

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE
ALIMENTOS

LUCIANA RUGGERI MENEZES GOTARDO

Estratégias para avaliação da qualidade de carne ovina e estudo
da estabilidade de seus derivados

Pirassununga-SP
Setembro, 2023.

LUCIANA RUGGERI MENEZES GOTARDO

Estratégias para avaliação da qualidade de carne ovina e estudo
da estabilidade de seus derivados

(Versão corrigida)

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

Área de Concentração: Ciências da Engenharia
de Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Trindade

Pirassununga-SP
Setembro, 2023.

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

R683e Ruggeri Menezes Gotardo, Luciana
Estratégias para avaliação da qualidade de carne
ovina e estudo da estabilidade de seus derivados /
Luciana Ruggeri Menezes Gotardo ; orientador Marco
Antonio Trindade. -- Pirassununga, 2023.
100 f.

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

1. Ovinos. 2. Qualidade De carne. 3. Derivados
cárneos saudáveis. 4. Própolis Vermelha. 5.
Estabilidade oxidativa. I. Trindade, Marco Antonio,
orient. II. Título.

Dedico este trabalho a mim mesma que por várias vezes pensou em desistir “só eu sei o que passei”, mas segui firme no propósito de concluir o doutorado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade de evolução em mais uma vida.

Ao meu marido Clodoaldo por estar ao meu lado me apoiando e me levantando quando necessário. Obrigada por embarcar nessa minha escolha e loucura. Te amo!

Aos meus pais Sérgio e Terezinha pelo apoio incondicional, às minhas irmãs, Marcela e Gabriela, às minhas sobrinhas Isabella e Antonella seguimos juntos nesta jornada de aprendizado da vida. Amo todos vocês.

Agradeço a Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos e à Universidade de São Paulo (FZEA-USP) pela estrutura, apoio e também pela oportunidade de desenvolver este projeto de pesquisa.

Ao Prof. Dr. Marco Antonio Trindade, a quem sou imensamente grata pela oportunidade, confiança, paciência e dedicação para que juntos seguissemos para a conclusão do doutorado.

Ao Dr. José Manuel Lorenzo, pela oportunidade de realizar estágio no Centro de Tecnologia de Carne, em Ourense na Espanha, onde fui muito bem recebida por Roberto, Noemi, Beatriz, Lidiana e Chiara, onde aprendi em 40 dias muito mais do que podia imaginar. Foi uma das melhores experiências que pude viver em termos pessoais e profissionais.

Aos professores Dr. Severino Matias de Alencar, Esalq e Dra. Carmen Sílvia Fávero Trindade da FZEA e sua aluna Dannaya por terem cedido o extrato de própolis vermelha para a realização dos experimentos.

Aos meus amigos do IFTM, Flávio, Naiane e Márcia que despertaram em mim a vontade de fazer o doutorado e me ajudaram a acreditar que seria possível.

A minha grande amiga Mara Carla Amorim que a todo instante durante esses cinco anos e meio foi uma bela ouvinte quando eu precisava, e uma grande interlocutora me dizendo tudo que precisava escutar nos momentos certos.

Aos amigos do Laboratório de Qualidade e Estabilidade de Carnes e Produtos cárneos (LaQuECa): Heloisa, Letícia Aline, Heidy, Tereza e Danielle. Ao meu amigo Francisco Allan que sempre me acalentou com uma conversa amiga e cuidadosa.

Aos colegas de pós-graduação: Emelda, Larissa, Fernanda, Eduardo, Giovana, Marluci.

Aos colaboradores desta FZEA: Marcelo Thomazini, Camila Molina, Fábio Gallo, Carla, Alan Borim, Marina, Fabiana, Artur e Nilson Ferreira pelo apoio.

Aos estagiários com quem tive a oportunidade de dividir os experimentos no FZEA: Gustavo, Kely, Letícia, Ingra e Camila.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e financiamento do CNPQ (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - número 431558/2016-7).

RESUMO

GOTARDO, L.R.M. **Estratégias para avaliação da qualidade de carne ovina e estudo da estabilidade de seus derivados**. 2023. 100f. Tese de Doutorado – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, Pirassununga/SP, Brasil, 2023.

Com o consumo mais consciente e exigente por produtos de qualidade, o consumidor busca cada vez mais inserir em sua alimentação produtos selecionados que agradam ao paladar e trazem benefícios potenciais à saúde. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial antioxidante do extrato de própolis vermelha em hambúrgueres e linguças frescas de carne de cordeiro, além de investigar a maciez dos cortes coxão duro (*músculo gluteobiceps*), patinho (*músculo quadriceps femoral*) e lagarto (*músculo semitendinoso*), utilizando diferentes técnicas de avaliação deste atributo. Na busca por formulações mais saudáveis aplicadas em derivados de carne ovina, os efeitos antioxidantes do extrato de própolis vermelha foram avaliados em hambúrgueres de cordeiro armazenados por 120 dias a -18°C (Capítulo 1), sendo avaliados a cada 30 dias. Na textura percebeu-se que o extrato favoreceu a maciez dos hambúrgueres, além de retardar a oxidação de lipídios durante o tempo de armazenamento e reduzir a presença de compostos voláteis no produto final. Foi investigada, também, a estabilidade oxidativa e microbiológica durante o armazenamento refrigerado a 2°C por 21 dias, em linguças frescas de carne de cordeiro (Capítulo 2). Além disso, houve a redução no teor de nitrito de sódio em algumas formulações. Os tratamentos com própolis e nitrito reduzido (EN150 e P1N75) apresentaram intensidade da cor vermelha (a^*) similar ao tratamento com eritorbato e mesmo teor de nitrito (EN75) ao final do armazenamento, mantendo a coloração avermelhada característica das linguças. O extrato retardou a oxidação de lipídios durante o tempo de armazenamento, principalmente o P2N75, que apresentou o menor nível de TBARS (0,39 mg MDA/kg) e índice de peróxido (2,13 mEq g de O₂) no dia 21. As contagens de microrganismos psicotróficos demonstraram que o comportamento do extrato não teve o efeito antimicrobiano esperado, nivelando os resultados encontrados sem diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos. O extrato de própolis vermelha mostrou-se uma opção saudável e com boas perspectivas para substituição dos antioxidantes sintéticos por produtos naturais em hambúrgueres e linguças de cordeiro. Investigou-se, também, a maciez da carne de cordeiro em três cortes (Capítulo 3), sendo que eles foram submetidos a cinco tratamentos diferentes, com desossas a quente e a frio e posterior maturação. As análises realizadas foram: composição centesimal, cor objetiva, força de cisalhamento (FC), índice de fragmentação Miofibrilar (IFM), comprimento de sarcômero (CS) e a Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Os resultados obtidos mostraram que cada corte tem uma resposta diferente para cada tratamento no quesito maciez, porém, os tratamentos que deram melhores resultados de forma geral foram nos tratamentos onde houve maturação de sete e quatorze dias.

Palavras-chave: estabilidade, hambúrguer, linguça, saudabilidade, maciez, patinho, coxão duro e lagarto.

ABSTRACT

GOTARDO, L.R.M. **Strategies for evaluating the quality of sheep meat and investigating the stability of its derivatives. 2023. 100 f. Doctoral Thesis – School of Animal Science and Food Engineering at the University of São Paulo, Pirassununga/SP, Brasil, 2023.**

With the more conscious and demanding consumption of quality products, consumers are increasingly seeking to include in their diet selected products that please the palate and bring potential health benefits. Thus, the present study aimed to evaluate the antioxidant potential of red propolis extract in hamburgers and fresh lamb sausages, in addition to investigating the tenderness of the cuts coxão duro (gluteobiceps muscle), patinho (quadriceps femoris muscle) and lagarto (semitendinosus muscle), using different techniques to evaluate this attribute. In the search for healthier formulations applied in sheep meat derivatives, the antioxidant effects of red propolis extract were evaluated in lamb burgers stored for 120 days at -18°C (Chapter 1), being evaluated every 30 days. In the texture, it was noticed that the extract favored the softness of the hamburgers, in addition to delaying the oxidation of lipids during the storage time and reducing the presence of volatile compounds in the final product. Oxidative and microbiological stability during refrigerated storage at 2°C for 21 days was also investigated in fresh lamb sausages (Chapter 2). In addition, there was a reduction in the sodium nitrite content in some formulations. The treatments with propolis and reduced nitrite (EN150 and P1N75) showed similar red color intensity (a^*) to the treatment with erythorbate and the same nitrite content (EN75) at the end of storage, maintaining the characteristic reddish color of the sausages. The extract delayed lipid oxidation during storage time, especially P2N75, which showed the lowest level of TBARS (0.39 mg MDA/kg) and peroxide index (2.13 mEq g O₂) on day 21. The counts of psychrotrophic microorganisms showed that the behavior of the extract did not have the expected antimicrobial effect, leveling the results found without differences ($P < 0.05$) between treatments. The red propolis extract proved to be a healthy option with good prospects for replacing synthetic antioxidants with natural products in lamb burgers and sausages. We also investigated the tenderness of lamb meat in three cuts (Chapter 3), which were subjected to five different treatments, with hot and cold deboning and subsequent maturation. The analyses performed were: centesimal composition, objective color, Warner-Bratzler shear force (FC), Myofibrillar fragmentation index (MFI), sarcomere length (SC) and Nuclear Magnetic Resonance (NMR). The results obtained showed that each cut has a different response to each treatment in terms of tenderness, however, the treatments that gave better results in general were in the treatments where there was maturation of seven and fourteen days.

Keywords: stability, hamburger, sausage, healthiness, tenderness, duckling, drumstick and lizard.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	13
2. OBJETIVOS	14
3. REVISÃO DE BIBLIOGRÁFICA	15
3.1. Carne Ovina	15
3.2. Qualidade da Carne.....	15
3.2.1. Textura	15
3.3. ¹ H RMN espectrometria	16
3.4. Processamento como forma de ampliar o consumo.....	17
3.5. Hambúrguer	17
3.6. Linguiça frescal.....	18
3.7. Própolis Vermelha.....	18
3.8. Antioxidantes sintéticos e naturais.....	19
4. CAPÍTULO 1 - EFEITOS DO EXTRATO DE PRÓPOLIS VERMELHA COMO ANTIOXIDANTE NATURAL EM HAMBÚRGUERES DE CORDEIRO CONGELADOS.....	23
4.1. INTRODUÇÃO	27
4.2. MATERIAL E MÉTODOS	28
4.2.1. Extrato de Própolis Vermelha	28
4.2.2. Determinação da Capacidade Antiox. do extrato de própolis vermelha.....	28
4.2.3. Formulação e processamento dos hambúrgueres	29
4.2.4. Avaliação físico-química de hambúrgueres	30
4.2.5. Oxidação lipídica (TBARS).....	31
4.2.6. Perfil de Ácidos Graxos Livres.....	31
4.2.7. Compostos Voláteis.....	32
4.2.8. Determinação de índice de Peróxido.....	32
4.2.9. Análise Sensorial	32

4.2.10. Análises estatísticas.....	33
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.3.1. Teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante da Própolis Vermelha ...	33
4.3.2. Composição Química e Textura dos hambúrgueres de cordeiro	34
4.3.3. Parâmetros de pH e cor dos hambúrgueres de cordeiro.....	35
4.3.4. Oxidação lipídica	38
4.3.5. Ácidos Graxos Livres	41
4.3.6. Compostos Voláteis	43
4.3.7. Análise Sensorial.....	44
4.4. CONCLUSÃO.....	45
5. ESTUDO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA E MICROBIOLÓGICA DE LINGUIÇAS DE CORDEIRO COM ADIÇÃO DE EXTRATO DE PRÓPOLIS VERMELHA E REDUÇÃO DO TEOR DE NITRITO, EMBALADAS À VÁCUO REFRIGERADAS	51
5.1. INTRODUÇÃO	52
5.2. MATERIAL E MÉTODOS	54
5.2.1. Extrato de Própolis Vermelha	54
5.2.2. Determinação da Capacidade Antiox. do extrato de própolis vermelha.....	55
5.2.3. Formulação e processamento das linguiças.....	56
5.2.4. Avaliação físico-química das linguiças frescas.....	57
5.2.5. Oxidação lipídica (TBARS)	58
5.2.6. Ácidos Graxos Livres	58
5.2.7. Determinação de Índice de Peróxido	58
5.2.8. Nitrito Residual.....	58
5.2.9. Microbiologia	59
5.2.10. Análise Sensorial.....	59
5.2.11. Análises estatísticas	60
5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	60

5.3.1. Teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante da Própolis Vermelha ...	60
5.3.2. Composição centesimal das linguças frescas de cordeiro	61
5.3.3. Parâmetros de pH e cor das linguças de cordeiro	61
5.3.4. Oxidação Lípidica (TBARS).....	64
5.3.5. Determinação de índice de Peróxido.....	65
5.3.6. Textura	66
5.3.7. Nitrito Residual.....	68
5.3.8. Ácidos Graxos Livres	69
5.3.9. Microbiologia	71
5.3.10. Análise Sensorial.....	73
5.4. CONCLUSÃO.....	74
6. DIFERENTES PROCESSOS DE DESOSSA E MATURAÇÃO E SUA INFLUÊNCIA NOS PARÂMETROS DE QUALIDADE DE CORTES DE CARNE DE CORDEIRO.....	81
6.1. INTRODUÇÃO	84
6.2. MATERIAL E MÉTODOS	85
6.2.1. Preparação das amostras	85
6.3. Análises físico-químicas e bioquímicas	86
6.3.1. Composição Centesimal	86
6.3.2. Perda de peso por Cocção	86
6.3.3. Força de cisalhamento (FC).....	86
6.3.4. Comprimento de sarcômero	87
6.3.5. Índice de fragmentação Miofibrilar.....	87
6.3.6. Ressonância Magnética Nuclear por espectrometria (¹ H RMN).....	87
6.3.7. Análises estatísticas.....	88
6.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	88
6.5. Análises físico-químicas e bioquímicas	88
6.5.1. Composição Centesimal	88

6.5.2. Perda por cocção (PPC), Força de cisalhamento (FC), Comprimento de Sarcômero (CS), Índice de Fragmentação Miofibrilar (IFM).....	89
6.6. Identificação e quantificação de espectros de RMN.....	91
6.6.1. Coxão Duro (<i>músculo gluteobiceps</i>)	91
6.6.2. Lagarto (<i>músculo semitendinoso</i>)	93
6.6.3. Patinho (<i>músculo quadriceps femoral</i>)	94
6.7. CONCLUSÃO.....	96
7. CONCLUSÕES GERAIS	100

1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é o maior produtor de carne ovina na América do Sul, mas seu rebanho representa apenas 1,5% do efetivo de rebanho mundial (Brasil, 2020). Apesar de ter uma produção expressiva, o consumo é restrito em algumas regiões, como a Sudeste, quando comparado aos outros tipos de carne (bovina, suína, aves), por isso, há grandes perspectivas de comercialização nesta região (Vieira et al., 2010). Para tanto, entender, estudar e investigar todos os fatores que interferem na qualidade do produto final é de extrema importância para o desenvolvimento da cadeia da ovinocultura, pois, atributos como, coloração, suculência, maciez, são decisivas para aceitação do consumidor final da carne desta espécie animal.

Além dos estudos direcionados para a qualidade da carne “in natura”, há linhas de pesquisas para o desenvolvimento, melhoria e ampliação da oferta de derivados cárneos tendo como base a carne de cordeiro. Dessa forma, entender as melhores etapas de processamento, escolha dos ingredientes, forma de armazenamento, estabilidade deste produto durante sua vida de prateleira faz com que a oferta de melhores produtos ao consumidor aconteça. Até porque, as exigências por produtos mais saudáveis com rótulos limpos é a direção que o mercado vem dando para as indústrias de alimentos e áreas de desenvolvimento de novos produtos.

Dessa forma, a busca por alternativas, na elaboração de derivados cárneos, para a substituição de aditivos químicos por produtos naturais, como antioxidantes é uma constante nas pesquisas, com o objetivo de inibir as reações oxidativas e assim estender a vida útil. Essa substituição ocorre, pois, é sabido que há a possibilidade de efeitos tóxicos da elevada ingestão destes compostos, possível desenvolvimento de câncer, entre outras enfermidades, sendo necessário o controle e a atenção na aplicação e no consumo destes aditivos. Em virtude disso, antioxidantes naturais, com compostos fenólicos, têm sido relevantes nos trabalhos de pesquisas e aplicação já em algumas indústrias.

Em estudos realizados por Alencar et al. (2007) foram identificados vários compostos químicos que compõem a própolis vermelha, sendo a maioria de compostos fenólicos pertencentes a classe das isoflavonóide. Devido a estas substâncias químicas e seus compostos isolados (principalmente isoflavonas) uma abrangente ação é o que

se obtém com o uso da própolis vermelha como agentes antimicrobiano, antiinflamatórios e antioxidante (Freires et al., 2016).

A própolis pode ser usada como antioxidante, principalmente em carnes e peixes durante o armazenamento. Além disso, contribui para as propriedades físicas e químicas de alimentos, mantendo sua qualidade durante o armazenamento (Pobiega et al., 2019).

