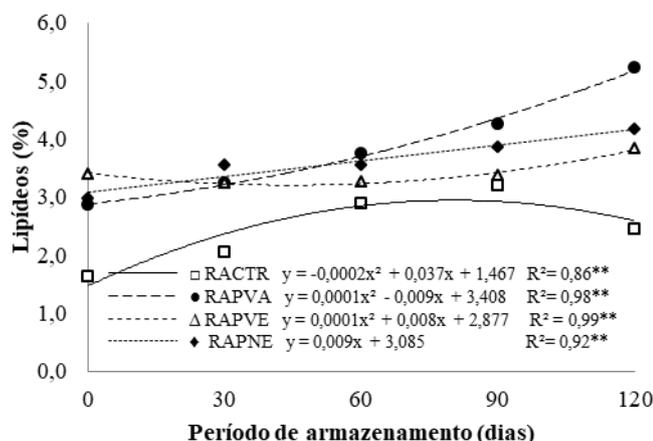


Os resultados para os teores de proteínas para todas as amostras variaram entre 20,78% (RAPVA) e 22,60% (RAPNE), estando, portanto todas as amostras dentro do que estabelece a Instrução Normativa (MAPA nº 20/2000) referente ao Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Hambúrguer, que exige valores mínimos de 15% de proteínas.

Siqueira (2001), avaliando hambúrguer bovino com baixo teor de gordura adicionado de proteína de soja e amido modificado, encontrou teores de proteínas entre 17,8 a 19,5%, teores inferiores aos encontrados neste trabalho. Enquanto que Bernadino Filho et al. (2012), em hambúrguer bovino adicionado de inulina como ingrediente funcional prebiótico e substituto de gordura, encontrou também valores inferiores variando de 15,80 a 17,28%.

A figura 7 apresenta os resultados para a análise de teor de lipídios realizada nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Figura 7:** Teor de lipídios (%) dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis.



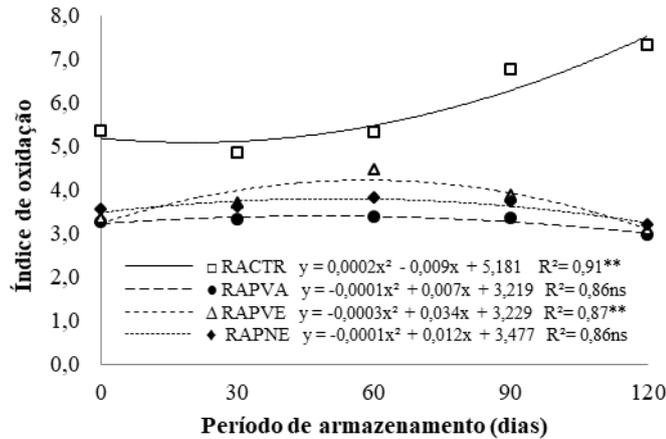
Quanto ao teor de lipídios, as diferenças encontradas nos valores obtidos podem ser provenientes devido à modificação das formulações adicionadas o extrato e revestimento da própolis. Em trabalho realizado por Rodrigues et al (2015) com revestimentos a base de propolis, os teores de lipídios variaram gradativamente de 8,37% a 9,46%. Já em pesquisa realizada por Bernadino Filho et al. (2012), em um estudo com a elaboração de hambúrgueres de carne bovina adicionados de inulina como substituto de gordura, verificaram teores de lipídios de 1,54 a 5,57%, resultados estes inferiores aos obtidos nesta pesquisa.

Em relação a lipídios em hambúrgueres, Silva (2013) encontrou valores entre 7,98% e 11,14% de lipídios ao suplementar hambúrguer de carne bovina com farinha de linhaça.

Os resultados de gordura total estão de acordo com o preconizado pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Hambúrguer do MAPA (Brasil, 2000), que preconiza o máximo de 23% de gordura para hambúrgueres.

A figura 8 apresenta os resultados para a análise de oxidação lipídica por TBARS realizada nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Figura 8:** Oxidação lipídica por TBARS realizada nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis.

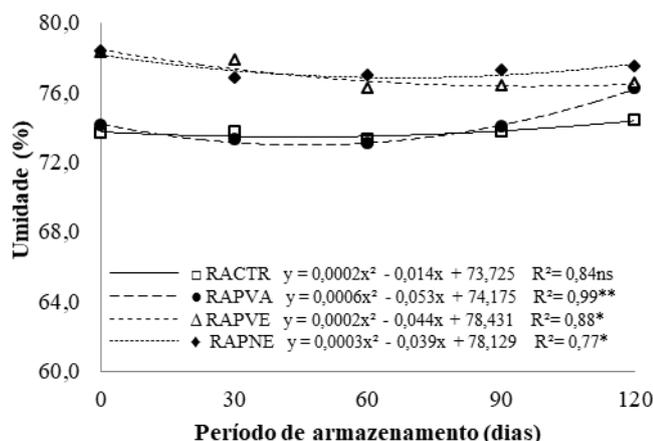


No alimento, segundo Moreira e Shami (2004) os antioxidantes naturais tem o papel de atrasar ou inibir a oxidação lipídica e proteica e ainda quando utilizado na alimentação ajuda a prevenir doenças. Nesta pesquisa a própolis foi utilizada como antioxidante natural, ficando evidente sua ação na figura 8, pois as amostras apresentaram redução no grau de oxidação.

De acordo com Mendes (1999) dentre as etapas de produção dos hambúrgueres como a moagem da carne, a exposição desta ao oxigênio, luz e calor aceleram o processo de oxidação lipídica, pois o aumento da área superficial facilita a contaminação microbiológica e o processo de deterioração ocorre de forma acelerada.

A figura 9 apresenta os resultados para a análise de teor de umidade realizada nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Figura 9:** Teor de umidade (%) dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis.



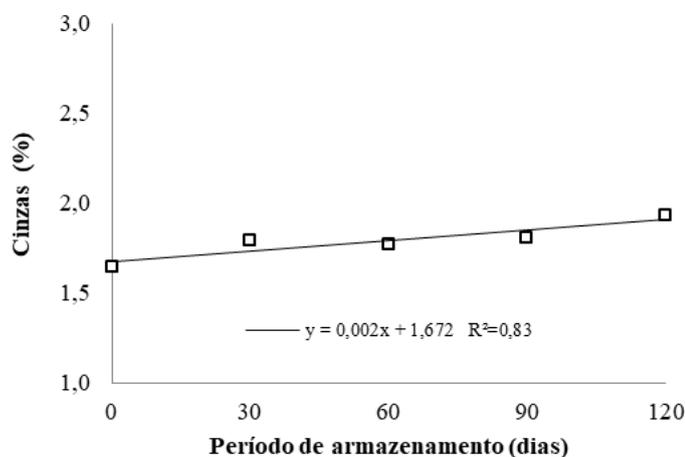
Não foi encontrada nenhuma literatura comparativa para hambúrgueres elaborados com adição e revestimento de extratos de própolis. No entanto, em estudos realizados por Fernandes (2015), resultados inferiores à umidade foram encontrados onde foram elaborados hambúrgueres com 84% de carne ovina de animais velhos e 14% de gordura ovina encontrou-se 67,34% de umidade.