Assim o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial antioxidante do extrato de própolis vermelha em hambúrguer e linguças frescas de carne de cordeiro, além de investigar a maciez de cortes de segunda de carne ovina utilizando diferentes técnicas de avaliação deste atributo.

2. OBJETIVOS

Objetivo Geral

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito antioxidante do extrato de própolis vermelha em hambúrguer de cordeiro e linguças frescas. Além, de avaliar qualidade de três corte de cordeiro, sendo eles: coxão duro, patinho e lagarto, com ferramentas primárias e secundárias de maciez.

Objetivos Específicos

- Avaliar os efeitos do Extrato de Própolis Vermelha como antioxidante natural em hambúrgueres de cordeiro congelados por 120 dias.
- Estudar a estabilidade lipídica e microbiológica de linguça de cordeiro com adição própolis vermelha e redução do teor de nitrito embaladas à vácuo e armazenadas a 2°C por 21 dias.
- Investigar como diferentes processos de desossa, resfriamento e maturação influenciam em alguns parâmetros de qualidade de cortes de carne de cordeiro, além de buscar relacionar metabólitos característicos de maciez através da espectroscopia RMM.

3. REVISÃO DE BIBLIOGRÁFICA

3.1. Carne Ovina

Dentre os maiores produtores de carne ovina na América do Sul, o Brasil está em primeiro lugar, porém, o rebanho brasileiro representa apenas 1,5% do efetivo de rebanho mundial. A criação destes animais está concentrada nas regiões Nordeste e Sul, mas há pequenas criações espalhadas por todo território brasileiro (Embrapa, 2019). Quando se fala em consumo pelos brasileiros deste tipo de carne em relação a outras carnes (bovina, suína, aves), é menor ao se comparar o consumo, principalmente em grandes centros urbanos, como a região Sudeste, onde se observa um aumento no consumo desta carne, além, de grandes perspectivas de comercialização (Vieira et al., 2010).

Vale lembrar que diversos fatores interferem na qualidade do produto final que irá chegar até o consumidor, como: a raça do animal, o manejo no campo, manejo pré-abate e pós-abate, processos de conservação da carne pelo frio ou calor, embalagem, dentre outros.

Define-se carne como o produto resultante das contínuas transformações que ocorrem no músculo após a morte do animal. É um alimento utilizado por sua elevada qualidade nutricional e sua função plástica, atuante na formação de novos tecidos, na participação como regulador de processos fisiológicos e orgânicos, e o mais importante no fornecimento de energia (Pinheiro et al., 2009).

Dessa forma, destaca-se a importância dos processos *post mortem* na transformação do músculo em carne de forma adequada, pois, só assim haverá a garantia da qualidade das fibras musculares que são determinantes para a maciez e posterior aceitação da carne de ovino. Portanto, o controle efetivo dos fatores de estresse pré-abate e a escolha “ideal” das etapas pós abate podem influenciar nas características da carne, como, coloração, suculência, maciez (Severo, 2011).

3.2. Qualidade da Carne

3.2.1. Textura

Rigor mortis

Ao se falar em *rigor mortis*, lembra-se da unidade básica de contração do músculo que é o sarcômero, que sofre encurtamento durante este processo. O sarcômero é formado por filamentos de proteínas finos (actina) e grossos (miosina) e também por outras proteínas filamentosas, filamentos intermediários, além de proteínas associadas que são delimitados pelo disco Z. Dessa

forma, a distância entre dois discos, chamados de Z adjacentes é o que se denomina de comprimento de sarcômero e um conjunto de sarcômeros em sequência, é a miofibrila dentro das células musculares, responsáveis pela contração (Bailey, 2006).

A contração muscular é, portanto, encurtamento do sarcômero, que ocorre quando Ca^{2+} se liga à troponina, deixando o sítio ativo da actina exposto para a miosina que se ligue, formando o complexo actomiosina, quebrando ATP e liberando energia. Na sequência, outra molécula de ATP se liga à miosina e o complexo actomiosina se desfaz (Junqueira e Carneiro, 2013). Assim, quando o animal é abatido há a depleção do ATP e não ocorre o desligamento do complexo actomiosina, causando o chamado *rigor mortis*, que nada mais é que o enrijecimento do músculo (Lawrie, 2005) e isto pode causar alterações na maciez da carne (Koohmaraie et al., 1989).

Há uma alta correlação do comprimento de sarcômero com a força de cisalhamento (Wheller e Koohmaraie, 1994) e esta medida está fortemente ligada à avaliação da maciez da carne fresca, portanto, as condições pós-abate devem ser consideradas, principalmente o seu encurtamento pelo frio ou pelo calor. Dessa forma, em relação ao *cold shortening*, este é um fenômeno que ocorre quando a carcaça quente se encontra em situação de pré-rigor e tem a sua temperatura reduzida bruscamente entre 0 a 15°C, propiciando um encurtamento excessivo pelo frio (Honikel, 2014). É comum acontecer em carcaças de ovino, pois, são jovens, pequenos e com baixa cobertura de gordura facilitando a rápida transferência de calor (Monin e Santé, 2014).

Proteólise e maturação

A maturação é o processo de amaciamento da carne que ocorre por ação de enzimas musculares endógenas (Devine, 2004), como as calpaínas, que estão ainda presentes no músculo vivo e que assumem outra função na carne *post mortem* (Andrighetto et al., 2006). Elas são enzimas, responsáveis pela degradação proteolítica de proteínas miofibrilares específicas dentro da estrutura do músculo e são reduzidas a aminoácidos e polipeptídeos (Geesink et al., 2006) que foram gerados a partir da proteólise sucessiva são caracterizados como melhoradores do sabor de carnes maturadas (Nishimura et al., 1988).

Através da estocagem da carne sob refrigeração, a maturação é realizada, e é neste período que ocorre o desenvolvimento do sabor característico desejado para o amaciamento (Warren e Kastner, 1992). Portanto, a maciez da carne aumenta com o passar do tempo de maturação, assim, o tempo e a temperatura são dois fatores muito importantes de serem controlados, necessários para obter um produto mais macio (Mottram, 1998).

3.3. Ressonância Magnética Nuclear por espectrometria (¹ H RMN)

A Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é um método de detecção não destrutivo simples, rápido, ao mesmo tempo em que fornece medições precisas e alta repetibilidade (Chen et al., 2017). Este método aliado à metabolômica pode fornecer dados metabólicos quantitativos que podem ser facilmente comparados com dados da literatura sobre o valor nutricional da carne. Além disso, uma série de aplicações de RMN e a metabolômica tem sido aplicada na área de qualidade de carne, como exemplo: entendimento das alterações de metabólitos presentes durante o processamento da carne (Huang et al., 2020), correlações entre metabólitos e atributos sensoriais (Antonelo et al., 2020), alterações moleculares durante o envelhecimento da carne (Consôlo et al., 2021); correlações entre metabólitos e etapas de processamento de bacon sem nitrito (Haung et al., 2020) e alterações de metabólitos presentes em presunto revestido de filme de pimenta (Bi et al., 2019). O grande desafio hoje é a interpretação dos dados metabolômicos, pois, um determinado metabólito encontrado pode ter diferentes vias bioquímicas e metabólicas envolvidas nos processos.

3.4. Processamento como forma de ampliar o consumo

Atualmente, o desenvolvimento de novos produtos processados tem como função fornecer ao consumidor opções de consumo com sabor variados e adequados às suas preferências, fazendo com que a indústria de produtos cárneos aproveite esse nicho de mercado e agregue valor tanto a cortes nobres quanto aos considerados de carne de segunda, (Yamamoto et al., 2004), ou ainda derivados cárneos.

Os processos envolvidos no processamento da carne abrangem transformações físicas, químicas ou biológicas, ou ainda as suas combinações como o resfriamento/congelamento, tratamento térmico, uso de sais de cura, fermentação e defumação. Estes processos têm como principais objetivos aumentar a vida-útil da carne, desenvolver ou acentuar características sensoriais e ainda utilizar cortes de baixo consumo quando frescos (Terra, 1998).

3.5. Hambúrguer

O hambúrguer tem por definição, o produto cárneo industrializado obtido da carne moída dos animais de açougue, adicionado ou não de tecido adiposo e ingredientes, moldado na forma de disco ou na forma oval, e submetido a processo tecnológico adequado (BRASIL, 2022). É um produto que possui um alto consumo pela população, afirmado pela praticidade e promoção de saciedade, podendo ainda ter uma gama de possibilidades de formulações que se adequam à matéria-prima principal. O valor nutricional e a praticidade do hambúrguer combinam com o

modo de vida dos que vivem nos centros urbanos, o que o torna um alimento representativamente popular (Arisseto, 2003).

3.6. Linguiça Frescal

Linguíça é o produto cárneo industrializado, obtido de carnes de animais de açougue adicionados ou não de tecidos adiposos, ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial, e submetidos ao processo tecnológico adequado (Brasil, 2000). Na fabricação de linguíça, as carnes e o toucinho são moídos, normalmente, em disco de 8 mm e transportados até a misturadeira, onde receberão as demais matérias-primas e ingredientes. Concluída a mistura, a massa é embutida em tripa suína, bovina ou ovina, atada em gomos com o tamanho característico (Terra, 1998).

3.7. Própolis Vermelha

Coletada por abelhas de espécie *Apis mellifera*, a própolis é um produto de origem animal, que apresenta substâncias obtidas de uma grande variedade de vegetais e sua composição química é variada, podendo encontrar compostos distintos em cada tipo de própolis (Ghisalberti, 1979; Quiroga et al. 2006). Dessa forma, a caracterização dessa própolis é importante, pois, além de identificar as substâncias presente, ajuda a entender suas propriedades terapêuticas (Lopez et al., 2015). A diversificação da composição da própolis se dá por causa da heterogeneidade de espécies de flores e condições climáticas, o que a torna distinta de uma região para outra (Martinotti e Ranzato, 2015).

Os compostos com maior prevalência encontrados na própolis vermelha são os fenólicos. Os flavonoides se destacam, neste grupo, por serem substâncias ativas encontradas na resina, que podem auxiliar na fisiologia humana (Almeida et al., 2019), atuando no controle do envelhecimento, interagindo com os radicais livres e expressando atividade antioxidante (Berretta et al., 2017).

Diferentes formas de apresentação e comercialização, da própolis vermelha, podem ser encontradas como: extrato em pó ou líquido ou em comprimidos, cápsulas, xaropes, vaporizadores ou cremes. Isso facilita sua exploração no segmento industrial e comercialização no mercado interno, externo, além de sua valorização quando utilizada em produtos das indústrias farmacêuticas e cosméticas (Berretta et al., 2017; Nascimento et al., 2019).

Entretanto, nas últimas décadas, vem crescendo seu uso no setor alimentício e farmacêutico (Righi et al., 2011) e isso pode estar associado às suas funções como agente antifúngico, antibacteriano e apresentar atividades antioxidante (Almeida et al., 2019) e anticarcinogênica (Mendonça et al., 2015). Dessa forma, a própolis vermelha, que possui substâncias bioativas naturais pode, então, agregar valor nutricional na elaboração de novos produtos e fazer parte da dieta humana, por ter melhorar a eficiência do organismo e prevenir o desenvolvimento de algumas doenças (Kieliszek et al., 2018).

3.8. Antioxidantes sintéticos e naturais

Com o objetivo de prevenir a oxidação há a necessidade de se controlar fator externos como: contato com o oxigênio, exposição a luz, temperatura alta e metais, para evitar a formação de radicais livres (Ribeiro e Jorge, 2017). O estresse oxidativo pode ser causado por espécies ativas de oxigênio causando o envelhecimento celular promovendo doenças degenerativas, como o câncer (Noguchi e Niki, 2000), doenças cardiovasculares e doenças neurodegenerativas (como Alzheimer e Parkinson) (Kim et al., 2015). Dessa forma, a utilização dos compostos antioxidantes ocorre com o intuito de combater a formação desses radicais, reduzir hidroperóxidos e peróxido de hidrogênio, no intuito de diminuir o dano celular (Noguchi e Niki, 2000). Para o controle da produção dos radicais livres, os antioxidantes primários reagem com os radicais, cedendo um próton a um radical livre, culminando na formação de estruturas mais estáveis.

Os antioxidantes secundários, também chamados de preventivos, reduzem a etapa de iniciação da cadeia (Gordon, 1990). Ou seja, eles podem, de fato, regenerar outros antioxidantes doando um átomo de H, por isso estão incluídos no grupo de antioxidantes secundários (mistura de vitaminas C e E). Alguns compostos possuem potencial antioxidante baixo, mas podem aumentar o potencial antioxidante de antioxidantes primários, como no caso do ácido cítrico. Por fim, antioxidantes capazes de sequestrar o oxigênio (O_2), reduzindo a formação do radical peróxil na etapa de propagação, são considerados antioxidantes secundários (Nanditha e Pabhasankar, 2008).

Os antioxidantes sintéticos que podem ser encontrados nos alimentos industrializados, e também, em derivados cárneos, são os butil-hidroxianisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT) e Eritorbato de Sódio. Estes apresentam estruturas fenólicas que cedem um próton para o radical livre, interrompendo a reação de oxidação ou adiando a oxidação lipídica (Ramalho e Jorge, 2006). Em contrapartida, a busca pela substituição de antioxidantes sintéticos por naturais é crescente pelo fato de estarem amplamente distribuídos na natureza, além de estarem associados aos efeitos benéficos à saúde. Os benefícios são o potencial anticarcinogênico, antimutagênico,

antiinflamatório, redução dos níveis de LDL- colesterol, proteção contra doenças cardiovasculares e postergam o envelhecimento da pele. Embora os limites de consumo para os antioxidantes naturais sejam desconhecidos, estes compostos podem ser considerados mais seguros do que os antioxidantes sintéticos (Sarmadi e Ismail, 2010). Dessa forma, o uso da própolis vermelha na indústria de alimentos, como antioxidante natural, é uma alternativa segundo Nascimento et al. (2019) que afirmam que todas as amostras avaliadas de própolis vermelha apresentaram propriedade antioxidante.

REFERÊNCIAS

Alencar S.M., Oldoni T.L.C., Castro M.L., Cabral I.S.R., Costa-Neto C.M., Cury J.A., Rosalen P.L., Kegaki M. I. Chemical Composition and Biological activity of a new type of Brazilian própolis: red própolis. **Jornal of ethnopharmacology**, v 113:278-283, 2007.

Almeida W. A. D. S., Antunes A. S., Penido R. G., Correa H. S. G., Nascimento A. M., Andrade A. L., Santos V. R., Cazati T., Amparo T. R., Souza G. H. B., Freitas K. M., Santos O. D. H., Sousa L. R. D., Santos V. M. R. Photoprotective activity and increase of SPF in sunscreen formulation using lyophilized red propolis extracts from Alagoas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, n. 3, p. 373–380, 1 maio 2019.

Andrighetto C., Jorge A.M., Roça R.O., Sartori D.R. Maturação da carne bovina. **Revista Electrónica de Veterinária REDVET**, v.7, p.1-6 2006.

Antonelo D. S., Cònsolo N. R. B., Gómez J. F. M., Beline M., Goulart R. S., Corte R.R.P.S., Colnago L. A., Schilling M. W., Gerrard D. E., Silva S. L. Metabolite profile and consumer sensory acceptability of meat from lean Nellore and Angus × Nellore crossbreed cattle fed soybean oil. **Food Research International** 132, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109056>.

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

Bailey J.G. Regulação da temperatura e o ambiente térmico. In: REECE, W. (Ed.). **Dukes, fisiologia dos animais domésticos**. Tradução de C. Figueiredo e I.R. Vanzelloti. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. cap. 49, p. 811-830, 2006.

Berretta A. A., Arruda C., Miguel F. G., Baptista N., Nascimento A. P., Marquele-Oliveira F., Hori J. I., Barud H. S., Damaso B., Ramos C., Ferreira R., Bastos J. K. Functional Properties of Brazilian Propolis: From Chemical Composition Until the Market. In: **Superfood and Functional Food - An Overview of Their Processing and Utilization**. [s.l.] InTech, 2017.

Brasil. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretária de Defesa Agropecuária (SDA). **Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000**. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Linguiça e de Salsicha, 2000.

Brasil. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretária de Defesa Agropecuária (SDA). **Portaria SDA nº 724, de 23 de dezembro de 2022**. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Hambúrguer, 2022.

Bi Y., Wang Y., Zhou G., Pan D., Liu J., Zhang Y., Ca J. The Effect of Coating Incorporated with Black Pepper Essential Oil on the Taste Quality of Jinhua Ham After Storage for Four Months. (2019). Vol. 84, Issue. 11. **Journal of Food Science**. 3109. doi: 10.1111/1750-3841.14795

Chen D., Ye Y., Chen J., Zhan P., Lou Y. Molecular nutritional characteristics of vinasse pike eel (*Muraenesox cinereus*) during pickling. **Food Chemistry**, 224, 359–364, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.12.089>

Consolo N.R.B., Silva J., Buarque V.L.M., Samuelsson L.M., Miller P., Maclean P.H., Moraes T.B., Barbosa L.C.G.S., Higuera-Padilla A., Colnago L.A., Saran Netto A., Gerrard D.E., Silva, S.L. Using TD NMR relaxometry and 1D ¹H NMR spectroscopy to evaluate aging of Nellore beef. **Meat Science**. 181, 2021.