Melo e Clereci (2013) também elaboraram hambúrguer bovino com corte acém e encontraram 58,7% para umidade, 17,3% para proteína, 18,7% para lipídios, 3,3% para cinzas e 2,0% para carboidratos, valores inferiores ao deste estudo, para os teores de umidade e proteínas, e superiores para lipídios e cinzas.

De acordo com as figuras 9 e 10, os valores obtidos para umidade e cinzas do hambúrguer bovino (corte acém) são superiores aos valores 72,5% e 0,9%, respectivamente, disponibilizados na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO) para este corte. De acordo com Ordóñez (2005) os componentes majoritários da carne podem variar de acordo com fatores como a espécie, idade, sexo, alimentação do animal e zona anatômica estudada. Desta forma, a umidade pode variar de 65 a 80%, a proteína de 16 a 22%, cinzas de 0,6 a 1,2% e lipídios de 3 a 13% sendo este o componente mais variável (ORDÓÑEZ, 2005).

A figura 10 apresenta os resultados para a análise de teor de cinzas realizada nos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis em um período de armazenamento de 120 dias.

**Figura 10:** Teor de cinzas (%) dos hambúrgueres bovinos adicionados de extratos de própolis e revestidos por solução filmogênica a base de extratos de própolis.



#### 4. CONCLUSÕES

Nas condições avaliadas no presente estudo, os produtos com revestimento e adicionados de extratos hidroalcoólicos de própolis foi eficaz, sendo uma alternativa para reduzir a oxidação lipídica e manter estáveis os teores de pH e acidez, sem prejudicar suas características físico-químicas e físicas.

Para as condições microbiológicas corroboradas pela atividade água todas as amostras apresentaram contaminação microbiana que comprometem a qualidade e o tempo de vida útil do produto.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, C. A; SOUZA, M. R; PINHO, L; SOBRINHO, M. E; SILVA, M. C. B. Determinação de perigos microbiológicos em carnes bovinas resfriadas provenientes de abates clandestinos e comércio ilegal. *Acta Veterinaria Brasilica*, Mossoró, v.4, n.4, p.278-285, 2010.

BELMIRO, M. S.; OKI E G, Y.; FERNANDES, W. O presente das abelhas própolis. *Revista Planeta*. Belo Horizonte, 463 Ed. Abr.2011.

BERNADINO FILHO, R.; OLIVEIRA, C. P.; GOMES, Q. O. Elaboração de hambúrguer bovino adicionado de inulina como ingrediente funcional prebiótico e substituto de gordura. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, Pompal, v. 7, n. 4, p. 33-37, 2012.

BODINI, RB . SOBRAL, PJA. FAVARO-TRINDADE, CS. CARVALHO, RA. Properties of gelatin-based films with added ethanol–propolis extract. *LWT - Food Science and Technology*, V. 51, n. 1, p. 104-110, 2013.

Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2000). Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Almôndega, de Apresuntado, de Fiambre, de Hambúrguer, de Kibe, de Presunto Cozido e de Presunto (Instrução Normativa Nº 20, de 31 de julho de 2000). Brasília: Secretaria de Defesa Agropecuária.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001. Aprova os regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geleia Real, Geleia Real Liofilizada, Polém Apícola, Própolis e Extrato de Própolis. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 23 jan. 2001. Secção I, p. 18-23

CARRASCOSA, A.V.; CORNEJO, I. Aspectos físico-químicos del curado de jamón serrano y su influencia sobre el desarrollo microbiano. *Alimentaria: Revista de tecnologia e higiene de los alimentos*, v.205, p.27-33, 1989.

DICASTILLO, C.L.; BUSTOS, A.; GUARDA, A.; GALOTTO, M. J. Cross-linked methyl cellulose films with murta fruit extract for antioxidant and antimicrobial active food packaging. *Food Hydrocolloids*, v. 60, p. 335-344, 2016.

FALGUERA, V.; QUINTERO, J. P.; JIMENEZ, A.; MUNOZ, J. A.; IBARZ, A. Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. *Trends in Food Science & Technology*, v. 22, p. 292-303, 2011.

FERREIRA, R. S.; SIMM, E. M. Análise microbiológica da carne moída de um açougue da região central do município de Pará de Minas/MG. *SynThesis Revista Digital Fapam, Pará de Minas*, n. 3, p. 37-61, abr. 2012.

FORREST, J. C.; ABERLE, E. D.; HAROLD, B. H.; JUDGE, M. D.; MERKEL, R. A. *Fundamentos de Ciencia de La Carne*. Zaragoza, Acribia: 1979.

FRANCO, B. D.G. M; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Editora Atheneu, 2002.

IBGE. Diretoria de Pesquisas Agrárias. Produção da Pecuária Municipal 2011. Rio de Janeiro, 2012. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/>> . Acesso em: 08 de agosto de 2018.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). *Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos do Instituto Adolfo Lutz: Métodos físicos e químicos para análise de alimentos*. 4 ed. São Paulo, 2008.

JANJARASSKUL, T.; KROCHTA, M. Edible packaging materials. *LWT - Food Science and Technology-Annual Reviews*, v. 1, p. 415- 448, 2010.

Jay JM. *Microbiologia de Alimentos*. 6. ed., Porto Alegre: Artmed, 2005.

MELO, L. S. M.; CLERICI, M. T. P. S. Desenvolvimento e avaliação tecnológica, sensorial e físico-química de produto cárneo, tipo hambúrguer, com substituição de gordura por farinha

desengordurada de gergelim. *Revista Alimentos e Nutrição – Brazilian Journal of Food and Nutrition*. v. 24, n. 4, p. 361-368, 2013.

MOREIRA E.A.M.; SHAMI N.J.I.E.; Licopeno como agente antioxidante. *Revista de Nutrição*, 17(2):227-236, 2004.

OLIVEIRA, M. M. M. et al. Condições higiênico-sanitárias de máquinas de moer carne, mãos de manipuladores e qualidade microbiológica da carne moída. *Rev. Ciênc. Agrotec. Lavras*, v. 32, n. 6, p. 1.893-1.898, nov./dez. 2008.

ORDÓÑEZ, J. A. *Tecnologia de alimentos – Alimentos de origem animal*. Porto Alegre: Artmed, 2005, 279 p.

RHIM, J.-W.; LEE, J. H.; NG., P. K. W. Mechanical and barrier properties of biodegradable based films coated with polylactic acid. *LWT - Food Science and Technology*, v. 40, p. 232-238, 2007.

SANTOS, F. A. N; LEÔNCIO, G. G; SILVA, S. D. F; PINHEIRO, N. F. M; PEREIRA, M. D; LOPES, S. I. Presença de *Staphylococcus aureus* em carne moída bovina comercializada em feiras e mercados públicos da cidade de São Luís-MA. 64ª reunião Anual da SBPC. UFMA, 2012.

SILVA, C. E. *Elaboração e avaliação de hambúrgueres de carne bovina com substituições de toucinho por farinha de linhaça*. Londrina: UTFPR, 2013. Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologia de Alimentos), Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2013.

TERRA, N. N. *Apontamentos de Tecnologia de Carnes*. São Leopoldo: UNISINOS, 1998.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água*. 5ª edição. São Paulo: Livraria Varela, 2015.

SIQUEIRA, P.B. Desenvolvimento e Aceitação de Hambúrguer com Baixo Teor de Gordura. *Food Ingredients*, n.14, p.74-77, 2001.

SIQUEIRA, A. L.; DANTAS, C. G.; GOMES, M. Z.; PADILHA, F. F.; ALBUQUERQUE JUNIOR, R. L. C.; CARDOSO, J. C. Estudo da ação antibacteriana do extrato hidroalcoólico de propolis vermelha sobre *Enterococcus faecalis*. *Revista de Odontologia da UNESP*, v. 43. p. 359-366, 2014.

SORIANO, J. M.; FONT, G.; MOLTÓ, J. C.; MAÑES, J. Enterotoxigenic staphylococci and their toxins in restaurant foods. *Trends in Food Science & Technology*, v. 13, p. 60-67, 2002.

SOUZA, T. M. et al. Microrganismos patogênicos e indicadores de condições higiênico-sanitária em carne moída comercializada na cidade de Barra do Garças, MT. *Acta Veterinária Brasília*, v. 6, n. 2, p. 124-130, 2012.

TORRES, F. G. *et al.* Biodegradability and mechanical properties of starch films from Andean crops. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 48, p. 603-603, 2011.

ZAVAREZE, E. D. R. *et al.* Development of oxidised and heat–moisture treated potato starch film. **Food Chemistry**, v. 132, n. 01, p. 344–350, mai. 2012.

YAN, Q. *et al.* Effects of extrusion and glycerol content on properties of oxidized and acetylated. **Carbohydrate Polymers**, v. 87 , p. 707–712, 2012.

## CAPITULO VI

### ARTIGO 6 - AVALIAÇÃO SENSORIAL DE HAMBÚRGUERES BOVINOS ELABORADOS COM ADIÇÃO DE EXTRATOS DE PRÓPOLIS

#### RESUMO

O ritmo acelerado da vida moderna vem contribuindo para o aumento da demanda por alimentos industrializados e de rápida preparação. O produto cárneo tipo hambúrguer é um alimento muito consumido pela população em geral, pela sua praticidade e pelos seus atributos sensoriais, no entanto esses alimentos, em sua grande maioria podem conter elevadas concentrações de aditivos químicos, diante disso esta pesquisa tem por objetivo desenvolver formulações de produtos cárneos tipo hambúrguer bovino aditivado e revestido por solução filmogênica a base de extratos hidroalcoólicos de própolis vermelha, verde e negra, sem prejudicar a qualidade sensorial e a aceitação pelos consumidores. Foram elaboradas nove formulações de hambúrgueres as quais foram realizadas as análises sensoriais de aparência, cor, aroma, sabor, textura, aceitação global e avaliada a aceitabilidade das amostras experimentais, em comparação a amostra controle elaborada conforme hambúrgueres disponíveis comercialmente no mercado. As amostras foram analisadas por 165 provadores não treinados, escolhidos em função de apreciarem e serem consumidores habituais do produto. As nove formulações de hambúrgueres elaboradas foram bem aceitas pelos provadores. Os resultados para o teste de aceitação (escala hedônica de 9 pontos) demonstraram que não houve diferença significativa para os atributos sensoriais entre as nove formulações em comparação a amostra controle. No teste de intenção de compra, houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) em relação à amostra controle. A utilização de extrato de própolis verde e de própolis negra como aditivo na formulação hambúrguer bovino e/ou em revestimentos comestíveis aplicados nestes produtos, não interferiram negativamente nas características sensoriais.

**Palavras-chave:** atributos sensoriais; produto cárneo; teste de aceitação.

#### ABSTRACT

The fast pace of modern life has been contributing to the increasing demand for industrialized and rapidly prepared food. The hamburger meat product is a food consumed by the population in general, because of its practicality and its sensorial attributes, however, these foods, in their great majority may contain high concentrations of chemical additives, in front of this research the objective is to develop formulations of bovine hamburger meat products added and coated with a film-forming solution based on hydroalcoholic extracts of red, green and black propolis, without impairing the sensorial quality and acceptance by consumers. Nine hamburger formulations were prepared and the sensorial analyzes of appearance, color, aroma, flavor, texture, overall acceptance and evaluated the acceptability of the experimental samples were carried out in comparison to the control sample prepared according to commercially available hamburgers. The samples were analyzed by 165 non-trained tasters, chosen because they appreciated and were habitual consumers of the product. The nine formulations of elaborate hamburgers were well accepted by the tasters. The results for the

acceptance test (9 point hedonic scale) showed that there was no significant difference for the sensory attributes among the nine formulations in comparison to the control sample. In the intention of purchase test, there was a significant difference ( $p > 0.05$ ) in relation to the control sample. The use of green propolis extract and black propolis as an additive in the bovine burger formulation and / or edible coatings applied in these products did not negatively interfere with the sensorial characteristics.

**Keywords:** sensorial attributes; meat product; acceptance test.

## 1. INTRODUÇÃO

Dentre os alimentos de rápida preparação, destaca-se o hambúrguer, produto cárneo de grande aceitabilidade. O hambúrguer é um alimento consumido por todas as classes, entretanto, alguns fatores, como a forma de preparo, o excesso de gordura saturada e a presença de aditivos químicos, podem torná-lo prejudicial à saúde humana, principalmente quando consumido em excesso, levando ao aparecimento das chamadas doenças crônicas não transmissíveis, entre as quais destacam-se a obesidade, a hipercolesterolemia, o diabetes melittus tipo 2 e a hipertensão, que, atualmente, têm acometido, além de adultos e idosos, também as crianças (OLIVEIRA et al., 2013).

O consumo desse industrializado é cada vez maior. De acordo com matéria publicada pelo jornal El País, a população brasileira se encontra em primeiro lugar no ranking de consumo de *fast food* na América Latina (53,7 bilhões de reais). Além disso, no Brasil o consumo deve crescer em 30,88% até 2019 (ROMERO, 2016).