Devine C. E. Conversion of muscle to meat: Ageing. in Jensen, W., Devine, C.; Dikeman, M. eds. **Encyclopedia of meat sciences**. Elsevier Academic Press, Oxford, UK. p. 330– 338, 2004.

Embrapa. Atualização das demandas de pesquisa em ovinos de corte no Brasil Central. 2019. Disponível em: [CNPC-2019-Boletim-CI-n8.pdf \(embrapa.br\)](#) . Acesso em 18 de Maio de 2023.

Freires I.A., Alencar S. M., Rosalen P. L. A pharmacological perspective on the use of Brazilian Red Propolis and its isolated compounds against human diseases. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v.110, p.267- 279, 2016.

Geesink G.H., Kuchay S., Chishti A.H., Koohmaraie M. μ -Calpain is essential for *postmortem* proteolysis of muscle proteins. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, n. 10, p. 2834-2840, 2006.

- Ghisalberti, E. L. Propolis: A Review. **Bee World**, v. 60, n. 2, p. 59–84, jan. 1979
- Gordon, M. H. The Mechanism of Antioxidant Action in Vitro. In: **Food Antioxidants**. [s.l.] Springer Netherlands, p. 1–18, 1990.
- Honikel, K.O. Chemical and physical characteristics of meat: pH measurement. **Encyclopedia of Meat Sciences**, Oxford, v. 1, p. 262-266, 2014.
- Huang L., Xiaoqun Zeng , Yangfang Ye , Lu Cheng, Daodong Pan , Jun He , and Yali Dang. NMR-based metabolomics profiling of no-added-nitrite Chinese bacon (unsmoked) during processing. **Journal of Food Science**. Vol. 85, Iss. 4, 2020.
- Junqueira, C.L.; Carneiro, J. **Histologia básica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 538 p., 2013.
- Kielszek M., Piwowarek K., Kot A. M., Błażej S., Chlebowska-Śmigiel A., Wolska I. **Pollen and bee bread as new health-oriented products: A review** **Trends in Food Science and Technology**. Elsevier Ltd, , 1 jan. 2018.
- Kim G. H. J. E. Kim, Rhie S. J., Yoon S. **The Role of Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases** **Experimental Neurobiology**, Korean Society for Neurodegenerative Disease, 2015. Disponível em: </pmc/articles/PMC4688332/>. Acesso em: 1 abr.
- Koohmaraie M., Shackelford S.D., Wheeler T.L. Effect of prerigor freezing and postrigor calcium chloride injection on the tenderness of callipyge longissimus. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, n. 5, p. 1427-1432, 1998.
- Lawrie, R. A. **Ciência da carne**. 6. ed. São Paulo: Artmed. 2005.
- Lopez B. G.-C., Lourenço C.C., Alves D.A., Machado D., Lancellotti M., Sawaya A.C.H.F. Antimicrobial and cytotoxic activity of red propolis: an alert for its safe use. **Journal of Applied Microbiology**, v. 119, n. 3, p. 677–687, 1 set. 2015.
- Martinotti S., Ranzato, E. Propolis: a new frontier for wound healing? **Burns & Trauma**, v. 3, 1 dez. 2015.
- Mendonça I. C. G., Porto I.C.M., Nascimento T.G., Souza N. S., Oliveira J. M. S., Arruda R. E. S., Mousinho K.C., Santos A. F., Basílio-Júnior I. D., Parolia A., Barreto F. S. Brazilian red propolis: Phytochemical screening, antioxidant activity and effect against cancer cells. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v.15, n. 1, p. 357, 14 out, 2015.

- Monin G., Santé-Lhoutellier V. Conversion of muscle to meat: color and texture deviations. **Encyclopedia of Meat Sciences**, Oxford, v. 1, p. 339-345, 2014.
- Mottram, D. S. Flavour formation in meat and meat products: A review. **Food Chemistry**, v. 62, n. 41, p. 5-424, 1998.
- Nascimento T. G., Redondo G. D. P., Abreu C. T. A., Silva V. C., Lira G. M., Grillo L. A. M., Conceição M.M., Freitas J. D., Souza J. S., Júnior J. X. A, Basílio-Júnior I. D. Modified release microcapsules loaded with red propolis extract obtained by spray-dryer technique: Phytochemical, thermal and physicochemical characterizations. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 138, n. 5, p. 3559–3569, 2019.
- Nanditha B., Prabhasankar P. Antioxidants in bakery products: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Nova Iorque, v. 49, n. 1, p. 1- 27, 2008.
- Nishimura T., Rhue M. R., Okitani A., Kato H. Components Contributing to the Improvement of Meat Taste during Storage. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 52, p. 2323-2330, 1988.
- Noguchi N., Niki E. Phenolic antioxidants: A rationale for design and evaluation of novel antioxidant drug for atherosclerosis. **Free Radical Biology and medicine**. **Anais...Pergamon**, 15 maio, 2000.
- Pinheiro R. S. B., Jorge A. M., Mourão R. C., Polizel Neto A., Andrade E. N., Gomes H. F. B. Qualidade da carne de cordeiros confinados recebendo diferentes relações de 154 volumoso: concentrado na dieta. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.29, n.2, p.407-411, 2009.
- Pobiega, K., Kraśniewska, K., Gniewosz, M. Application of propolis in antimicrobial and antioxidative protection of food quality – A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 83, p. 53–62, 2019.
- Quiroga, E. N. , Sampietro D.A., Soberón, J.R., Sgariglia, M.A., Vattuone, M.A.. Propolis from the northwest of Argentina as a source of antifungal principles. **Journal of Applied Microbiology**, v. 101, n. 1, p. 103–110, 1 jul. 2006.
- Ramalho V. C., Jorge N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, [S.I.], v.29, n.4, p.755-760, 2006.
- Ribeiro E. F., Jorge N. Oxidative stability of soybean oil added to coffee husk extract (*Coffea arabica* L.) under accelerated storage conditions. **Food Science and Technology**, v.37, n. Special Issue, p. 5–10, 1 dez. 2017.
- Righi A. A., Alves T. R., 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, out. 2011.

Sarmadi B. H., Ismail A. Antioxidative peptides from food proteins: a review. **Peptides**, Nova Iorque, v. 31, n. 10, p. 1949-1956, 2010.

Severo, A. F. M. **Efeito de diferentes protocolos de arrefecimento e embalagem com distintas misturas de atmosfera protectora na vida útil de costeletas de borregode leite**. 2011. 85p. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação Integral em Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade Técnica de Lisboa.

Terra, N. N. **Apontamentos de Tecnologia de Carnes**. São Leopoldo: Ed. UNISINOS. Cap.3, 51-172 , 1998

Vieira T. R. L., Cunha M. G. G., Garruti D. S., Duarte T. D., Felex S. S. S., Filho J. M. P., Madruga M. S. Propriedades físicas e sensoriais da carne de cordeiros Santa Inês terminados em dietas com diferentes níveis de caroço de algodão integral (*Gossypium hirsutum*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.30, n.2, p.372-377, 2010.

Warren, K. E.; Kastner, C. L. A comparison of dry-aged and vacuum-aged beef strip loins. **Journal of Muscle Foods**, v. 3, n. 1, p. 151–157, 1992.

Wheeler, T.L.; Koohmaraie, M. Prerigor and postrigor changes in tenderness of ovine longissimus muscle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, n. 5, p.1232-1238, 1994.

Yamamoto, S. M., Macedo, F.A.F., Mexia, A. A., Zundt, M., Sakaguti, E. S., Rocha, G. B. L., Regaçoni, K. C. T., Macedo, R.M.G. Rendimentos dos cortes e não-componentes das carcaças de cordeiros terminados com dietas contendo diferentes fontes de óleo vegetal. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.6, p.1909- 1913, nov-dez, 2004.

**4. CAPÍTULO 1 - EFEITOS DO EXTRATO DE PRÓPOLIS VERMELHA
COMO ANTIOXIDANTE NATURAL EM HAMBÚRGUERES DE
CORDEIRO CONGELADOS**

Submetido Meat Science:

RESUMO

Os efeitos antioxidantes do extrato de própolis vermelha foram avaliados em hambúrgueres de cordeiro armazenados por 120 dias a -18°C . Os tratamentos preparados foram: CON (controle, sem antioxidante), ERI (500 mg/kg de eritorbato de sódio), P1800 (1800 mg/Kg de extrato de própolis) e P3600 (3600 mg/Kg de extrato de própolis). As análises feitas foram: composição (umidade, proteína, gordura e cinzas), textura, aceitação sensorial (dia 0); pH, cor (L^* , a^* , b^*), perda de peso por cocção (PPC), redução de diâmetro, TBARS, índice de peróxido, (0, 30, 60, 90 e 120 dias); perfil de ácidos graxos e compostos voláteis (0 e 18 dias). Nenhum tratamento teve alteração na composição centesimal. A textura nos tratamentos P1800 e P3600 apresentou diferença significativa ($P < 0,05$) podendo concluir que o extrato favorece a melhoria desse atributo sensorial deixando os hambúrgueres mais macios. Também nos tratamentos onde se tem o extrato, a PPC foi maior, porém, a redução do diâmetro dos hambúrgueres menor, aspecto importante para os consumidores. O extrato retardou a oxidação de lipídios durante o tempo de armazenamento, principalmente o P3600, que apresentou o menor nível de TBARS (1,37 mg MDA/kg) e índice de peróxido (5,69 mEq g de O_2) no dia 120. A presença de compostos voláteis derivados da oxidação lipídica foi mais evidente nos tratamentos CON e ERI, mostrando a eficiência dos antioxidantes utilizados nos tratamentos P1800 e P3600. Conclui-se que a própolis vermelha representa uma ótima alternativa na substituição de antioxidantes sintéticos por produtos naturais em hambúrguer de cordeiro, além de demonstrarem ótima aceitação pelos consumidores.

Palavras-chave: Rótulo limpo, produtos cárneos, oxidação lipídica, estabilidade.

ABSTRACT

The antioxidant effects of red propolis extract were evaluated on lamb burgers stored for 120 days at -18°C . The treatments prepared were: CON (control, no antioxidant), ERI (500 mg/kg of sodium erythorbate), P1800 (1800 mg/Kg of propolis extract) and P3600 (3600 mg/Kg of propolis extract). The following analyses were carried out: composition (moisture, protein, fat and ash), texture, sensory acceptance (day 0); pH, color (L^* , a^* , b^*), cooking weight loss (PPC), diameter reduction, TBARS, peroxide index, (0, 30, 60, 90 and 120 days); fatty acid profile and volatile compounds (0 and 18 days). None of the treatments had any change in centesimal

composition. The texture in the P1800 and P3600 treatments showed a significant difference ($P < 0.05$) and it can be concluded that the extract favors the improvement of this sensory attribute by making the burgers softer. Also in the treatments with the extract, the PPC was higher, but the reduction in burger diameter was lower, an important aspect for consumers. The extract slowed down lipid oxidation during storage, especially P3600, which showed the lowest level of TBARS (1.37 mg MDA/kg) and peroxide index (5.69 mEq g O₂) on day 120. The presence of volatile compounds derived from lipid oxidation was more evident in the CON and ERI treatments, showing the efficiency of the antioxidants used in the P1800 and P3600 treatments. It can be concluded that red propolis represents an excellent alternative for replacing synthetic antioxidants with natural products in lamb burgers, as well as showing excellent consumer acceptance.

Keywords: Clean label, meat products, lipid oxidation, stability.

4.1. INTRODUÇÃO

O consumo de alimentos mais saudáveis, com alguns ingredientes derivados de plantas ou extratos naturais com capacidades antioxidantes para a inibição de processo oxidativo é uma tendência mundial. A oxidação de produtos cárneos acontece devido à exposição da gordura e outros ingredientes ao oxigênio, e também por outros processos como moagem, fatiamento e cozimento (Lorenzo et al., 2018). Esses processos de oxidação contribuem para a redução da qualidade sensorial (sabor, cor e textura) e nutricional (Ribeiro et al., 2019), causando redução na vida de prateleira de produtos cárneos, afetando a aceitação do consumidor, já que se costuma associar a cor e frescor e qualidade da carne (Agregán et al., 2019). Com o objetivo de evitar ou retardar as reações de oxidação, antioxidantes sintéticos, como eritorbato de sódio, são usados no processo produtivo, porém, a demanda atual é por produtos naturais, mais saudáveis e com rótulos mais limpos, sem a adição de aditivos sintéticos (Barros et al., 2020; Bellucci et al., 2022; Carvalho et al., 2019; Farias Marques et al., 2022; Oliveira et al., 2022; Pateiro et al., 2018). Com o objetivo de produzir produtos cárneos com novos atributos de saúde (Bellucci et al., 2021; Galvão et al., 2014), vários estudos, nos últimos anos, têm sido feitos avaliando o uso de extratos como antioxidantes em carne ovina e produtos cárneos (Fernandes et al., 2017; Carvalho et al., 2019; Oliveira et al., 2022). O extrato de própolis vermelha do nordeste brasileiro possui um alto teor de flavonoides com poder antioxidante (Daugusch et al., 2007), que favorece à saúde humana, pois, atuam na mitigação de doenças patológicas crônicas, como câncer, diabetes e algumas doenças cardiovasculares (Abraham Domínguez- Avila et al., 2017). Nenhum estudo foi encontrado envolvendo as ações antioxidantes do extrato etanólico de própolis vermelha na

matriz cárnea, sendo esta a carne de cordeiro, nem mesmo em derivados cárneos como hambúrgueres e linguiça frescal. Assim o presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar diferentes concentrações do extrato de própolis vermelha comparadas ao antioxidante sintético eritorbato de sódio, e seus efeitos nas características físico-químicas, sensoriais, bem como estabilidade à oxidação lipídica de hambúrgueres de cordeiro armazenado por 120 dias a temperatura de -18°C .

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Extrato de Própolis Vermelha

A matéria-prima para a produção do extrato de própolis vermelha foi adquirida no Nordeste do Brasil. A própolis vermelha foi triturada em liquidificador (modelo RI 1710, Walita, Philips, Brasil), para obtenção de fragmentos menores e posterior utilização no preparado extrato. A metodologia de extração utilizada foi a proposta por Nori et al. (2011), com modificações. Dessa forma, a elaboração do extrato etanólico foi feita com a proporção de 30 g de própolis para 100 mL de etanol a 80%, em banho-maria a 50°C com agitação mecânica de 800 rpm por 30 minutos. Em seguida, as amostras passaram por centrifugação à temperatura de 25°C e 4500 g por 10 minutos, com o objetivo de subtrair sujidades sólidas e obter o extrato etanólico. Este foi finalizado após passar pelo rotaevaporador (TE-211, Tecnal, Piracicaba, Brasil), a temperatura de 45°C , concentrado até 40% do volume inicial. As etapas de extração foram realizadas evitando a exposição à luz.

4.2.2. Determinação da Capacidade Antioxidante do extrato de própolis vermelha

Determinação do conteúdo fenólico total

O conteúdo fenólico total foi determinado como descrito por Singleton et al. (1999) com algumas modificações. O padrão utilizado foi o ácido gálico e o teor de fenólicos totais foi determinado com o reagente Folin-Ciocalteu. Diluições apropriadas de extrato de própolis vermelha foram preparados com água (0,5 mL) e adicionado de 2,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu (diluído 1:10 com água) e 2 mL de solução de Na_2CO_3 (7,5%). A reação ocorreu em 50°C por 15 min, e a absorbância foi medida a 760 nm. O conteúdo fenólico total foi expresso em mg de equivalente de ácido gálico (GAE) / 100 g de amostra.

Poder antioxidante redutor férrico (FRAP)

Foi determinada a capacidade antioxidante em relação ao poder de redução de ferro de acordo com Benzie et al. (1996), com algumas modificações. Utilizou-se 90 uL do extrato etanólico de própolis vermelha adicionada de 270 uL de água ultrapura e 2,7 mL do reagente FRAP (TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) 10 mM + cloreto férrico 20 mM + tampão acetato 0,3 M). Fez-se a curva padrão com concentração de 0,40 a 5,0 mL de solução de sulfato ferroso 2 mM (Correção FeSO_4). Incubou-se a amostra a 37 °C em estufa por 30 minutos, protegida luz, e fez-se a leitura de absorvância a 595 nm e os resultados foram expressos em mmol de equivalente de FeSO_4 por 100 mg de amostra.