De uma forma simplificada, a análise sensorial de produtos alimentícios emprega dois tipos de testes, analíticos e afetivos. Os testes analíticos requerem uma equipe de provadores treinados, capazes de discriminar diferenças e repetir os resultados. Os testes afetivos são indicados quando se deseja avaliar preferência ou aceitabilidade de alimentos. Esses testes utilizam provadores não treinados, consumidores habituais do produto a ser analisado. Requer um número maior de provadores, quando comparado com os testes analíticos (MININ, 2010).

Segundo Dausch (2007), um novo tipo de própolis de coloração vermelha, de colmeias encontradas ao longo da praia e dos rios do nordeste do Brasil, foi classificado como própolis do grupo 13 de acordo com as características físico-químicas e biológicas diferenciais. A principal origem botânica desta própolis é a planta *Dalbergia ecastophyllum*, popularmente conhecida como rabo-de-bugio, encontrada ao longo da praia e região do mangue do nordeste do Brasil (SILVA et al., 2007). Trabalhos descrevendo o potencial biológico desta variedade de própolis de cor vermelha encontrada em Cuba e na Venezuela já

existem desde a década de 90, onde demonstra ter ação antimicrobiana, cicatrizantes e antioxidantes, sendo identificados os seus antecessores botânicos como *Clusia nemorosa* e a *Clusia scrobiculata* (TRUSHEVA *et al.*, 2006).

A própolis verde tem sido bastante estudada devido a suas propriedades biológicas e terapêuticas (ALENCAR *et al.*, 2007; TRUSHEVA *et al.*, 2006; AYRES, MARCUCCI e GIORGIO, 2007). Menos conhecida que a própolis verde, a própolis vermelha também tem despertado grande interesse, por ser uma variedade mais rara encontrada na região Nordeste do Brasil, principalmente nos estados de Alagoas e Sergipe. Recentes estudos relataram que esta variedade apresenta atividade antioxidante e antimicrobiana em testes preliminares *in vitro*, sugerindo que este produto é composto por bioativos com potencial farmacológico (DAUGSCH *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2007; AWALE *et al.*, 2008; SIQUEIRA, 2008; BITTENCOURT, 2008; BARRETO, 2008).

Sendo assim esta pesquisa tem por objetivo desenvolver formulações de produtos cárneos tipo hambúrguer bovino aditivado e revestido por solução filmogênica a base de extratos hidroalcoólicos de própolis vermelha, verde e negra, sem prejudicar a qualidade sensorial e a aceitação pelos consumidores.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios do Centro Vocacional Tecnológico (CVT) da Universidade Federal de Campina Grande, campus Pombal.

### **2.1. Elaboração do hambúrguer de bovino**

Os hambúrgueres foram preparados baseada na metodologia proposta por Melo e Clerici (2013), com algumas modificações. A principal matéria-prima utilizada foi à carne bovina magra acém. Todos os utensílios e equipamentos utilizados na elaboração dos hambúrgueres foram previamente higienizados com hipoclorito de sódio a 200 mg/L (TONDO; BARTZ, 2011). Após a limpeza da carne (retirada da gordura e tecido conjuntivo aparente), esta foi moída em moedor elétrico. Após a moagem, foram adicionados na sequência à água (gelada) e o sal, para a extração das proteínas miofibrilares. Após conveniente mistura, os demais ingredientes (fécula de mandioca, pimenta do reino em pó, realçador de sabor e fixador de cor) foram colocados um a um. Essa massa foi então dividida em porções, onde foram sendo originados os tratamentos apresentados a seguir:

- ✓ ACTL (formulação controle, sem adição de extrato de propolis);
- ✓ APVA (formulação adicionada de 1% de extrato de própolis vermelha);
- ✓ APVE (formulação adicionada de 1% de extrato de própolis verde);

- ✓ APNE (formulação adicionada de 1% de extrato de própolis negra);
- ✓ RPVA (revestimento adicionado de 5% de extrato de própolis vermelha);
- ✓ RPVE (revestimento adicionado de 5% de extrato de própolis verde);
- ✓ RPNE (revestimento adicionado de 5% de extrato de própolis negra);
- ✓ RAPVA (revestimento e formulação adicionada de 1% de extrato de própolis vermelha);
- ✓ RAPVE (revestimento e formulação adicionada de 1% de extrato de própolis verde);
- ✓ RAPNE (revestimento e formulação adicionada de 1% de extrato de própolis negra);

Após a homogeneização dos ingredientes de cada formulação, os hambúrgueres foram prensados e moldados em uma hamburgueira manual de 11 cm de diâmetro, obtendo-se hambúrgueres com peso líquido de 100 g cada e em sequência foram embalados. Os hambúrgueres foram congelados a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  até o momento da realização da análise sensorial.

## **2.2. Análise sensorial**

A análise sensorial foi realizada em cabines individuais no Laboratório de Análise sensorial da Unidade Acadêmica de Tecnologia de Alimentos da UFCG, campus Pombal, com a participação de 165 provadores não treinados, sendo 71 homens e 94 mulheres, com idades entre 16 e 47 anos. Todos os provadores que participaram do teste assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, onde foram apresentados ao estudo, foram informados sobre os seus riscos e concordaram em integrar o grupo de pessoas que julgariam as amostras. As amostras foram servidas em pratos plásticos descartáveis, codificadas com três dígitos, acompanhadas de biscoito tipo água e sal para remoção do sabor residual, e água para a lavagem do palato. Por meio do teste de aceitação foram avaliados os atributos sensoriais cor, aparência, aroma, sabor, textura e aceitação global, utilizando escala hedônica estruturada de nove pontos na qual 9 correspondia a “gostei muitíssimo”, 5 “nem gostei/nem desgostei” e 1 a “desgostei muitíssimo”. Para a intenção de compra, utilizou-se a escala de cinco pontos, em que 5 representava “certamente compraria” e 1 “certamente não compraria”.

## **2.3. Análise estatística**

Para a análise estatística dos resultados utilizou-se software Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2008). As amostras foram submetidas a análise de variância e a diferença entre os tratamentos foi comparada pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão dispostos os resultados médios obtidos na análise sensorial dos hambúrgueres bovinos com incorporação de extrato de própolis. Apenas para o atributo cor não foi observada diferença significativa entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ), para o qual foram obtidas médias entre 6,81 e 7,21, intermediárias dos termos hedônicos “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”. Observou-se diferença significativa entre os tratamentos APVA e RAPVA para a aparência, aos quais foram atribuídas as menores e maiores médias, 6,83 e 7,35, respectivamente, e para os demais atributos, esses tratamentos apresentaram as menores médias.

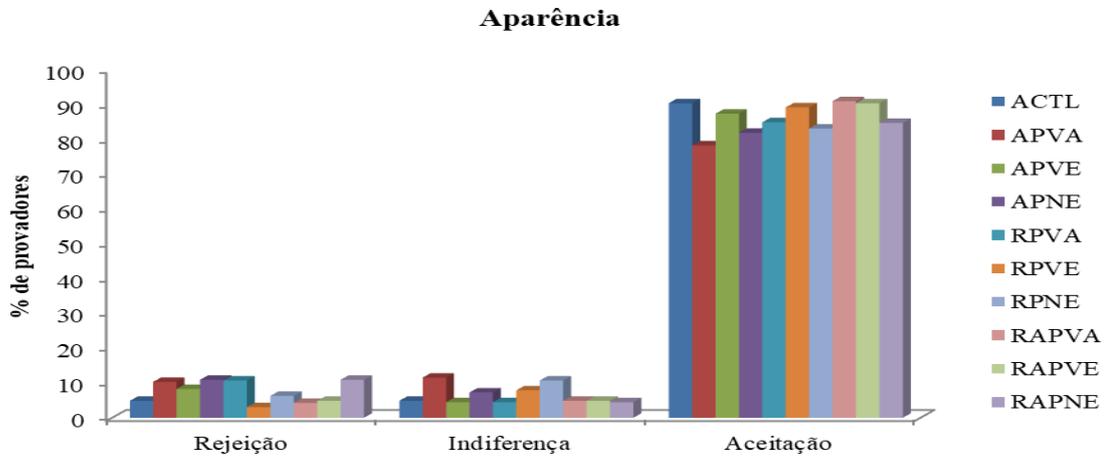
**Tabela 1:** Média dos resultados para os atributos sensoriais aparência, cor, aroma, sabor, textura, aceitação global (AG) e intenção de compra (IC) de hambúrguer bovino com incorporação de extrato de própolis.

Amostras	Atributos						
	Aparência	Cor	Aroma	Sabor	Textura	AG	IC
ACTL	7,26 <sup>ab</sup>	7,18 <sup>a</sup>	7,12 <sup>a</sup>	7,02 <sup>a</sup>	6,80 <sup>ab</sup>	7,04 <sup>a</sup>	3,63 <sup>a</sup>
APVA	6,83 <sup>b</sup>	6,87 <sup>a</sup>	6,63 <sup>ab</sup>	5,86 <sup>b</sup>	6,37 <sup>b</sup>	6,10 <sup>b</sup>	3,17 <sup>bc</sup>
APVE	7,16 <sup>ab</sup>	7,07 <sup>a</sup>	7,02 <sup>a</sup>	6,70 <sup>a</sup>	7,07 <sup>a</sup>	6,96 <sup>a</sup>	3,62 <sup>a</sup>
APNE	7,04 <sup>ab</sup>	6,95 <sup>a</sup>	7,02 <sup>a</sup>	6,80 <sup>a</sup>	6,72 <sup>ab</sup>	6,83 <sup>a</sup>	3,58 <sup>a</sup>
RPVA	7,06 <sup>ab</sup>	7,08 <sup>a</sup>	6,93 <sup>ab</sup>	6,93 <sup>a</sup>	7,05 <sup>a</sup>	6,90 <sup>a</sup>	3,64 <sup>a</sup>
RPVE	7,26 <sup>ab</sup>	7,14 <sup>a</sup>	7,00 <sup>ab</sup>	7,04 <sup>a</sup>	7,12 <sup>a</sup>	7,04 <sup>a</sup>	3,83 <sup>a</sup>
RPNE	6,95 <sup>ab</sup>	6,81 <sup>a</sup>	6,83 <sup>ab</sup>	6,78 <sup>a</sup>	6,91 <sup>ab</sup>	6,78 <sup>a</sup>	3,54 <sup>ab</sup>
RAPVA	7,35 <sup>a</sup>	7,21 <sup>a</sup>	6,50 <sup>b</sup>	5,60 <sup>b</sup>	6,47 <sup>b</sup>	5,93 <sup>b</sup>	2,98 <sup>c</sup>
RAPVE	7,33 <sup>ab</sup>	7,17 <sup>a</sup>	6,87 <sup>ab</sup>	6,69 <sup>a</sup>	7,08 <sup>a</sup>	6,86 <sup>a</sup>	3,64 <sup>a</sup>
RAPNE	7,08 <sup>ab</sup>	7,07 <sup>a</sup>	6,74 <sup>ab</sup>	6,62 <sup>a</sup>	6,85 <sup>ab</sup>	6,74 <sup>a</sup>	3,59 <sup>a</sup>
DMS	0,51	0,51	0,52	0,63	0,57	0,57	0,40
Cv (%)	20,29	20,58	21,69	27,1	23,57	24,02	32,33

Médias seguidas de letras iguais nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

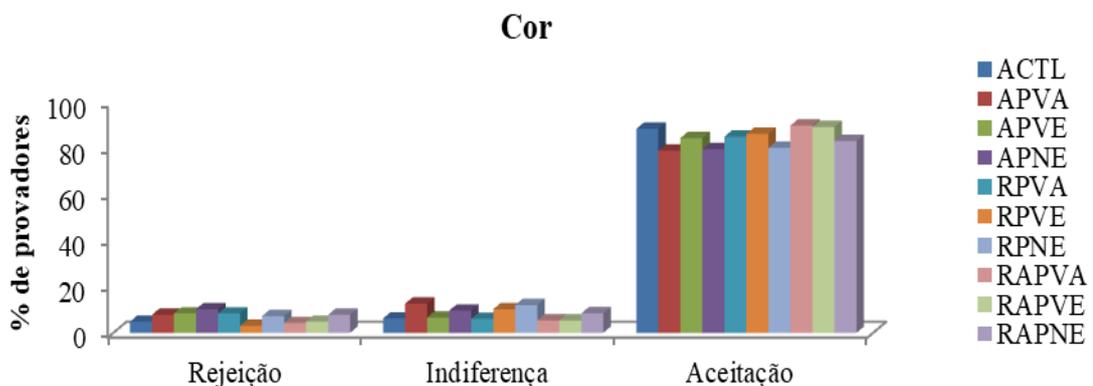
Observa-se na Figura 1 que o hambúrguer com incorporação de extrato de própolis vermelha na formulação e no revestimento (RAPVA) apresentou score de aceitação para a aparência equivalente ao hambúrguer padrão, cerca de 92,0%. Não se verificou diferenças expressivas entre os percentuais de respostas positivas para os hambúrgueres com a utilização da própolis verde como aditivo na formulação e/ou revestimento, estando entre 88,3 e 90,1%.

**Figura 1:** Número de respostas para o atributo aparência de hambúrguer bovino com incorporação de extrato de própolis.