4.2.3. Formulação e processamento dos hambúrgueres

A elaboração dos hambúrgueres foi realizada nas dependências do Laboratório de Qualidade e Estabilidade de Carnes – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – Campus Pirassununga – USP (Universidade de São Paulo). Utilizou-se as mesmas matérias-primas cárneas e demais ingredientes para todos os tratamentos (exceto a adição, ou não, do antioxidante) e todo experimento foi feito em três repetições em dias distintos. Foi produzido um total de 300 hambúrgueres: cinco amostras de hambúrguer de cordeiro para cada tratamento x quatro tratamentos (CON, ERI, P1800 e P3600) cinco tempos de amostragem (0, 30, 60, 90 e 120 dias) x três repetições diferentes com diferença de um mês entre as repetições. Os tratamentos foram CON (controle, sem antioxidante), ERI (500 mg/kg de eritorbato de sódio), P1800 (1800 mg/Kg de extrato de própolis) e P3600 (3600 mg/Kg de extrato de própolis). Todas as formulações continham os ingredientes: carne de cordeiro moída com disco de 8 mm (75%), toucinho suíno moído no disco de 6 mm (20%), sal (2,0%), cebola (0,30%) alho (0,10%) e pimenta (0,10%) e os tratamentos ERI, P1800 e P3600, tiveram seus antioxidantes adicionados conforme descrito acima. Posteriormente, todos os ingredientes foram misturados, homogeneizados e enformados hambúrgueres de 100 g, com 11 cm de diâmetro e 1,0 cm de espessura. Foram embalados individualmente, identificados, congelados e armazenados a -18°C até o momento das análises. Os parâmetros analisados como: perda de água por cocção, redução de diâmetro, pH, cor, e estabilidade oxidativa aconteceram nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 dias de armazenamento. Os compostos voláteis, índice de peróxido e perfil de ácidos graxos livres foram avaliados nos dias 0 e 120, já a composição centesimal, textura (TPA) e análise sensorial foram realizadas no dia 0.

4.2.4. Avaliação físico-química de hambúrgueres

Composição centesimal

As metodologias oficiais da AOAC (2007) para determinar umidade (950.46), resíduo mineral fixo (920.153) e proteínas (928.08) foram utilizadas para determinar e calcular a composição proximal. O teor de lipídeos foi determinado pelo método de Bligh & Dyer (1959).

Parâmetros de pH e cor

Foi utilizado um medidor de pH de inserção (peagmetro Hanna HI 99163) para efetuar a leitura do pH das linguiças em triplicata. Antes, porém, o peagmetro foi calibrado com as soluções de pH 4 e 7. Para obter os valores de cor utilizou-se o colorímetro Hunter-Lab (Minolta, Japão) obtendo valores de L*, a* e b* determinados pelo ângulo de observação do iluminante D 65 em célula 10 e uma abertura de 30 mm. Foram realizadas leituras em quadruplicata.

Perda água por cocção (PPC) e redução do diâmetro

Para as perdas por cocção nos hambúrgueres utilizou-se a metodologia de Fontan et al. (2011). Pesou-se as amostras congeladas cruas anotando-se o peso inicial, em seguida em panela tipo chapa, fritou-se os hambúrgueres à temperatura de 180°C. A cada 2 minutos invertia-se os lados da amostra até completar 8 minutos conferindo a temperatura interna de 72°C. Fez-se triplicata (três hambúrgueres) para cada tratamento. A porcentagem de perdas foi calculada conforme equação abaixo:

$$\% \text{ Perda de peso por cocção} = \frac{(\text{Massa inicial} - \text{Massa final}) \times 100}{\text{Massa inicial}}$$

Utilizou-se a metodologia de Fontan et al. (2011) para a redução do diâmetro por encolhimento dos hambúrgueres que foi expressa em redução percentual, calculada pela equação:

$$\% \text{ encolhimento} = \frac{(\text{diâmetro da amostra crua} - \text{diâmetro da amostra cozida}) \times 100}{\text{diâmetro da amostra crua}}$$

Perfil de Textura (TPA)

Para determinar o perfil de textura das amostras adotou-se a metodologia de García et al. (2009). Após passar por cocção, cada hambúrguer foi cortado individualmente em 6 pedaços de 2x2x1 cm, descartando as laterais, totalizando 18 amostras de cada tratamento. Utilizou-se o Texturômetro TA.XT Plus (Texture Analyser, Stable Micro Systems, EUA) a 25°C, por testes de compressão axial com uma sonda cilíndrica de 35 mm de diâmetro movendo-se a velocidade constante de 2 mm/s, até uma deformação de 50%, determinando-se os valores de dureza (kg), elasticidade (mm), coesividade, gomosidade (kg x mm), mastigabilidade (kg) e resistência.

4.2.5. Oxidação lipídica (TBARS)

A evolução da estabilidade oxidativa das amostras foi acompanhada por meio do protocolo indicado por Vyncke (1970) com modificações. Ela consiste na reação entre produtos de oxidação com o ácido tiobarbitúrico para formar compostos que podem ser medidos em espectrofotômetro a 534 nm. Foi preparada uma solução com 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP), utilizada para a curva padrão, e os resultados foram expressos em mg Equivalente Malondialdeído (MDA)/kg de amostra.

4.2.6. Perfil de Ácidos Graxos Livres

O perfil de ácidos graxos livres dos hambúrgueres de cordeiro foi determinado nos dias 0 e 120 de estocagem a partir da fração lipídica extraída por meio da metodologia descrita por Bligh e Dyer (1959). As amostras foram pesadas, 0,5 g em um tubo Falcon de 50 mL com tampa que permaneceu congelado em Ultrafreezer (-70°C). Após, as amostras passaram pelas etapas de saponificação, neutralização, separação dos sais de ácidos graxos, esterificação. Por fim, foi feita a determinação de ácidos graxos livres que foram analisados por cromatografia gasosa-espectrométrica de massas (QP2010 Plus, Shimadzu, Tóquio, Japão) em aparelho equipado com Split/Splitless com injetor (AOC-500, Shimadzu, Tóquio, Japão) com um injetor automático (modelo AOC-500). Na fase estacionária uma coluna capilar (100m x 0,25mm di x 0,20 µm df, SP – 2560 Supelco, Bellefonte, EUA), utilizando o gás hélio de arraste, a uma vazão de 1,59 mL/min. A injeção das amostras aconteceu em um injetor com proporção de Split de 1:40 e temperatura de 250°C e pressão na coluna era de 300 Kpa de acordo com Vicentini- Polette et al. (2021).

4.2.7. Compostos Voláteis

A metodologia da análise cromatográfica foi realizada de acordo com Nosedá et al. (2012) com algumas alterações. As amostras foram pesadas aproximadamente $5,0 \pm 0,1$ gramas de hambúrguer de cordeiro e colocados em frascos de vidro para headspace (HS) de 20 mL. O auto-amostrador foi um SPME CTC PAL (Agilent Technologies, Diegem, Bélgica) adicionado de uma fibra revestida de $2 \text{ cm} \times 50/30 \text{ }\mu\text{m}$ de divinilbenzeno / carboxeno / polidimetilsiloxano; DVB/CAR/PDMS) (Supelco, Bellefonte, EUA). A fibra foi inserida através do septo para extração dos voláteis capturados por 30 min à $70 \pm 0,1^\circ\text{C}$ com agitação a 500 rpm. A dessorção ocorreu durante 10 min a 260°C no modo de injeção sem divisão (splitless). A separação cromatográfica ocorreu em uma coluna a 100% difenil polisiloxano Rxi-1MS (30 m x 0,25 mm i.d. x 0,25 μm d.f.; Restek, Bellefonte, Estados Unidos), e o gás Hélio como gás de arraste. Utilizando um espectrômetro de massa (EM)(Modelo QP 2010 Plus, Shimadzu, Japan) acoplado ao cromatógrafo gasoso (CG) foram detectados os compostos. No espectrômetro de massas a ionização ocorreu por impacto eletrônico com energia de ionização de 70 eV, operando no modo de varredura completa com uma faixa de massa entre 33 e 330 m/z. Utilizou-se o pacote de *software MSD Chemstation*, e fez-se a comparação de espectros obtidos com a Biblioteca do equipamento NIST 11, NIST 11S.

4.2.8. Determinação do Índice de Peróxido

O índice de peróxido foi determinado pela metodologia de Pearson (1976). As amostras foram pesadas ($1 \pm 0,05$) em um frasco Erlenmeyer de 250 mL, adicionou-se 30 mL da solução ácido acético-clorofórmio 1:1 e agitou-se para dissolver a amostra. Adicionou-se 0,5 mL da solução saturada de KI e deixou-se em repouso ao abrigo da luz por cinco minutos. Acrescentou-se 30 mL de água e titulou-se com solução de tiosulfato de sódio 0,1 N ou 0,01 N, com constante agitação, até que a coloração amarela tivesse quase desaparecido. Adicionou-se 0,5 mL de solução de amido indicadora e foi dada continuidade à titulação até o completo desaparecimento da coloração azul. Os resultados foram expressos em mEquivalente/kg de gordura.

4.2.9. Análise Sensorial

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FZEA/USP (CAAE 44670421.6.0000.5422). O método utilizado foi o de aceitação com escala hedônica de nove pontos (1 = desgostei muitíssimo; 9 = gostei muitíssimo), segundo a metodologia descrita por

Villanueva e Trindade (2010), em que cada um dos tratamentos foi avaliado monadicamente. Os provadores avaliaram o quanto gostaram das amostras em relação aos atributos aroma, textura, suculência, sabor, cor e qualidade global. A análise de aceitação foi realizada por 120 provadores, com amostragem por conveniência, na cidade de Pirassununga, no Campus da USP-FZEA. O recrutamento teve como único requisito que os provadores fossem consumidores de produtos derivados de carne ovina. As amostras foram preparadas no Laboratório de Análise Sensorial, sendo grelhadas até atingir 72°C no centro da peça, cortadas em pedaços de 20g, embaladas em papel alumínio e armazenada em estufa à 60°C. Todos os cuidados com armazenamento, transporte e oferta ao avaliador foram tomados garantido a segurança alimentar dos envolvidos. As amostras foram servidas em copos descartáveis codificados com algarismos de 3 dígitos aleatórios.

4.2.10. Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o Statistical Analysis System (SAS versão 9.4, SAS Institute INC., Cary, NC, EUA). A distribuição normal e a homogeneidade da variância foram previamente testadas (Shapiro – Wilk). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e quando a ANOVA teve efeito significativo ($P < 0,05$), os resultados foram avaliados pelo teste de Tukey. Para dados de análise físico-química, os tratamentos foram considerados como efeitos fixos e as repetições de fabricação (todo experimento repetido por três vezes) como um efeito aleatório. Já a estatística da análise sensorial foi feita utilizando o Teste de Kruskal -Wallis de amostras independentes com a sumarização do teste de hipóteses (significância assintóticas) e significativa ($P < 0,05$).

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante da Própolis Vermelha

As amostras de hambúrgueres identificadas por tratamento e lotes ficaram armazenadas em freezer e mantidas a -18°C até o momento das análises. O valor de fenólicos totais encontrado neste estudo foi de 182,60 mg AGE/g para o extrato de própolis vermelha e para o eritorbato de sódio o valor encontrado foi de 695 mg AGE/g. Dessa forma, a equivalência entre a capacidade antioxidante dos dois antioxidantes é de 3,6 vezes (695/182,6), assim os tratamentos propostos foram: 0,18% (1800 ppm - valor equivalente ao eritorbato) e 0,36% (3600 ppm – valor duas vezes

mais que o eritorbato), considerando o valor máximo de 0,05% (500 ppm) de eritorbato de sódio adicionado nas formulações.

Machado et al. (2016) relataram resultados superiores (300,36 mg AGE/g de própolis), ao encontrado neste estudo, porém, semelhantes ao relatado por Reis et al. (2019), usando etanol como solvente, que o difere dos resultados obtidos ao se utilizar a extração supercrítica (157,43 mg AGE/g de própolis). No entanto, os resultados do ensaio foram superiores aos encontrados por Wang et al. (2016) e Andrade et al. (2017) que relataram valores de 126,80 mg AGE/g de própolis e 91,32 mg AGE/g de própolis, respectivamente.

O ensaio de FRAP é usado para determinar o poder antioxidante do redutor férrico e foi obtido valor de 365,10 mmol Trolox /100 mg de própolis. Os valores de FRAP, usando etanol como solvente na extração convencional, encontrados por Turan et al. (2015) e Andrade et al. (2017), de 311 mg Trolox/g e 63,32 mmol/100g, respectivamente, são inferiores aos encontrados neste estudo. Essas variações estão fortemente associadas às diferentes origens geográficas, às características botânicas e aos métodos escolhidos para extração e processamento da própolis, segundo Irigoiti et al. (2021).

4.3.2. Composição Química e Textura dos hambúrgueres de cordeiro

Valores semelhantes ($P > 0,05$) foram observados para umidade, proteína, gordura e cinzas entre os tratamentos, mostrando que no Extrato de Própolis Vermelha e o Eritorbato de Sódio não afetaram a composição dos hambúrgueres (Tabela 1). Os resultados obtidos por Carvalho et al. (2019) foram semelhantes aos obtidos neste estudo. Os autores mostram que os extratos de semente de guaraná (*Paullinia cupana*) e folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) utilizados nos hambúrgueres de cordeiro não afetaram a sua composição química. Resultado semelhante ocorreu no trabalho de Bellucci et al. (2022), que não visualizaram diferenças significativas entre os hambúrgueres de suíno com extrato de açaí.

A análise de textura mostrou que houve diferença significativa ($P < 0,05$) em todos os parâmetros, quando se adicionou o extrato de própolis nos hambúrgueres de cordeiro conforme descrito na Tabela 1. Os menores valores ficaram mais evidentes nos tratamentos onde se adicionou o extrato, sugerindo que este influenciou diretamente na dureza, elasticidade, coesividade e mastigabilidade do hambúrguer. Estes resultados diferem dos estudos realizados por Bellucci et al. (2021) que encontraram diferenças significativas ($P < 0,05$), ao adicionar extrato de pitanga vermelha em hambúrguer de suíno, apenas na coesividade.

Tabela 1. Efeito do extrato de própolis na composição proximal e textura dos hambúrgueres de cordeiro.

Composição (%)	CON	ERI	P1800	P3600	SE	Sig.
Umidade	60,26	60,74	60,97	60,32	0,1378	ns
Gordura	17,70	18,96	17,87	17,40	0,0378	ns
Proteína	17,72	18,05	17,97	16,91	0,1706	ns
Cinzas	1,92	1,93	1,87	1,86	0,3041	ns
<i>Parâmetros de Textura</i>						
Dureza (N)	59,23b	54,60b	53,50b	46,08a	0,9833	**
Elasticidade (mm)	0,72ab	0,76b	0,73ab	0,67a	0,0097	*
Coabilidade	0,58b	0,57b	0,52a	0,56b	0,0056	*
Mastigabilidade (N.mm)	28,56b	27,40b	23,81ab	20,11a	0,5823	*

Valores médios de a-b na mesma linha (mesmo antioxidante em dias diferentes) com letras diferentes indicam diferença significativa SE: Erro padrão; Sig.: significado; n.s.: não significativo. * P < 0,05; **P < 0,01; *** P < 0,001. (Teste de Tukey) (*) Sig.: significativo; n.s (não significativo). CON (controle, sem antioxidante), ERI (500 mg/kg de eritorbato de sódio), P1800 (1800 mg/Kg de extrato de própolis) e P3600 (3600 mg/Kg de extrato de própolis).

4.3.3. Parâmetros de pH e cor dos hambúrgueres de cordeiro

Efeitos do extrato sobre o pH, cor e TBARS dos hambúrgueres de cordeiro durante seu armazenamento sob congelamento estão apresentados na Tabela 2. Em todos os tratamentos houve diferença significativa, no valor de pH, ao longo do tempo de armazenamento (P < 0,05). O tratamento P3600 foi o único que aumentou no dia 30 (de 5,6 para 5,68) e se manteve constante até o dia 120 (5,69), enquanto que o pH de CON, ERI e P1800 tiveram um aumento gradativo nos dias 30, 60 e 90 e estabilizaram no dia 120 com valores semelhantes aos obtidos no dia 30. Essas pequenas diferenças encontradas entre os tratamentos sugerem que o pH dos hambúrgueres não foi influenciado pela presença de extrato de própolis. Resultados superiores foram encontrados por Fernandes et al. (2017), que relataram valores de pH entre 5,90 a 6,05 nos tratamentos CON e ERI durante os 120 dias de armazenamento dos hambúrgueres de cordeiro congelados. Já Carvalho et al. (2019) obtiveram valores de pH inferior nos tratamentos CON e BHT (variaram de 5,72 a 5,54) em hambúrgueres de cordeiro resfriados por 18 dias. Porém, os mesmos autores encontraram valores superiores (pH 5,80 e 5,82 no dia 0) nos tratamentos em que se adicionou semente de guaraná e extrato de folha de pitanga, atribuindo tal acontecimento à possibilidade da degradação de proteínas liberando peptídeos, aminas e aminoácidos durante a vida de prateleira do produto.