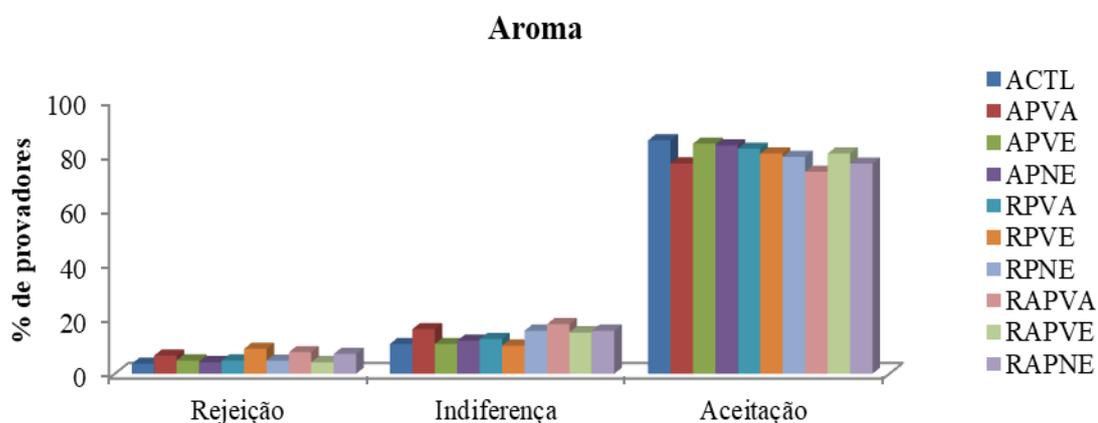
A cor dos hambúrgueres (Figura 2) apresentou percentual de satisfação entre 80,4 e 91,4%, sendo as amostras com a utilização da própolis vermelha apenas na formulação (APVA) e da própolis negra na formulação (APNE) ou no revestimento (RPNE) as responsáveis pelos menores scores positivos. Foram observados comentários referente à aparência e cor dos hambúrgueres, os quais relataram que a aparência destes são boas, contudo os de cores escuras agradam mais. A cor apresenta grande importância na aceitabilidade dos produtos e muitas vezes é utilizada como critério de aceitação ou rejeição de um determinado produto. No entanto, Rolim (2015) menciona que a cor, isoladamente, não define a aparência, e sim um conjunto de atributos, como a forma, tamanho, brilho, entre outros.

**Figura 2:** Número de respostas para o atributo cor de hambúrguer bovino com incorporação de extrato de própolis.



O aroma (Figura 3) apresentou percentuais de respostas positivas entre 74,8 e 86,5%. Os maiores resultados foram obtidos para o tratamento controle (ACTL), seguidos dos tratamentos aditivados de própolis verde (APVE) e de própolis negra (APNE). Os aromas com menor aceitação referem-se aos hambúrgueres com incorporação da própolis vermelha na formulação (APVA) e como aditivo na formulação e revestimento (RAPVA).

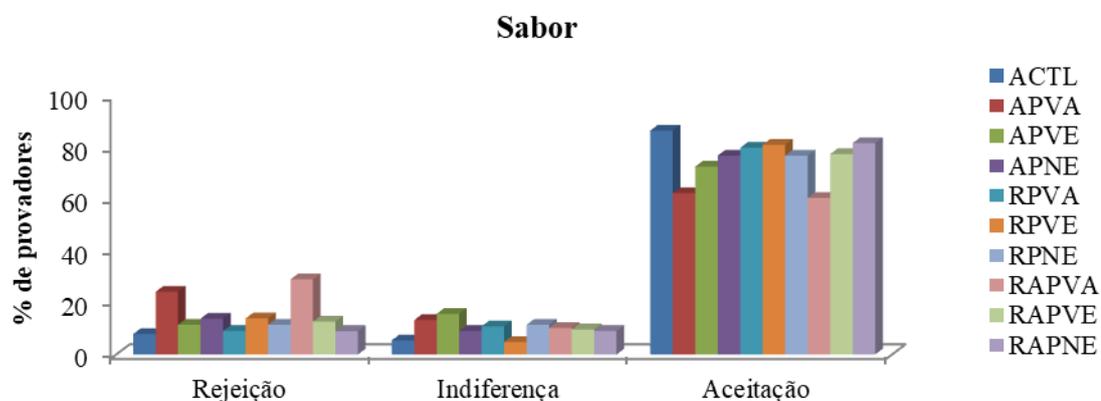
**Figura 3:** Número de respostas para o aroma de hambúrguer bovino com incorporação de extrato de própolis.



Para o sabor (Figura 4), a formulação padrão (ACTL) apresentou percentual de aceitação superior às demais, 87,7%. Observa-se que a utilização da própolis vermelha como aditivo (APVA e RAPVA) resultou em uma menor satisfação para este atributo, entre 61,3% (RAPVA) e 63,1% (APVA). Esse resultado pode ser justificado pelo tópico comentário, onde alguns provadores responderam que essas amostras possuem sabor muito forte, mascarando o sabor da carne ou a harmonia entre os sabores. No entanto a sua utilização apenas no revestimento (RPVA) proporcionou aceitação positiva, 81,0%.

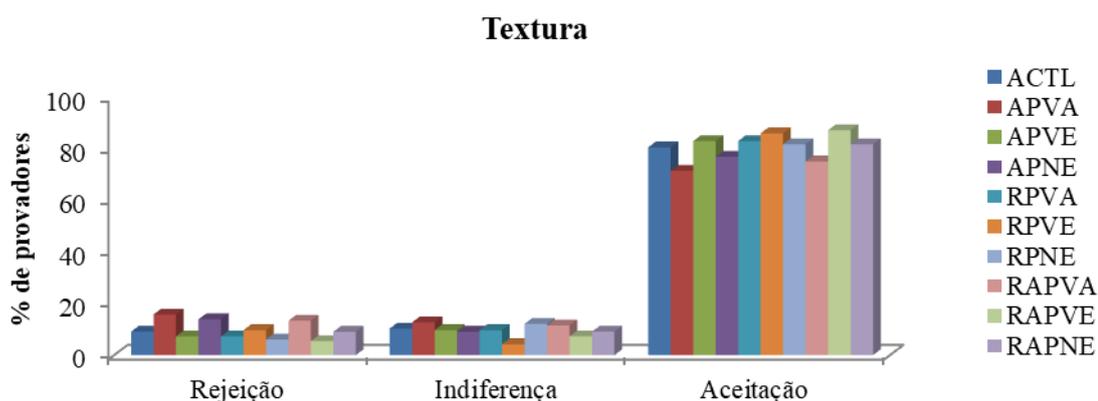
Segundo Pereira (2009), além de ser eficiente em baixas concentrações, facilmente aplicável, e estável nas condições de processo e armazenamento, o antioxidante não deve ser tóxico e não deve causar efeitos indesejáveis nas características sensoriais do alimento (cor, odor, sabor). Desta forma, a incorporação de 1% de própolis vermelha como aditivo na formulação hambúrguer interferiu na sua qualidade sensorial, não sendo recomendada esta concentração.