Os hambúrgueres tiveram a cor alterada tanto pelo tratamento como pelo tempo de armazenamento ($P < 0,05$), conforme Tabela 2. Nos dias 30 e 120 não foram observadas diferenças significativas para os Valores de L^* entre os tratamentos. No entanto, nos tratamentos ERI dia 60 (de 33,48 para 37,28) e P3600 dia 30 (de 34,59 para 38,63) nos valores de L^* foram significativamente diferentes. Todos os tratamentos apresentaram redução de L^* do dia 90 para o dia 120, chegando a valores semelhantes aos do dia 0. Observa-se na tabela 3 que todos os tratamentos mostraram uma gradativa redução dos valores de a^* e diferença significativa ($P < 0,05$) durante o período de congelamento. Carvalho et al. (2019), também mostraram em seus resultados valores decrescentes nos valores de a^* e diferenças significativas ($P < 0,05$), em hambúrgueres de cordeiro no tratamento elaborado com 500 ppm de extratos de semente de guaraná e folhas de pitanga. Os resultados deste trabalho mostram que no tratamento P3600 obteve-se os maiores valores de a^* (5,04; 3,24; 2,5 e 2,86 nos dias 0, 30, 60, 90 e 120 dias, respectivamente), seguindo pelos tratamentos P1800 e ERI nos períodos analisados, mostrando que a cor vermelha dos hambúrgueres se deve à adição de EPV. Da mesma forma, Bellucci et al. (2021) adicionaram carne de suíno com extrato de pitaya vermelha em altas concentrações (Tratamento PEH – 1000 mg/Kg) obtendo valores maiores de a^* (dia 0 - 13,14 e dia 18 - 9,33) o que pode ser explicado pela cor vermelho intenso do extrato. A indicação de uso do extrato de pitaya como corante natural em derivados cárneos (aplicando no mínimo 0,3%) é verificada com essa análise, além de ser confirmada com a análise sensorial, que indicou uma grande aceitação da cor e aroma, aumentando a intenção de compra do produto. Os Valores de b^* , em geral, em todos os tratamentos não apresentaram diferença significativa ($P < 0,05$) até o dia 90 de armazenamento, o que pode sugerir como o ideal para a finalização do prazo final de armazenamento e consumo desse produto, garantindo seus parâmetros de cor.

Tabela 2. Efeito do extrato de própolis sobre os parâmetros de pH e cor de hambúrguer de cordeiro durante o congelamento.

	Dias	Tratamentos				EP	Sig
		CON	ERI	P1800	P3600		
pH*	0	5,62A	5,61A	5,59A	5,60A	0,0056	ns
	30	5,71B	5,69B	5,67B	5,68B	0,0052	ns
	60	5,80bC	5,72aBC	5,72aBC	5,72aBC	0,0085	*
	90	5,74aBC	5,78bC	5,76abC	5,74aC	0,0050	*
	120	5,70BC	5,70BC	5,69BC	5,69BC	0,0062	ns
	EP	0,0052	0,0055	0,0058	0,0058	-	-
Sig.		***	**	**	*	-	-
L^*	0	35,38	33,39A	35,30	34,53A	0,4203	ns

	30	36,65b	33,48aA	35,87ab	34,60abA	0,4197	*
	60	37,72	37,28AB	35,77	38,64B	0,449	ns
	90	37,49	38,09B	35,93	35,96AB	0,4118	ns
	120	36,62b	34,15abA	33,67a	34,46abA	0,3338	*
	EP	0,3727	0,3613	0,3975	0,3311	-	-
	Sig.	ns	*	ns	*	-	-
a*	0	2,76aB	3,84abB	4,54bB	5,04bB	0,1516	*
	30	1,61aA	3,35bB	2,86bA	3,24bA	0,1060	**
	60	2,27AB	1,92A	2,71A	2,50A	0,1082	ns
	90	1,37aA	2,13bA	2,40bA	2,66bA	0,0939	**
	120	1,34aA	1,87aA	2,46abA	2,86bA	0,1164	*
	EP	0,0891	0,1099	0,2131	0,2701	-	-
	Sig.	*	*	***	***	-	-
b*	0	9,62	9,88A	10,32	9,86	0,2264	ns
	30	9,38	9,66A	10,01	9,56	0,1685	ns
	60	10,01	8,98A	10,36	10,13	0,1942	ns
	90	9,43	9,35A	10,08	10,00	0,1632	ns
	120	8,96ab	8,26aB	9,56b	9,73b	0,1643	*
	EP	0,1505	0,1685	0,1474	0,1931	-	-
	Sig.	ns	*	ns	ns	-	-

Valores médios de a-c na mesma linha (mesmo dia tratamentos diferentes) com letras diferentes indicam diferença significativa. Valores médios de A-B na mesma coluna (mesmo antioxidante em dias diferentes) com letras diferentes indicam diferença significativa SE: Erro padrão; Sig.: significado; n.s.: não significativo. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ (*) (Teste de Tukey) Sig.: significativo; n.s (não significativo). CON (controle, sem antioxidante), ERI (500 mg/kg de eritorbato de sódio), P1800 (1800 mg/Kg de extrato de própolis) e P3600 (3600 mg/Kg de extrato de própolis).

A adição de extrato de própolis contribuiu para a perda por cozimento (PPC) dos hambúrgueres de cordeiro, nos dias 0, 30, 60 e 90, apresentando valores significativos ($P < 0,05$) e também em todos os tratamentos, conforme resultados apresentados na Tabela 3. Observou-se uma diminuição significativa ($P < 0,05$) nos valores de PPC nas amostras CON, ERI e P1800 até o dia 90, que novamente aumentou significativamente ($P > 0,05$) no dia 120, mas não de maneira significativa no tratamento P3600. Isto pode ser um indicativo de que a quantidade de própolis aplicada no tratamento P3600 contribuiu positivamente para a perda de peso após cocção dos hambúrgueres. Bellucci et al. (2021) e Barros et al. (2020) apresentaram resultados de PPC que não diferiram significativamente, em hambúrgueres de carne suína adicionados de extrato e emulsões vegetais, respectivamente, diferente deste trabalho e isto pode ter acontecido por serem também carnes de espécies diferentes.

Os resultados de redução de diâmetro apresentaram diferença significativa no dia 0 e 30 e em todos os tratamentos, conforme a Tabela 3. Os parâmetros PPC e redução de diâmetro são importantes parâmetros para a indústria através dos resultados apresentados, evidencia-se que os hambúrgueres do tratamento P1800 e P3600 atendem a estes quesitos de grande importância para a indústria de alimentos. Além disso, é importante ressaltar que o tempo de congelamento para o quesito, redução de diâmetro é flutuante até o dia 30, e posteriormente se estabiliza nos dias 60 e 90 para os tratamentos com própolis, evidenciando mais um ponto positivo na utilização deste extrato.

Tabela 3. Efeito do extrato de própolis na PPC e Redução de diâmetro (%) de hambúrguer de cordeiro durante o congelamento por 120 dias a – 18°C.

Dias	Tratamentos						Sig
	CON	ERI	P1800	P3600	EP		
PPC (%)	0	38,76bC	35,19aAB	35,13aAB	35,59aAB	0,3436	*
	30	34,61aAB	35,99abAB	37,69bB	34,58aA	0,4632	*
	60	33,04aA	34,43abA	35,02abAB	36,05bAB	0,4379	*
	90	32,76aA	35,92bAB	33,65aA	36,30Ab B	0,4277	*
	120	36,87BC	37,91B	36,88B	37,81B	0,5376	ns
	EP	0,3469	0,3819	0,4219	0,4398	-	-
	Sig.	*	*	*	*	-	-
Redução do Diâmetro (%)	0	26,54abC	25,04aAB	27,77bB	27,29abB	0,3177	*
	30	23,85abAB	24,60abAB	25,97bAB	23,16aA	0,4334	*
	60	22,77A	23,46A	23,85A	24,93AB	0,4348	ns
	90	22,55A	23,84A	23,50A	24,39A	0,4944	ns
	120	25,30BC	26,53B	24,51A	25,28AB	0,4716	ns
	EP	0,4186	0,4136	0,3747	0,3435	-	-
	Sig.	*	*	*	*	-	-

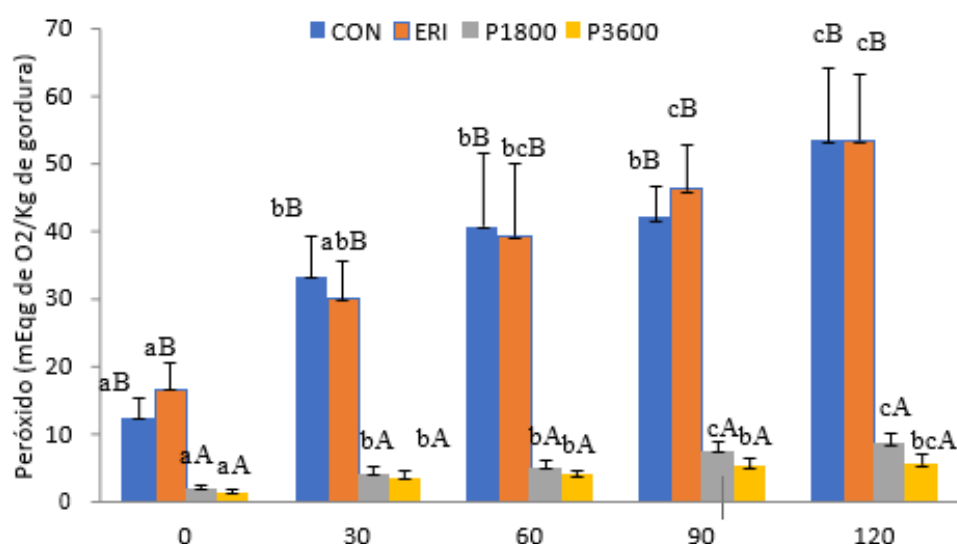
Valores médios de a-b na mesma linha (mesmo dia tratamentos diferentes) com letras diferentes indicam diferença significativa. Valores médios de A-C na mesma coluna (mesmo antioxidante em dias diferentes) com letras diferentes indicam diferença significativa SE: Erro padrão; Sig.: significado; n.s.: não significativo. * P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001 (Teste de Tukey) (*) Sig.: significativo; n.s (não significativo). CON (controle, sem antioxidante), ERI (500 mg/kg de eritorbato de sódio), P1800 (1800 mg/Kg de extrato de própolis) e P3600 (3600 mg/Kg de extrato de própolis).

4.3.4. Oxidação lipídica

Apesar das variações nos valores, houve um aumento significativo ($p \leq 0,05$) nos valores de peróxido de hambúrgueres armazenados a – 18 °C, por 120 dias, independentemente do

tratamento (Fig.1). Todavia, observou-se diferenças nos comportamentos dos tratamentos. Na avaliação do dia 0 os valores de índice de peróxido já se apresentaram altos em todos os tratamentos, o que pode ter ocorrido pelo fato de ter sido utilizada matéria-prima previamente congelada. Porém, os resultados nos dias 30, 90, 60 e 120 mostraram que nos tratamentos onde ocorreu a inclusão do extrato de própolis houve diferença significativa ($P < 0,05$) na redução do índice de peróxidos. Ou seja, durante o armazenamento, o extrato manteve suas propriedades antioxidantes, garantindo valores baixos de peroxidação, no tratamento P1800 (4,06 a 8,64 mEq g de O_2 /Kg de gordura) e no P 3600 (3,54 a 5,69 mEq g de O_2 /Kg de gordura). Ozogul e Uçar (2013) estabelecem que é 20 mEq g O_2 /kg de gordura o valor máximo de peróxidos recomendado para o consumo humano. O resultado encontrado por Oliveira et al. (2022) em um dos tratamentos que foi adicionado extrato de folha de oliva encapsulado em hambúrgueres de cordeiro não se assemelham aos deste estudo, pois, foram encontrados valores de índice de peroxidação do dia 30 (4,31 mEq g de O_2 /Kg de gordura) ao dia 120 (26,86 mEq g de O_2 /Kg de gordura) superiores aos mencionados neste trabalho e fora do recomendado para o consumo humano. Vale ressaltar que a legislação vigente no Brasil não prevê um limite para o índice de peróxido em hambúrgueres (Brasil, 2022).

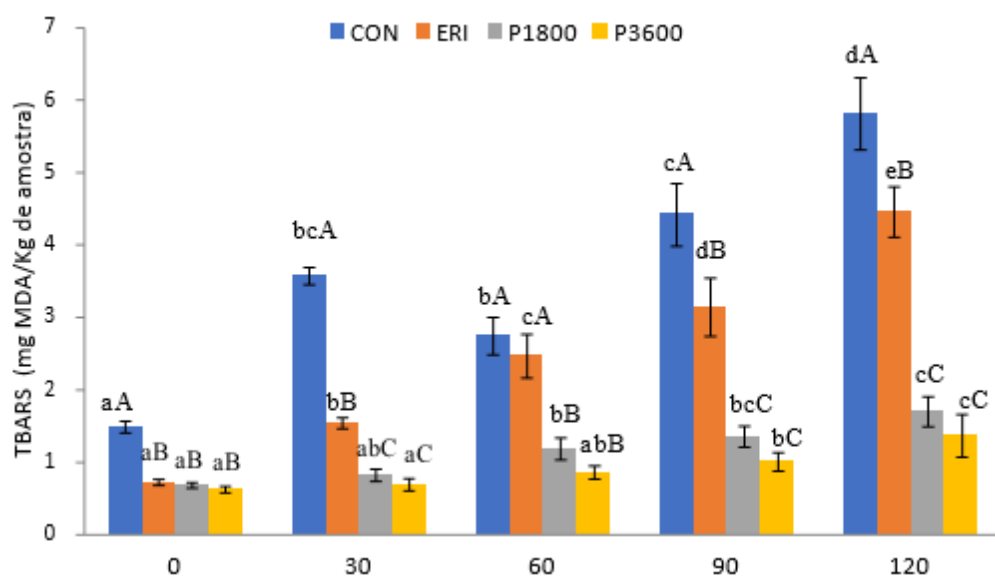
Figura 1. Índice de Peróxido de hambúrgueres de cordeiro com adição de extrato de própolis, armazenados por 120 dias à -18°C .



Evolução dos valores de Índice de Peróxido em hambúrgueres de cordeiro durante o armazenamento por 120 dias. Barras de erro correspondentes ao erro padrão. Diferentes letras maiúsculas indicam uma diferença significativa entre os tratamentos e letras minúsculas diferentes indicam uma diferença significativa em dias diferentes. (Teste de Tukey). CON (controle, sem antioxidante), ERI (500 mg/kg de eritorbato de sódio), P1800 (1800 mg/Kg de extrato de própolis) e P3600 (3600 mg/Kg de extrato de própolis).

Na Figura 2 são apresentados os valores de TBARS dos hambúrgueres de cordeiro durante o armazenamento, indicando que tiveram um aumento significativo ($p \leq 0,05$) dos índices, ao se comparar o primeiro com o último dia de armazenamento em todos os tratamentos. Aos 30 dias de armazenamento, os valores de TBARS se apresentaram baixos para os tratamentos com extrato P1800 e P3600 (0,68 e 0,62) e ERI (0,72) e alto no CON (1,49), mostrando diferença estatística ($P < 0,001$). Na avaliação do dia 120 observou-se diferença significativa ($P < 0,001$) e evolução nos valores de TBARS em todos os tratamentos, sendo eles: CON (4,42), ERI (3,14), P1800 (1,35) e P3600 (1,00) evidenciando que o extrato de própolis, que possui compostos fenólicos (isoflavonóides), inativaram ou removeram os radicais livres, impedindo a oxidação lipídica dos alimentos (Berretta et al. 2017). Semelhante aos resultados deste trabalho, Fernandes et al. (2017) aplicaram extrato de orégano em hambúrgueres de cordeiro e na avaliação do dia 120 obtiveram valores de TBARS entre 1,12 a 1,92 mg MDA/kg, em comparação ao ERI (2,37). Em contraposição, nos estudos de Oliveira et al. (2022), nos tratamentos em que houve a aplicação de extratos folha de oliveira, vitamina C e ERI foram obtidos como resultados, respectivamente, 0,94; 0,79 e 0,90 mg MDA/kg no dia 120. É importante ressaltar que vários estudos com adição de antioxidantes naturais estão sendo desenvolvidos para a substituição de sintéticos (eritorbato, BHT, entre outros) de forma eficaz (Carvalho et al., 2019; Reis et al., 2017; Pateiro et al., 2018), assim como neste estudo, que apresentou ótimos resultados dessa substituição, como descrito acima.

Figura 2. TBARS dos hambúrgueres de cordeiro com adição de extrato de própolis, armazenados por 120 dias a -18°C



Evolução dos valores de TBARS em hambúrgueres de cordeiro durante o armazenamento por 120 dias. Barras de erro correspondentes ao erro padrão. Diferentes letras maiúsculas indicam uma diferença significativa entre os tratamentos e letras minúsculas diferentes indicam uma diferença significativa em dias diferentes. CON (controle, sem antioxidante), ERI (500 mg/kg de eritorbato desódio), P1800 (1800 mg/Kg de extrato de própolis) e P3600 (3600 mg/Kg de extrato de própolis).

4.3.5. Ácidos Graxos Livres

A análise de ácidos graxos livres e a influência do extrato de própolis vermelha em hambúrguer de cordeiro no dia zero e no último dia de armazenamento estão descritos na Tabela 4. Os dois ácidos graxos que mostraram diferença significativa ($P < 0,05$) do dia 0 para o dia 120 foram o palmitoléico (C16:1n-7) e tratamento CON e esteárico (C18:0) nos tratamentos ERI e P1800, sugerindo que o tratamento P3600 atua na estabilidade destes ácidos graxos após os 120 dias. Esses resultados discordam com os publicados por Vargas-Ramella, et al. (2020) e Barros et al. (2020), que obtiveram outros ácidos graxos livres (oléico e palmítico) em patês de carne suína e em hambúrguer de carne bovina, respectivamente. No trabalho de Ozogul e Uçar (2013), estes apresentaram resultados em que a hidrólise lipídica desenvolveu-se a uma taxa mais lenta nas amostras tratadas com antioxidantes naturais. O menor valor de AGL foi observado nos hambúrgueres de cavala (*Scomber japonicus*) adicionados de extrato de chá verde, orégano e de louro, enquanto o maior AGL encontrado foi o tratamento com sálvia e os grupos controle.

Em todos os tratamentos os principais ácidos graxos livres encontrados foram ácidos graxos monoinsaturados -MUFA (52,58% a 58,83%), seguido pelos saturados – SFA (31,02 % e 37,22%) e poliinsaturados – PUFA (10,13 a 13,10%) nos dias 0 e 120, respectivamente. Ao analisar os ácidos graxos individualmente, observou-se que o ácido elaidíco foi o predominante (47,76%), seguido do ácido palmítico (19,23%), ácido esteárico (11,78%) e ácido linoleico (11,48%). Os demais ácidos graxos apresentam-se individualmente, em índices $< 10\%$.

Tabela 4. Ácidos Graxos Livres em hambúrgueres de cordeiro preparados com eritorbato e extrato de própolis vermelha (P 1800 e P3600) armazenados congelados (-18°C).

Ácidos Graxos	Dia	Tratamento				SE	Sig.
		CON	ERI	P1800	P3600		
C14:0 Ácido	0	1,48	1,51	1,44	1,46	0,13	ns
	120	1,92	1,86	1,46	1,59	0,13	ns
mirístico	Sig.	*	ns	ns	ns	-	-
C16:0 Ácido palmítico	0	20,24	17,60	19,98	19,09	1,34	ns
	120	21,98	21,19	18,91	20,34	1,34	ns
	Sig.	ns	ns	ns	ns	-	-
C16:1n-7 Ácido	0	2,95A	4,65	3,68	4,81	0,47	ns
	120	5,17bB	4,34ab	3,07a	4,39ab	0,47	*
palmitoléico	Sig.	*	ns	ns	ns	-	-
C18:0	0	10,47	10,93A	12,84B	12,90	0,65	ns

Ácido esteárico	120	12,24ab	14,17cB	10,64aA	12,76ab	0,65	*
	Sig.	ns	*	*	ns	-	-
C18:1n-9t	0	49,25	51,17	45,52	45,11	2,81	ns
Ácido eláidico	120	44,33	45,31	49,40	44,58	2,81	ns
	Sig.	ns	ns	ns	ns	-	-
C18:1n-9c	0	3,28	3,00	3,38	3,36	0,30	ns
Ácido oléico	120	3,33	3,00	3,94	3,61	0,30	ns
	Sig.	ns	ns	ns	ns	-	-
C18:3n-6	0	10,81	10,60	12,18	12,36	0,84	ns
Ácido α -	120	9,40	9,34	10,96	11,88	0,84	ns
linolenico	Sig.	ns	ns	ns	ns	-	-
C18:3n-3	0	1,72	0,46	0,92	0,96	0,44	ns
Ácido	120	1,64	0,80	0,95	0,86	0,44	ns
Linoleico	Sig.	ns	ns	ns	ns	-	-
SFA	0	32,19	30,04A	34,32	33,40	1,75	ns
	120	36,14	37,22B	31,02	34,69	1,75	ns
	Sig.	ns	*	ns			-
MUFA	0	55,49	58,83	52,58	53,29	2,51	ns
	120	52,84	52,65	56,40	52,58	2,51	ns
	Sig.	ns	ns	ns	ns	-	-
PUFA	0	12,53	11,07	13,10	13,32	1,02	ns
	120	11,04	10,13	11,91	12,74	1,02	ns
	Sig.	ns	ns	ns	ns	-	-
PUFA/SFA	0	0,39B	0,37B	0,38	0,40	0,02	ns
	120	0,31abA	0,28aA	0,38b	0,37ab	0,02	ns
	Sig.	*	*	ns	ns	-	-
n6	0	10,81	10,60	12,18	12,36	0,84	ns
	120	9,40	9,34	10,96	11,88	0,84	ns
	Sig.	ns	ns	ns	ns	-	-
n3	0	1,72	0,46	0,92	0,96	0,44	ns
	120	1,64	0,79	0,95	0,86	0,44	ns
	Sig.	ns	ns	ns	ns	-	-

Valores médios de a-b na mesma linha (mesmo dia/ tratamentos diferentes) com letras diferentes indicam diferença significativa. Valores médios de A-B na mesma coluna (mesmo antioxidante em dias diferentes) com letras diferentes indicam diferença significativa SE: Erro padrão; Sig.: significativo; n.s.: não significativo. * P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001 (*). . (Teste de Tukey). Sig.: significativo; n.s (não significativo). CON (controle, sem antioxidante), ERI (500 mg/kg de eritorbato de sódio), P1800 (1800 mg/Kg de extrato de própolis) e P3600 (3600 mg/Kg de extrato de própolis).

4.3.6. Compostos Voláteis

Na Tabela 5 estão apresentados os valores médios de compostos voláteis extraídos da oxidação lipídica no início e fim do armazenamento. Os compostos encontrados fazem parte das famílias químicas dos aldeídos, cetonas e álcoois, presentes em hambúrguer de cordeiro (Fernandes et al., 2016; Carvalho et al., 2019). Estes compostos foram identificados do hambúrguer de cordeiro cozido e são eles: 3-heptanone, 1-octen-3-ol, 2-octan-1-ol, 2,3-octanodiol, nonanal, ocnatal e decenal. Os aldeídos e cetonas são aromas típicos quando da oxidação lipídica (Resconi, Escudero; Campo, 2013). A presença de 3-heptanone no CON dia 0 demonstra essa oxidação, o que não ocorre nos tratamentos onde há a presença dos antioxidantes ERI, P1800 e P 3600, evidenciando a ação semelhante deles, não produzindo compostos cetônicos. Os voláteis de álcoois (1-octen-3-ol, 2-octan-1-ol, 2,3-octanodiol) de forma geral mostraram diferença significativa ($P < 0,05$) no dia 120 de armazenamento, corroborando aos estudos de Watanabe et al. (2015) e Carvalho et al. (2019). Porém, é importante ressaltar que no tratamento P3600, o antioxidante demonstrou uma ação efetiva, pois, não houve diferença significativa ($P < 0,05$) na produção de álcoois. A produção do aldeído nonanal não teve diferença significativa no tempo de armazenamento e nem nos tratamentos. A presença de ocnatal é apresentada no CON e ERI com aumento durante o armazenamento, evidenciando mais uma vez a eficiência e ação dos antioxidantes presentes no P1800 e P3600.

Tabela 5. Compostos voláteis nos hambúrgueres de cordeiro preparados com eritorbato e extrato de própolis vermelha (P 1800 e P3600) armazenados congelados (-18°C).

	Dia	Tratamento				SE	Sig.
		CON	ERI	P1800	P3600		
3-Heptanone	0	20,56bB	0,00a	0,00a	0,00a	0,93	*
	120	0,00A	0,00	0,00	0,00	0,93	ns
	Sig.	*	ns	ns	ns	-	-
1-Octen-3-ol	0	28,32	23,46B	13,85A	21,52	3,82	ns
	120	30,03b	7,81aA	28,92bB	21,37ab	3,82	*
	Sig.	ns	*	*	ns	-	-
2- Octan-1-ol	0	6,59aA	0,00aA	40,25bB	30,73b	2,55	*
	120	14,68B	23,35B	24,57A	31,00	2,55	*
	Sig.	*	*	*	ns	-	-
2,3-Octanodiol	0	4,11b	0,00aA	0,00a	0,00a	0,95	*
	120	3,24ab	4,36bB	0,00a	0,00a	0,95	*
	Sig.	ns	*	ns	ns	-	-

Nonanal	0	38,65	55,20	41,96	43,47	4,10	ns
	120	38,08	45,78	43,70	42,17	4,10	ns
	Sig.	ns	ns	ns	ns	-	-
Ocnatal	0	1,77A	7,39	0,00	0,00	0,99	ns
	120	13,24bB	9,32b	0,00a	0,00a	0,99	*
	Sig.	*	ns	ns	ns	-	-
Decenal	0	0,00a	13,94b	3,95a	4,28a	1,77	*
	120	0,73a	9,38b	2,81ab	5,47ab	1,77	*
	Sig.	ns	ns	ns	ns	-	-

Valores médios de a-b na mesma linha (mesmo dia tratamentos diferentes) com letras diferentes indicam diferença significativa. Valores médios de A-B na mesma coluna (mesmo antioxidante em dias diferentes) com letras diferentes indicam diferença significativa SE: Erro padrão; Sig.: significado; n.s.: não significativo. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ (*) Sig.: significativo; n.s (não significativo). . (Teste de Tukey). CON (controle, sem antioxidante), ERI (500 mg/kg de eritorbato de sódio), P1800 (1800 mg/Kg de extrato de própolis) e P3600 (3600 mg/Kg de extrato de própolis).

4.3.7. Análise Sensorial

A influência da adição do extrato de própolis vermelha nos atributos sensoriais dos hambúrgueres de carne de cordeiro está apresentada na Tabela 6. Foram observadas diferenças significativas ($P < 0,05$) para os atributos sabor e suculência. Nos tratamentos CON, ERI e P1800 as notas atribuídas aos hambúrgueres para os atributos de sabor e suculência mostram que eles têm semelhanças na percepção e aceitação do consumidor por estes produtos. Já a aceitação dos hambúrgueres do tratamento P3600, onde há um sabor mais intenso do extrato de própolis, as notas atribuídas foram menores com diferenças significativas ($P < 0,05$). Para os demais atributos, sendo aroma, textura e aceitação global, os provadores pontuaram de forma semelhante entre os tratamentos. Em geral, os escores ficaram entre 7,50 a 7,87, que estão acima do limite de aceitabilidade (escore = 5). Este resultado indica que a inclusão de extrato de própolis vermelha não teve efeito no aroma, textura e aceitação geral dos hambúrgueres de cordeiro.

Tabela 6. Escores sensoriais para o teste de aceitação através dos atributos: aroma, textura, sabor, suculência e aceitação global atribuídos pelos provadores para hambúrguer de cordeiro grelhados

	CON	ERI	P1800	P3600	EP	Sig
<i>Teste de aceitação</i>						
Aroma	7,87	7,85	7,63	7,81	0,090	ns
Textura	7,63	7,84	7,70	7,50	0,097	ns
Sabor	7,61ab	7,92b	7,56ab	7,37a	0,115	*
Suculência	7,72a	8,07b	7,78ab	7,70a	0,097	*
Aceitação Global	7,57	7,85	7,51	7,51	0,999	ns

a-b Valores médios na mesma linha com letras diferentes indicam diferença significativa; elaborados sem antioxidantes. . (Teste de Tukey). (controle – CON) com eritorbato de sódio (ERI) ou extrato de própolis vermelha (P1800 e P3600). Escala hedônica utilizada: 1 = desgostei muitíssimo; 2 = desgostei muito; 3 = desgostei; 4 = desgostei ligeiramente 5= nem gostei nem desgostei; 6 = gostei ligeiramente; 7= gostei regularmente; 8 = gostei muito e 9 = gostei muitíssimo. Letras diferentes indicam diferença significativaentre os tratamentos (P < 0,05).

4.4. CONCLUSÃO

Este estudo mostrou que o uso do extrato de própolis vermelha como antioxidante natural pode substituir o antioxidante sintético em hambúrgueres de cordeiro, sem prejudicar as características físico-químicas e sensoriais do produto. Além de ser um extrato com grande potencial antioxidante, auxilia na proteção dos hambúrgueres, reduzindo a produção de compostos voláteis indesejados provenientesda oxidação lipídica. Assim, oferece uma boa opção para a formulação de produtos com apelo mais saudável, sem comprometer a aceitação sensorial de hambúrgueres decordeiro.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e financiamento do CNPQ (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - número 431558/2016-7).

REFERÊNCIAS

Abraham Domínguez-Avila J., Wall-Medrano A., Velderrain-Rodríguez G. R., C.-Y. Oliver Chen, Salazar-LópezN. J., Robles-Sánchez M., González-Aguilar G. A. (2017). Gastrointestinal interactions, absorption, splanchnic metabolism and pharmacokinetics of orally ingested phenolic compounds. **Food & Function**, v. 8, n. 1, p. 15–38, 25 jan. DOI: 10.1039/C6FO01475E.

Agregán, R., Barba, F. J., Gavahian, M., Franco, D., Khaneghah, A. M., Carballo, J.,... Lorenzo, J. M. (2019). Fucus vesiculosus extracts as natural antioxidants for improvement of physicochemical properties and shelf life of pork patties formulated with oleogels. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 99(10), 4561–4570. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9694>.

Andrade J.K.S, Denadaia M., Oliveira C. S., Nunes M. L., Narain N. (2017). Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region. **Food Research International**. Volume 101, November. Pages 129-138.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. (2007). **Official methods of analysis of AOAC International**. 18.ed. Gaithersburg: Association of Official Analytical Chemists - AOAC.

Barros, J. C., Munekata, P. E. S., de Carvalho, F. A. L., Pateiro, M., Barba, F. J., Domínguez, R., ... Lorenzo, J. M. (2020). Use of tiger nut (*Cyperus esculentus* L.) oil emulsion as animal fat replacement in beef burgers. **Foods**, 9(1), 44. <https://doi.org/10.3390/foods9010044>.

Brasil. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretária de Defesa Agropecuária (SDA). **Portaria SDA nº 724, de 23 de dezembro de 2022**. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Hambúrguer, 2022.

Benzie, I. F. F., Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70–76, 15 jul.

Biscaia D., Ferreira R.S. (2009). Propolis extracts obtained by low pressure methods and supercritical fluid extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**. Volume 51, Issue 1, November, Pages 17-23 <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2009.07.011>

Berretta, A. A., Arruda C., Miguel F. G., Baptista N., Nascimento A. P., Marquele-Oliveira F., Hori J. I., Barud H. S., Damaso B., Ramos C., Ferreira R., Bastos J. K. (2017). Functional Properties of Brazilian Propolis: From Chemical Composition Until the Market. In: **Superfood and Functional Food - An Overview of Their Processing and Utilization**. [s.l.] InTech.

Bellucci E. R. B., Munekata P. E.S, Pateiro M., Lorenzo J.M., Barretto A. C. S. (2021). Red pitaya extract as natural antioxidant in pork patties with total replacement of animal fat. **Meat Science** 171. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108284>.

Bellucci E. R. B., Santos J. M., Carvalho L. T., Borgonovi T.F., Lorenzo J. M, Barretto A. C. S. (2022). Açaí extract powder as natural antioxidant on pork patties during the refrigerated storage. **Meat Science** 184 108667. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021>.

Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, 37(8), 911–917. <https://doi.org/10.1139/o59-099>.

Carvalho, F. A. L., Lorenzo, J. M., Pateiro, M., Bermúdez, R., Purriños, L., & Trindade, M. A. (2019). Effect of guarana (*Paullinia cupana*) seed and Pitanga (*Eugenia uniflora* L.) leaf extracts on lamb burgers with fat replacement by chia oil emulsion during shelf life storage at 2 °C. **Food Research International**, 125. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108554>.

Daugusch, A. Moraes C.S., Fort P., Park Y. K. (2008). Brazilian red propolis - Chemical composition and botanical origin. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, v. 5, n. 4, p. 435–441, dez. doi:10.1093/ecam/nem057.

Farias Marques A.D.J., Tavares J. L., Carvalho L. M., Abreu T. L., Pereira D.A., Santos M. M. F., Madruga M. S., Medeiros L. L., Bezerra T. K.A. (2022). Oxidative stability of chicken burgers using organic coffee husk extract. **Food Chemistry** 393. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133451>

Fernandes, R. P. P.; Trindade, M. A.; Lorenzo, J. M.; Munekata, P. E. S.; de Melo, M. P. (2016). Effects of oregano extract on oxidative, microbiological and sensory stability of sheep burgers packed in modified atmosphere. **Food Control**, 63, 65-75. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.11.027>.

Fernandes R.P.P., Trindade M.A, Tonin F.G., Pugine S.M.P., Lima C.G., Lorenzo J.M., Melo M.P. (2017). Evaluation of oxidative stability of lamb burger with *Origanum vulgare* extract. **Food Chemistry**, 233,101–10. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.100>

Fontan R. C. I, Rebouças K. H., Veríssimo L. A. A., Machado A. A. F., Fontan G., C. R., Bonomo R.C.F. (2011). Influência do tipo de carne, adição de fosfato e proteína texturizada de soja na

perda de peso por cocção e redução do tamanho de hambúrgueres. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 22, n. 3, p. 429-434, jul./set.

Galvão, M. T. E. L., Moura, D. B., Barretto, A. C. S., & Pollonio, M. A. R. (2014). Effects of micronized sodium chloride on the sensory profile and consumer acceptance of Turkey ham with reduced sodium content. **Food Science and Technology**, 34(1), 189–194. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612014005000009>.

García M.L, Calvo Marta M., Selgas M. Dolores. (2009). Beef hamburgers enriched in lycopene using dry tomato peel as an ingrediente. **Meat Science** 83 45–49. doi:10.1016/j.meatsci.2009.03.009.