**Figura 4:** Número de respostas para o sabor de hambúrguer bovino com incorporação de extrato de própolis.



A utilização da própolis verde proporcionou aos hambúrgueres texturas (Figura 5) mais agradáveis que os demais tratamentos, assim como a utilização da própolis vermelha apenas como revestimento (RPVA). Resultados análogos foram relatados por Lappe (2004), ao aplicar extrato de própolis na superfície de salame tipo italiano, em que a incorporação de 4% de extrato proporcionou melhores notas para esse atributo, em comparação ao tratamento controle.

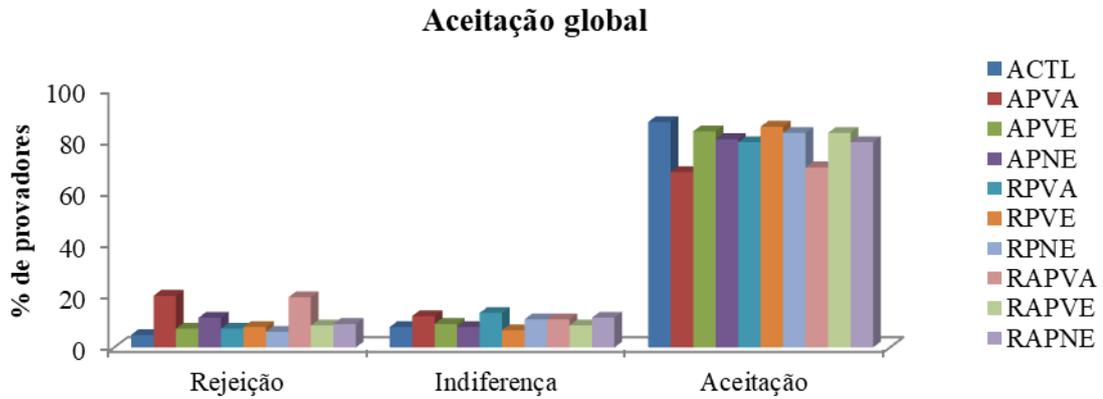
**Figura 5:** Número de respostas para a textura de hambúrguer bovino com incorporação de extrato de própolis.



A aceitação global (Figura 6) dos hambúrgueres decresceu na mesma ordem que os atributos, aroma, sabor e textura, para as amostras APVA (68,7%) e RAPVA (70,6%), e provavelmente como consequência dos mesmos, assim como reportado por Rolim (2015) para hambúrguer bovino, em que a avaliação do sabor refletiu diretamente na aceitação global. Para as demais amostras observou-se uma boa aceitação global, entre 80,4 e 88,3%, indicando

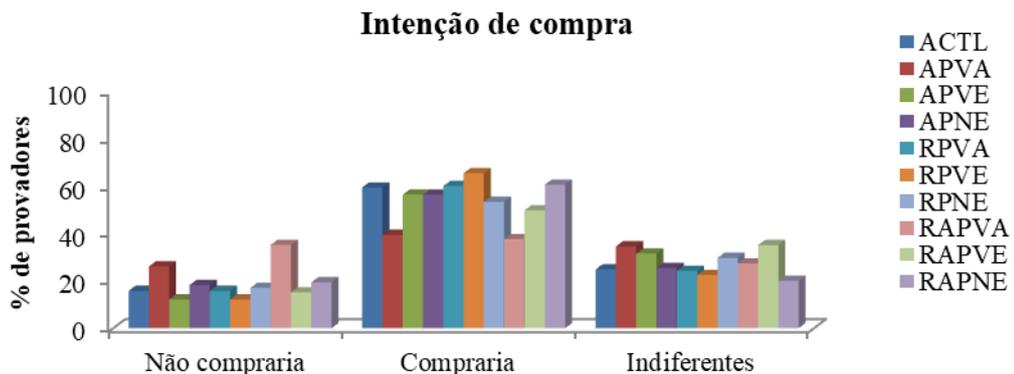
que a substituição de antioxidantes sintéticos por estes extratos naturais pode ser realizada sem prejuízos a aceitação do produto.

**Figura 6:** Aceitação global de hambúrguer bovino com incorporação de extrato de própolis.



Os resultados para intenção de compra (Figura 7) refletiram a aceitação global. Os hambúrgueres revestidos com extrato de própolis verde (RPVE), com extrato de própolis vermelha (RPVA) e revestido e adicionado de extrato de própolis negra (RAPNE) apresentaram índice de intenção de compra superior à amostra controle. A utilização do extrato de própolis vermelha como aditivo na formulação (APVA e RAPVA) refletiu em baixas notas de intenção de compra, apenas cerca de 40% dos provadores comprariam este produto caso ele estivesse disponível no mercado.

**Figura 7:** Intenção de compra de hambúrguer bovino com incorporação de extrato de própolis.



Seguem alguns dos comentários dos provadores:

“As amostras RPVA e RPVE se superaram” R.A, 23 anos.

“O produto APVA deixou a desejar em alguns quesitos, não sei se é a própolis com concentração maior?. As outras gostei.” L.G.A., 20 anos.

“Gostei bastante dos hambúrgueres, certamente compraria este produto se estivesse no mercado” J.P.D.F., 20 anos.

“A amostra APVE superior às demais” T.R.G.R., 37 anos.

“Gostei muito, mas, em algumas amostras o sabor estava muito marcante, mascarando o sabor da carne.” L.A.F.A.S., 19 anos.

“A textura, o sabor e o aroma possuem o seu diferencial e algumas das amostras com toda certeza agradaria o consumidor, sendo algo novo para ser oferecido e claro muito gostoso.” R.W.F.O., 19 anos.

“A amostra RAPVE está sensacional.” W.F.F., 19 anos.

“A amostra RAPVA possui sabor forte demais, não senti muito o gosto da carne ou harmonia de sabores.” F.T.R.M.F., 20 anos.

“Os produtos estão gostosos, se saindo muito superior as amostras, APVA, APVE e RAPNE. Excelentes!” S.K.Q.M., 19anos.

“De forma geral, a aparência é boa. Os de cores mais escuras agradam mais. O aroma é bem discreto. Os sabores são bons, mas não ótimos, com exceção de algumas amostras como a RAPNE que possui um sabor bem enjoativo. A textura é boa também.” V.S.M.O., 19 anos.

#### **4. CONCLUSÕES**

A utilização de extrato de própolis verde e de própolis negra como aditivo na formulação hambúrguer bovino e/ou em revestimentos comestíveis aplicados nestes produtos, não interferiram negativamente nas características sensoriais. No entanto, a utilização da própolis vermelha é recomendada apenas como aditivo para revestimento, em virtude do sabor residual que acrescenta ao produto.

#### **5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

AWALE, S.; LI, F.; ONOZUKA, H.; ESUMI, H.; TEZUKA, Y.; KADOTA, S. Constituents of Brazilian red propolis and their preferential cytotoxic activity against human pancreatic PANC-1 cancer cell line in nutrient-deprived condition. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16, p.181–189; 2008.