Irigoiti Y., Navarro A., Yamul D., Libonatti C., Tabera A., Basualdo M. (2021). The use of propolis as a functional food ingredient: A review. **Trends in Food Science & Technology** 115, 297–306. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.06.041>

Lorenzo J.M., Vargas F. C., Strozzi I., Pateiro M., Furtado M. M., Sant'Ana A.S., Rocchetti G., Barba F. J., Dominguez R., Lucini L., Sobral P. J. A. **Food Research International** 114 (2018) 47–54. Influence of pitanga leaf extracts on lipid and protein oxidation of pork burger during shelf-life. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.07.046>.

Machado B.A.S., Silva R.P.D., Barreto G.A., Costa S.S., Silva D.F., Brandão H.N. (2016) Chemical Composition and Biological Activity of Extracts Obtained by Supercritical Extraction and Ethanolic Extraction of Brown, Green and Red Propolis Derived from Different Geographic Regions in Brazil. **PLoS ONE** 11(1): e0145954. doi:10.1371/ journal. pone.0145954

Noseda B., Islam T., Eriksson M., Heyndrickx M., Reu K. D., Langenhove H. V., Devlieghere F. (2012). Microbiological spoilage of vacuum and modified atmosphere packaged Vietnamese *Pangasius hypophthalmus* fillets. **B. Food Microbiology** 30, 408-419. doi:10.1016/j.fm.2011.12.02.

Nori, M. P., Favaro-Trindade C.S., Alencar S. M., Thomazini M., J. C. Balieiro, Contreras-Castillo C. J. (2011). Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, n. 2, p. 429–435.

Oliveira F. M., Oliveira R. M., Gehrman Buchweitz L.T., Pereira J. R., Hackbart H.

C. S., Nalério E. S., Borges C. D., Zambiasi R. C. (2022). **Food Control** 131. Encapsulation of olive leaf extract (*Olea europaea* L.) in gelatin/tragacanth gum by complex coacervation for application in sheep meat hamburger. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108426>

Ozogul Y. & Uçar Y. (2013). The Effects of Natural Extracts on the Quality Changes of Frozen Chub Mackerel (*Scomber japonicus*) Burgers. **Food Bioprocess Technology**. <http://doi.6:1550-1560> DOI 10.1007/s11947-012-0794-9

Pateiro M., Vargas F. C., Chinha A. A. I. A., Sant'Ana A. S., Strozzi I., Rocchetti G., Lorenzo, J. M. (2018). Guarana seed extracts as a useful strategy to extend the shelflife of pork patties: UHPLC-ESI/QTOF phenolic profile and impact on microbial inactivation, lipid and protein oxidation and antioxidant capacity. **Food Research International**, 114, 55–63. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.07.047>.

Pearson, D. **Técnicas de laboratório para el análisis de alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1976. Cap.5, p.137-139: Índice de aceites y enranciamiento.

Re R, Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9–10, p. 1231–1237.

Reis A. S. R., Diedrich C., Moura C., Pereira D., Almeida J. F., Silva L.D., Plata-Oviedo M. S. V., Tavares R. A. W., Carpes S.T. (2017). Physico-chemical characteristics of microencapsulated propolis co-product extract and its effect on storage stability of burger meat during storage at –15 °C. **LWT - Food Science and Technology**, v. 76, p. 306–313.

Reis J.H.O., Barreto G.A., Cerqueira J.C., Anjos J.P., Andrade L.N., Padilha F.F. (2019) Evaluation of the antioxidant profile and cytotoxic activity of red propolis extracts from different regions of northeastern Brazil obtained by conventional and ultrasound-assisted extraction. **PLoS ONE** 14(7): e0219063. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219063>

Resconi V. C., Escudero A., Campo M. M. (2013). The Development of Aromas in Ruminant Meat. **Molecules**, 18, 6748-6781; doi:10.3390/molecules18066748

Ribeiro, J. S., Santos, M. J. M. C., Silva, L. K. R., Pereira, L. C. L., Santos, I. A., da Silva Lannes, S. C., & da Silva, M. V. (2019). Natural antioxidants used in meat products: A brief review. **Meat Science**, 148, 181–188. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.10.016>.

Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In Lester Packer (Ed.). **Methods in Enzymology** (pp. 152–178). Academic Press.

Turan I., Demir S., Misir S., Kilinc K., Mentese A., Aliyazicioglu Y., Deger O. (2015). Cytotoxic Effect of Turkish Propolis on Liver, Colon, Breast, Cervix and Prostate Cancer Cell Lines. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**; 14 (5): 777-782.

Vargas-Ramella M., Pateiro M., Barba F. J., Franco D., Campagnol P. C. B., Munekata P. E. S., Tomasevici I., Domínguez R., Lorenzo J. M. (2020). Microencapsulation of healthier oils to enhance the physicochemical and nutritional properties of deer pâté. **LWT - Food Science and Technology** 125, 109223. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020>.

Vicentini-Polette C. M., Ramos P.R., Gonçalves, Oliveira A. L. (2021). Determination of free fatty acids in crude vegetable oil samples obtained by high-pressure processes. **Food Chemistry: X**. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2021.100166>

Villanueva N.D.M., Trindade M.A. (2010). Estimating sensory shelf life of chocolate and carrot cupcakes using acceptance tests. **Journal of Sensory Studies**, v.25, 260- 279.

Vyncke, W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette Seifen Anstrichmittel, Leinfelden**, v.72, n.12, p.1084-1087, 1970. <https://doi.org/10.1002/lipi.19700721218>

Wang X., Sankarapandian K., Cheng Y., Woo S. O., Kwon H. W., Perumalsamy H., Young-Joon A. (2016). Relationship between total phenolic contents and biological properties of propolis from 20 different regions in South Korea. **Complementary and Alternative Medicine** 16:65. DOI 10.1186/s12906-016-1043-y.

Watanabe, A., Kamada, G., Imanari, M., Shiba, N., Yonai, M., & Muramoto, T. (2015). Effect of aging on volatile compounds in cooked beef. **Meat Science**, 107, 12– 19. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.04.004>.

5. CAPÍTULO 2 – ESTUDO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA E MICROBIOLÓGICA DE LINGUIÇAS DE CORDEIRO COM ADIÇÃO DE EXTRATO DE PRÓPOLIS VERMELHA E REDUÇÃO DO TEOR DE NITRITO, EMBALADAS À VÁCUO REFRIGERADAS

Submetido na Revsita FOODS:

RESUMO

Linguiças de cordeiro, adicionadas ou não de extrato de própolis vermelha e com ou sem redução do teor de nitrito de sódio, embaladas a vácuo, foram avaliadas quanto à estabilidade oxidativa e microbiológica durante o armazenamento por 21 dias a 2°C. Os tratamentos avaliados foram: EN150 (controle, com adição de 500 mg/kg de eritorbato de sódio e 150 mg/Kg nitrito de sódio), EN75 (Com adição de 500 mg/kg de eritorbato de sódio e 75 mg/Kg nitrito de sódio), P1N75 (Sem adição eritorbato, com adição 1800 mg/Kg de extrato de própolis e 75 mg/Kg nitrito de sódio) e P2N75 – (Sem adição eritorbato, com adição 3600 mg/Kg de extrato de própolis e 75 mg/Kg nitrito de sódio). Foram realizadas as análises para a caracterização das amostras no dia 0, composição centesimal (umidade, proteína, gordura e cinzas) e aceitação sensorial. A estabilidade ao longo do armazenamento refrigerado foi avaliada pelo valor de pH, cor objetiva (L^* , a^* , b^*), perda por cocção (PPC), análise do perfil de textura, índice de TBARS, índice de peróxido e perfil de ácidos graxos livres, além da microbiologia através da contagem de microrganismos aeróbios psicrotróficos. Os tratamentos com própolis e nitrito reduzido (EN150 e P1N75) apresentaram intensidade da cor vermelha (a^*) similar ao tratamento com eritorbato e mesmo teor de nitrito (EN75) ao final do armazenamento, mantendo a coloração avermelhada característica das linguiças. O extrato retardou a oxidação de lipídios durante o tempo de armazenamento, principalmente o P2N75, que apresentou o menor nível de TBARS (0,39 mg MDA/kg) e índice de peróxido (2,13 mEq g de O₂) no dia 21. O valor de nitrito residual no EN75 foi o menor ($P < 0,05$) no dia 21, mostrando que os antioxidantes sintéticos são mais eficientes que extrato nas reações de redução do nitrito. As contagens de microrganismos psicrotróficos demonstraram que o comportamento do extrato não teve o efeito antimicrobiano esperado, nivelando os resultados encontrados sem diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos. A própolis vermelha em linguiças de cordeiro é uma opção saudável e com boas perspectivas de substituição dos antioxidantes sintéticos por produtos naturais.

Palavras-chave: Antioxidantes naturais, produtos cárneos, vida de prateleira, aceitação sensorial.

ABSTRACT

Vacuum-packed lamb sausages, with or without red propolis extract and with or without a reduction in sodium nitrite content, were evaluated for oxidative and microbiological stability during storage for 21 days at 2°C. The treatments evaluated were: EN150 (control, with the addition of 500 mg/kg of sodium erythorbate and 150 mg/Kg of sodium nitrite), EN75 (With the addition of 500 mg/kg of sodium erythorbate and 75 mg/Kg of sodium nitrite), P1N75 (Without the addition of erythorbate, (Without the addition of erythorbate, with the addition of 1800 mg/Kg of propolis extract and 75 mg/Kg of sodium nitrite) and P2N75 - (Without the addition of erythorbate, with the addition of 3600 mg/Kg of propolis extract and 75 mg/Kg of sodium nitrite). Analyses were carried out to characterize the samples on day 0, centesimal composition (moisture, protein, fat and ash) and sensory acceptance. Stability throughout refrigerated storage was assessed by pH value, objective color (L^* , a^* , b^*), loss on cooking (LCP), texture profile analysis, TBARS index, peroxide index and free fatty acid profile, as well as microbiology through the count of psychrotrophic aerobic microorganisms. The treatments with propolis and reduced nitrite (EN150 and P1N75) showed a red color intensity (a^*) similar to the treatment with erythorbate and the same nitrite content (EN75) at the end of storage, maintaining the characteristic reddish color of the sausages. The extract slowed down lipid oxidation during storage, especially P2N75, which showed the lowest level of TBARS (0.39 mg MDA/kg) and peroxide index (2.13 mEq g O₂) on day 21. The residual nitrite value in EN75 was the lowest ($P < 0.05$) on day 21, showing that synthetic antioxidants are more efficient than extract in nitrite reduction reactions. The counts of psychrotrophic microorganisms showed that the behavior of the extract did not have the expected antimicrobial effect, leveling the results found with no differences ($P < 0.05$) between the treatments. Red propolis in lamb sausages is a healthy option with good prospects for replacing synthetic antioxidants with natural products.

5.1. INTRODUÇÃO

Carnes processadas são altamente suscetíveis à perda de sua cor característica, perda da funcionalidade lipídica/proteica e desenvolvimento de sabor rançoso devido a reativos formados durante a oxidação. As reações oxidativas em produtos cárneos são o foco principal de pesquisadores na preservação de carnes, devido ao seu papel na deterioração da qualidade, geração de compostos tóxicos aliados à alteração do aroma e sabor, além de causar descoloração da carne, que conseqüentemente leva à rejeição por parte dos consumidores, sendo necessária a adição de antioxidantes nesses alimentos (Lorenzo et al., 2019; Munekata et al., 2020). No entanto, a evolução na consciência dos consumidores sobre os possíveis efeitos nocivos para a

saúde causados por aditivos sintéticos tem levado a um aumento da busca por alimentos com apelos mais saudáveis. Para tanto, vários estudos confirmaram o papel importante dos ingredientes materiais à base de plantas e seus componentes bioativos, como polifenóis, flavonoides em deter a oxidação lipídica, inibindo a formação de radicais livres nos alimentos (Manzoor et al., 2022a).

A própolis é um produto com potencial terapêutico, antiinflamatório, antimicrobiano (Banskota et al., 2001), anticarcinogênico (Frozza et al., 2017) e antioxidante (Viuda-Martos et al., 2008) e suas propriedades a tornam um material interessante para uso na indústria alimentícia. Os compostos isolados de maior prevalência na própolis são os flavonoides e têm relação direta com a intensa cor vermelha da própolis e sua potencial ação biológica (Piccinelli et al., 2011). Embora vários estudos tenham se concentrado em investigar os efeitos biológicos da atividade da própolis vermelha, o papel desta resina em produtos cárneos reestruturados e embutidos é ainda mal compreendida e por isso pode ser uma excelente alternativa para utilização na elaboração de alimentos funcionais (Marti-Quijal et al., 2020). A incorporação de nitrito nos embutidos cárneos frescos é feita com o objetivo de inibir o crescimento de alguns microrganismos, reduzir a possibilidade de ocorrência de rancidez oxidativa, além de contribuir com a coloração rosada e sabor característico (Rosa; Degáspari, 2013). É sabido que ao longo do prazo de validade de alguns produtos cárneos a concentração de nitrito de sódio pode diminuir, afetando a segurança alimentar dos produtos (Vedovatto et al., 2019). Adicionar nitrito associado com antioxidantes naturais é uma tendência nas pesquisas e mercados consumidores. Isso se deve à presença, nos produtos naturais como a própolis vermelha, de compostos fenólicos que têm a capacidade de inibir ou reduzir a oxidação lipídica e microbiana nos derivados cárneos (Schwert et al., 2020).

Dessa forma, este estudo teve como objetivo avaliar como os compostos bioativos presentes no extrato de própolis vermelha funcionam como antimicrobiano e antioxidante juntamente com nitrito e eritorbato de sódio, verificando seus efeitos nas características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais de linguiça de cordeiro embaladas à vácuo e armazenadas sob resfriamento a 2°C.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1. Extrato de Própolis Vermelha

A matéria-prima para a produção do extrato de própolis vermelha foi adquirida no Nordeste do Brasil. A própolis vermelha foi triturada em liquidificador (modelo RI 1710, Walita, Philips, Brasil), para obtenção de fragmentos menores e posterior utilização no preparo do extrato. A metodologia de extração utilizada foi a proposta por Nori et al. (2011), com modificações. Dessa

forma, a elaboração do extrato etanólico foi feita com a proporção de 30 g de própolis para 100 mL de etanol a 80%, em banho-maria a 50°C com agitação mecânica de 800 rpm por 30 minutos. Em seguida, as amostras passaram por centrifugação à temperatura de 25 °C e 4500 g por 10 minutos, com o objetivo subtrair sujidades sólidas e obter o extrato etanólico. Este foi finalizado após passar pelo rotaevaporador (TE-211, Tecnal, Piracicaba, Brasil), a temperatura de 45°C, concentrado até 40% do volume inicial. As etapas de extração foram realizadas evitando a exposição à luz.

5.2.2. Determinação da Capacidade Antioxidante do extrato de própolis vermelha

Determinação do conteúdo fenólico total

O conteúdo fenólico total foi determinado como descrito por Singleton et al. (1999) com algumas modificações. O padrão utilizado foi o ácido gálico e o teor de fenólicos totais foi determinado com o reagente Folin-Ciocalteu. Diluições apropriadas de extrato de própolis vermelha foram preparados com água (0,5 mL) e adicionado de 2,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu (diluído 1:10 com água) e 2 mL de solução de Na₂CO₃ (7,5%). A reação ocorreu em 50°C por 15 min, e a absorbância foi medida a 760 nm. O conteúdo fenólico total foi expresso em mg de equivalente de ácido gálico (GAE) / 100 g de amostra.

Ensaio de descoloração de cátion radical ABTS (ABTS)

Para a determinação da capacidade redutora do radical ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácidosulfônico), foi utilizada a metodologia segundo Re et al. (1999), obtendo-se previamente uma curva de calibração de 0,5 a 10,0 mL da solução de Trolox (6-hidroxi- 2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico). A solução ABTS* foi preparada com a solução de persulfato de potássio (140 Mm) e ABTS (7 mM), aguardou-se a reação por 16 horas em proteção de luz. O preparo da amostra foi feito com 3,0 mL do radical ABTS e 30,0 uL do extrato etanólico de própolis vermelha, seguido da agitação e repouso por 6 minutos, sob ausência de luz. A absorbância foi medida a 734 nm e os resultados expressos em mmol de equivalente de Trolox (mmol ET) por 100 mg de amostra.

DPPH

O método de eliminação do DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) foi realizado com algumas modificações de acordo com o procedimento descrito anteriormente por Brand et al. (1995). 100 µL de amostras foram adicionados a 3900 µL de solução de DPPH (60 µM em metanol). Após uma incubação em 37 °C por 10 min, as leituras de absorbância foram realizadas

a 515 nm. A atividade de eliminação de DPPH dos extratos foi determinada usando Trolox como padrão e os resultados foram expressos em mg de Trolox/g de amostra.