AYRES, D.C.; MARCUCCI, M.C.; GIORGIO, S. Effects of Brazilian propolis on *Leishmania amazonensis*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 102(2), p. 215-220, 2007.

BARRETO, A.L.S. Estudo histomorfológico do efeito de membranas de colágeno contendo própolis vermelha sobre o processo de reparo cicatricial por segunda intenção em ratos. Dissertação de mestrado, UNIT, Aracaju, SE, Brasil, 2008.

BITTENCOURT, F.O. Desenvolvimento e avaliação da atividade antimicrobiana contra *Candida albicans* de formulações semi-sólidas contendo própolis vermelha. Dissertação de mestrado, UNIT, Aracaju, SE, Brasil, 2008.

DAUGSCH, A. A própolis vermelha do nordeste do Brasil e suas Características químicas e biológicas. Tese de doutorado, Campinas, SP, Brasil, 2007.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium (Lavras)**, v. 6, p. 36-41, 2008.

LAPPE, R. Influencia da utilização do extrato hidroalcoólico de própolis sobre o desenvolvimento de fungos e características físico-químicas e sensoriais do salame tipo italiano. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos), Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria/RS, 2004.

MINIM, V. P. R. Análise sensorial: estudo com consumidores. 2 ed. Viçosa: UFV, 2010.

OLIVEIRA, D. F. et al. Alternativas para um produto cárneo mais saudável: uma revisão. *Braz. Food. Technol.*, v.16, n.3, p.163-174, 2013.

PEREIRA, M. G.; Aplicação de antioxidantes naturais em carne mecanicamente separada (CMS) de ave. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos), 128f, Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria/RS, 2009.

ROLIM, C. D. Elaboração e avaliação de hambúrguer à base de carne bovina com teor reduzido de sódio. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Engenharia Agroindustrial), 72f, Universidade Federal do Rio Grande, Santo Antônio da Patrulha, 2015.

SILVA, B.B; ROSALEN, P.L; CURY, J.A; IKEGAKI, M; SOUZA, C; ESTEVES,A; ALENCAR, S.M. Chemical composition and botanical origin of red propolis, a new type of Brazilian própolis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 5, p.313-316, 2007.

SIQUEIRA, A.L. Estudo da ação antibacteriana do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha sobre *Enterococcus faecalis* – Dissertação de mestrado, Universidade Tiradentes, Aracaju, SE, Brasil, 2008.

TRUSHEVA B, POPOVA M, BANKOVA V, SIMOVA S, MARCUCCI MC, MIORIN PL, PASIN FR, TSVETKOVA I. Bioactive constituents of Brazilian red propolis. *e CAM* 3, p.249-254, 2006.

**ANEXOS**

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE

**Título da Pesquisa:** USO DE REVESTIMENTO E ADITIVO A BASE DE EXTRATO DE PRÓPOLIS NA CONSERVAÇÃO DE HÁMBURGUER BOVINO

**Responsável:** M. Sc. Maria do Socorro Araujo Rodrigues.

Você está sendo convidado (a) a participar como voluntário (a) da avaliação sensorial de carne de hambúrguer adicionada de extrato de própolis.

O mercado vem crescendo rapidamente em consonância ao aumento da demanda pela criação de novas formulações de produtos cárneos. Para isto, novos maquinários, formulações e aditivos alimentícios seguros estão sendo criados e aprimorados.

Após avaliar minuciosamente todas as propriedades e características físicas, químicas e microbiológicas, percebeu-se a possibilidade da utilização da carne de hambúrguer adicionada de extrato de própolis na indústria alimentícia e neste sentido usaram-se estes extratos de três tipos de própolis distintas nas mesmas concentrações. O objetivo desta fase então é realizar a avaliação sensorial carne de hambúrguer adicionada de extrato de própolis, através do teste de aceitação, avaliando parâmetros como aparência, cor, aroma, sabor, textura, aceitação global e intenção de compra.

É muito improvável a ocorrência de qualquer desconforto ou riscos para você que participará desta pesquisa, pois todas as amostras de carne de hambúrguer adicionada de extrato de própolis foram avaliadas fisicoquimicamente e microbiologicamente, não havendo existência de microrganismos patogênicos. Você será esclarecido (a) sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar e está livre para se recusar a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento que achar oportuno.

Sua participação é de grande valia para este estudo, no entanto, ela é totalmente voluntária e a sua recusa não acarretará em penalidades, sanções ou constrangimentos. Os pesquisadores irão tratar a sua identidade com padrões éticos profissionais e em total sigilo.

A participação no estudo não acarretará custos e também não será disponível qualquer tipo de compensação financeira.

Eu, \_\_\_\_\_ CPF nº \_\_\_\_\_ declaro que li as informações contidas neste documento, fui devidamente informado pelos pesquisadores que serão utilizados, riscos e desconfortos, benefícios, custo/reembolso dos participantes e confiabilidade da pesquisa. Concordo ainda em participar da pesquisa. Foi garantido que posso retirar o consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade. Declaro também que recebi uma via impressa deste documento e que tive oportunidade de ler e esclarecer minhas dúvidas.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do participante

\_\_\_\_\_  
Oswaldo Soares da Silva  
Pesquisador Responsável

## FICHA SENSORIAL

Nome: \_\_\_\_\_ Sexo: F( ) M( ) Idade: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/04/2018

### ANÁLISE SENSORIAL DE CARNE DE HAMBÚRGUER ADICIONADA DE PRÓPOLIS

1. Você está recebendo dez amostras codificadas de CARNE DE HAMBÚRGUER. Por favor, prove as amostras da esquerda para a direita, avaliando em cada uma delas através dos atributos de: **APARENCIA, COR, AROMA, SABOR, TEXTURA e ACEITAÇÃO GLOBAL**. Marque na tabela o código referente a cada amostra, de acordo o quanto você desgostou ou gostou do produto.

- |                               |                            |
|-------------------------------|----------------------------|
| (9) gostei muitíssimo         | (4) desgostei ligeiramente |
| (8) gostei muito              | (3) desgostei regularmente |
| (7) gostei regularmente       | (2) desgostei muito        |
| (6) gostei ligeiramente       | (1) desgostei muitíssimo   |
| (5) não gostei, nem desgostei |                            |

Atributos	Amostra									
Aparencia										
Cor										
Aroma										
Sabor										
Textura										
Aceitação Global										

2. Sobre a intenção de compra por escala de atitude estruturada

- (5) Certamente compraria este produto  
 (4) Provavelmente compraria este produto  
 (3) Tenho dúvidas se compraria ou não este produto  
 (2) Provavelmente não compraria este produto  
 (1) Certamente não compraria este produto

Intenção de compra	Amostra									

Comentários:

\_\_\_\_\_

Obrigada!