5.2.3. Formulação e processamento das linguiças

Todo o experimento foi repetido três vezes em nível de processo, em três dias diferentes. As linguiças frescas foram produzidas nas dependências do Laboratório de Qualidade e Estabilidade de Carnes – Faculdade de Engenharia de Alimentos e Zootecnia – Campus Pirassununga – USP (Universidade de São Paulo). A matéria-prima utilizada é a mesma e do mesmo lote em todos os tratamentos. O delineamento do experimento foi feito da seguinte forma: 4 unidades amostrais de linguiça por tratamento, sendo quatro tratamentos (EN150, EN75, P1N75 e P2N75) x quatro tempos de armazenamento (0, 7, 14 e 21 dias) x três repetições diferentes com diferença de um mês entre as repetições, perfazendo um total de 252 unidades amostrais de linguiça com 80 g cada uma. Os tratamentos foram: EN150 (controle, com adição de 500 mg/kg de eritorbato de sódio e 150 mg/Kg nitrito de sódio), EN75 (Com adição de 500 mg/kg de eritorbato de sódio e 75 mg/Kg nitrito de sódio), P1N75 (Sem adição eritorbato, com adição 1800 mg/Kg de extrato de própolis e 75 mg/Kg nitrito de sódio) e P2N75 – (Sem adição eritorbato, com adição 3600 mg/Kg de extrato de própolis e 75 mg/Kg nitrito de sódio). Ressalta-se que os valores de própolis adicionados foram baseados em equivalência de antioxidância do valor de fenólicos totais do eritorbato que, para 500 mg dele equivalia em própolis a 1800 mg. Portanto, utilizou-se a equivalência em um dos tratamentos (P1N75) e o dobro no outro tratamento (P2N75). Todas as formulações continham os ingredientes: carne de cordeiro moída com disco de 8 mm (75%), toucinho suíno moído no disco de 6 mm (20%), sal (2,0%), cebola (0,3%), alho (0,1%) e pimenta (0,1%) e os outros ingredientes descritos acima. Os ingredientes foram homogeneizados manualmente e a massa final colocada em embutideira manual. Utilizou-se tripa natural suína para embutir as linguiças frescas. Os gomos foram embalados a vácuo individualmente, identificados, e armazenados em 2°C para serem analisados. Os parâmetros: pH, cor, TBARS (estabilidade oxidativa) e microbiologia foram avaliados nos tempos 0, 7, 14 e 21 dias de armazenamento. Textura, nitrito residual, peróxido e ácidos graxos livres foram analisados nos dias 0 e 21, já a composição centesimal e análise sensorial foram realizadas no dia 0.

5.2.4. Avaliação físico-química das linguças frescas

Composição centesimal

As metodologias oficiais da AOAC (2007) para determinar umidade (950.46), resíduo mineral fixo (920.153) e proteínas (928.08) foram utilizadas para determinar e calcular a composição proximal. O teor de lipídeos foi determinado pelo método de Bligh & Dyer (1959).

Parâmetros de pH e cor

Foi utilizado um medidor de pH de inserção (peagmetro Hanna HI 99163) para efetuar a leitura do pH das linguças em triplicata. Antes, porém, o peagmetro foi calibrado com as soluções de pH 4 e 7. Para obter os valores de cor utilizou-se o colorímetro Hunter-Lab (Minolta, Japão) obtendo valores de L*, a* e b* determinados pelo ângulo de observação do iluminante D 65 em célula 10 e uma abertura de 30 mm. Foram realizadas leituras em quadruplicata.

Perda água por cocção

A porcentagem de perda de peso por cocção das linguças foi realizada de acordo com Fontan et al. (2011). As amostras armazenadas sob resfriamento de 2°C, estavam embaladas à vácuo, pesadas cruas. Posteriormente foram assadas em forno à temperatura de 180°C com sonda de temperatura inseridas em cada uma delas até que interiormente fossem atingidos 72°C, sendo retiradas e resfriadas até 25°C internamente. Foram utilizadas triplicatas para cada tratamento. A porcentagem de perdas foi calculada conforme a equação abaixo:

$$\% \text{ Perda de peso por cocção} = \frac{(\text{Massa inicial} - \text{Massa final}) \times 100}{\text{Massa inicial}}$$

Perfil de Textura (TPA)

Estas análises foram realizadas em Texturômetro TA.XT 2i (Texture Analyser, Stable Micro Systems, Godalming, Reino Unido) a 25°C, por testes de compressão com uma probe cilíndrica P35, a velocidade constante de 2 mm/s tempo de 2s entre as compressões, até uma deformação de 50%. Determinou-se os valores de dureza (N), elasticidade (mm), coesividade, gomosidade (kg x mm), mastigabilidade (kg) e resistência. Após a cocção em forno, cada linguça foi cortada individualmente em 5 pedaços cilíndricos, com 2 cm de altura totalizando 15 amostras de cada tratamento, sendo submetidas à determinação do perfil de textura de acordo com García et al., (2009).

5.2.5. Oxidação lipídica (TBARS)

O acompanhamento da estabilidade oxidativa das amostras foi pelo método desenvolvido por Vyncke (1970) com modificações. Essa metodologia consiste na reação entre produtos de oxidação com o ácido tiobarbitúrico resultando em compostos que foram medidos em espectrofotômetro a 534 nm. Uma solução de 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP), foi preparada e utilizada como padrão para a curva padrão e os resultados foram expressos em mg Equivalente Malonaldeído (MDA) /kg de amostra.

5.4.6. Ácidos Graxos Livres

O perfil de ácidos graxos livres das linguças de cordeiro foi determinado nos dias 0 e 21 de estocagem a partir da fração lipídica extraída por meio da metodologia descrita por Bligh e Dyer (1959). As amostras foram pesadas, 0,5 g em um tubo Falcon de 50 mL com tampa que permaneceu congelado em Ultra freezer (-70°C). Após, as amostras passaram pelas etapas de saponificação, neutralização, separação dos sais de ácidos graxos e esterificação. Por fim, foi feita a determinação de ácidos graxos livres que foram analisados por cromatografia gasosa-espectrométrica de massas (QP 2010 Plus, Shimadzu, Tóquio, Japão) em aparelho equipado com Split/Splitless com injetor (AOC-500, Shimadzu, Tóquio, Japão) com um injetor automático (modelo AOC- 500). Na fase estacionária uma coluna capilar (100m x 0,25mm di x 0,20 µm df, SP – 2560 Supelco, Bellefonte, EUA), utilizando o gás hélio de arraste, a uma vazão de 1,59 mL/ min. A injeção das amostras aconteceu em um injetor com proporção de Split de 1:40 e temperatura de 250°C e pressão na coluna era de 300 Kpa de acordo com Vicentini-Polette-et al (2021).

5.4.7 Determinação de Índice de Peróxido

A metodologia utilizada para a determinação do índice de peróxido foi a de Pearson (1976). As amostras foram pesadas ($1 \pm 0,05$ g) e adicionou-se 30 mL da solução ácido acético-clorofórmio 1:1 sob agitação, em seguida adicionou-se 0,5 mL da solução saturada de KI e deixando ao abrigo da luz por cinco minutos. Titulou-se a solução, mas antes adicionou-se 30 mL de água e 0,5 mL de solução indicadora de amido, com solução de tiosulfato de sódio 0,1 N ou 0,01 N, com constante agitação até que a coloração amarela tenha quase desaparecido. Os resultados foram expressos em mEq g/kg de gordura.

2.4.8 Nitrito Residual

A metodologia utilizada para a determinação residual de nitrito foi a do Instituto Adolfo Lutz (1985), número 283/IV - Determinação espectrofotométrica de nitritos. Esta se baseia nas reações de

diazotação de nitritos com ácido sulfanílico e copulação com cloridrato de alfa-naftilamina em meio ácido, formando o ácido alfa-naftilamino-azobenzeno-p-sulfônico de coloração rósea. O produto resultante foi determinado espectrofotometricamente a 540 nm. Os resultados foram expressos em mg/Kg de amostra.

2.5. Microbiologia

A análise microbiológica feita nas linguças foi de microrganismos aeróbios psicrotróficos. Amostras de 25 g foram pesadas assepticamente e homogeneizadas em 225 mL de 0,1% de água peptonada estéril dentro de capela de fluxo laminar a temperatura ambiente. Para cada amostra, diluições decimais em série foram preparadas. A metodologia utilizada para psicrotróficos aeróbios foi Padrão APHA 13.61.205 (Silva et al. 2017) em placa de petri com ágar de contagem padrão (PCA) feita por semeadura em superfície, incubando de forma invertida a 17°C por 16 horas, seguida de mais 72 horas a 7°C e posterior contagem. As análises foram realizadas nos dias 0, 7, 14 e 21 dias.

Placas prontas de teste rápido Compact dry SL® foram utilizadas para análise de *Salmonella sp* e Compact dry EC® para *Escherichia coli*, em ambos foram inoculados 1 ml da amostra e incubados invertidos a 37°C em estufa incubadora por 24 horas. Estas últimas análises foram realizadas para garantir e assegurar a inocuidade das amostras oferecidas aos degustadores que participaram das análises sensoriais, portanto, fez-se apenas a leitura de presença e ausência destes microrganismos.

2.6. Análise Sensorial

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FZEA/USP (CAAE 44670421.6.0000.5422). O método utilizado foi o de aceitação com escala hedônica de nove pontos (1 = desgostei muitíssimo; 9 = gostei muitíssimo), segundo metodologia descrita por Villanueva e Trindade (2010), em que cada um dos tratamentos foi avaliado monadicamente. Os provadores avaliaram o quanto gostaram das amostras em relação aos atributos aroma, textura, suculência, sabor, cor e qualidade global. A análise de aceitação foi realizada por 120 provadores, com amostragem por conveniência, na cidade de Pirassununga, no Campus da USP-FZEA. O recrutamento teve como único requisito que os provadores fossem consumidores de produtos derivados de carne ovina. As amostras foram preparadas no Laboratório de Análise Sensorial, sendo assadas em forno elétrico até atingir 72°C no centro da peça, cortadas em pedaços de +/- 20g, embaladas em papel alumínio e armazenada em estufa a 60°C. As amostras foram servidas em copos descartáveis codificados com 3 dígitos aleatórios. Todos os cuidados

com armazenamento, transporte e oferta ao avaliador foram tomados garantido a segurança alimentar dos envolvidos.

2.7. Análises estatísticas

As análises estatísticas realizadas neste trabalho foram realizadas utilizando o Statistical Analysis System (SAS versão 9.4, SAS Institute INC., Cary, NC, EUA). A distribuição normal e a homogeneidade da variância foram previamente testadas (Shapiro – Wilk). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e quando a ANOVA teve efeito significativo ($P < 0,05$), os resultados foram avaliados pelo teste de Tukey. Para dados de análise físico-química, os tratamentos foram considerados como efeitos fixos e as repetições de fabricação (todo experimento foi repetido por três vezes) e tempos de armazenamento (0, 7, 14 e 21 dias) como um efeito aleatório. Já a estatística da análise sensorial foi feita utilizando o Teste de Kruskal - Wallis de amostras independentes com a sumarização do teste de hipóteses (significância assintóticas) e significativa ($P < 0,05$).

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1. Teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante da Própolis Vermelha

Todas as amostras de linguça embaladas à vácuo e identificadas ficaram armazenadas a 2°C em Incubadora BOD digital até o momento das respectivas análises. A temperatura foi controlada e monitorada para garantir homogeneidade e estabilidade das análises.

O valor de fenólicos totais encontrado neste estudo foi de 182,60 mg AGE/g para o extrato de própolis vermelha e para o eritorbato de sódio o valor encontrado foi de 695 mg AGE/g. Dessa forma, a equivalência entre a capacidade antioxidante dos dois antioxidantes é de 3,6 vezes ($695/182,6$), assim os tratamentos propostos foram: 0,18% (1800 ppm - valor equivalente ao eritorbato) e 0,36% (3600 ppm – valor duas vezes mais que o eritorbato), considerando o valor máximo de 0,05% (500 ppm) de eritorbato de sódio adicionado nas formulações.

Mendonça et al. (2015) ao analisar extrato etanólico de própolis vermelha encontraram valores médios de 525,21 mg AGE/g, superior ao encontrado neste trabalho. Nos trabalhos de Mafra et al. (2022) e Calegari et al. (2017) ao analisarem o poder antioxidante utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu e a metodologia de Singleton et al. (1999) encontraram resultados inferiores ao desse trabalho, 103,70 mg/g e 41,33 mg AGE/ g, respectivamente. Essas variações podem acontecer pelo fato de a matéria-prima ter diversas origens, composição diferentes, métodos de extração e solventes alternativos, além, de regiões geográficas e épocas do ano diferentes (Mendonça et al. 2015; Biscaia & Ferreira 2009).

Entre os diversos métodos empregados para determinar a capacidade antioxidante, neste estudo utilizou-se também os ensaios de DPPH e ABTS. O extrato de própolis vermelha apresentou alta capacidade antioxidante com valores dos ensaios DPPH e ABTS de 109038 μg Trolox /g Trolox/g e 400,9 mmol Trolox/100g de própolis, respectivamente. Diferente dos valores encontrados por Calegari et al. (2017) que notaram valores de DPPH 180,00 μmol /Trolox/g própolis e ABTS 369,33 μmol Trolox/g própolis. Destaca-se que há uma grande variação de valores encontrados, principalmente por região de coleta, época do ano, flora e o tempo de colheita, a técnica de processamento, bem como as espécies de abelhas (Machado et al. 2016; Ruffato et al.2017).

5.3.2. Composição centesimal das linguças frescas de cordeiro

Os resultados da composição centesimal estão na Tabela 1. Foram observados valores ($P > 0,05$) semelhantes para umidade e proteína em todos os tratamentos. Nos parâmetros, gordura e cinzas foram encontradas diferenças ($P < 0,05$), possivelmente devido às variações nas matérias primas cárneas, pois não eram esperadas diferenças entre os tratamentos. Os resultados obtidos por Manzoor et al. (2022c) ao adicionar extrato de manga em pó em linguça de frango foram semelhantes em relação à gordura e cinzas. Entretanto, Ghafouri-Oskuei et al. (2020) ao inserir tomate em pó e farinha de linhaça em linguças de carne bovina obtiveram resultados com variações significativas nos tratamentos para cinzas, semelhantes aos encontrados neste estudo.

Tabela 1. Composição Centesimal de linguça de cordeiro com redução de nitrito e adição de extrato de própolis, armazenadas por 21 dias à 2°C.

Composição (%)	EN150	EN75	P1N75	P2N75	EP	Sig.
Umidade	63,17	67,07	64,49	64,81	0,2368	ns
Gordura	15,19b	14,67b	12,52a	13,12a	0,2573	*
Proteína	17,82	18,08	18,57	18,27	0,1416	ns
Cinzas	2,22b	2,19ab	2,13ab	2,04a	0,0219	*

a-b: Valores médios na mesma linha com letras diferentes indicam diferença significativa; EP: Erro padrão; Sig.: significado; n.s.: não significativo; (Teste de Tukey - * $P < 0,05$). EN150 (controle, com adição de 500 mg/kg de eritorbato de sódio e 150 mg/Kg nitrito de sódio), EN75 (Com adição de 500 mg/kg de eritorbato de sódio e 75 mg/Kg nitrito de sódio), P1N75 (Sem adição eritorbato, com adição 1800 mg/Kg de extrato de própolis e 75 mg/Kg nitrito de sódio) e P2N75 – (Sem adição eritorbato, com adição 3600 mg/Kg de extrato de própolis e 75 mg/Kg nitrito de sódio).

5.3.3. Parâmetros de pH e cor das linguças de cordeiro

Os efeitos do extrato de própolis e redução do nitrito sobre o pH das linguças de cordeiro durante os 21 dias de armazenamento resfriado estão apresentados na Tabela 2. Em todos os

tratamentos houve redução ($P < 0,05$) no valor de pH, devido a ação microbiana que produz ácidos durante ao longo do tempo de armazenamento. As linguças com antioxidantes apresentaram redução gradativa dos valores de pH, sendo P1N75 (5,71) e P2N75 (5,70) no dia 7 e chegando ao pH de 5,24 no dia 21 nos para os dois tratamentos. Não foram verificadas diferenças ($P > 0,05$) no dia 21 para todos os tratamentos (EN150, EN75, P1N75 e P2N75 vs 5,29; 5,30; 5,24 e 5,24). Os valores obtidos neste estudo diferiram dos valores relatados por Carvalho et al. 2020 que encontraram valores de pH entre 5,51 a 5,61, que avaliaram a influência de extratos naturais de açafraão no pH e na vida de prateleira de linguças frescas de cordeiro.

Tabela 2. Efeito do extrato de própolis sobre os parâmetros de pH das linguças frescas de cordeiro durante o armazenamento a 2°C.

	Dias	Tratamentos				EP	Sig
		EN150	EN75	P1N75	P2N75		
pH*	0	5,84A	5,83A	5,81A	5,81A	0,0072	ns
	7	5,85bA	5,80bA	5,71aB	5,70aB	0,0106	*
	14	5,46B	5,37B	5,42C	5,39C	0,0271	ns
	21	5,29B	5,30B	5,24D	5,24D	0,0112	ns
	EP	0,0135	0,0117	0,0090	0,0085	-	-
Sig.		***	**	**	***	-	-

a-c: Valores médios na mesma linha com letras diferentes indicam diferença significativa; A-D: Valores médios na mesma coluna com letras diferentes indicam diferença significativa EP: Erro padrão; Sig.: significado; n.s.: não significativo; * $P < 0,05$. ** $P < 0,01$ *** $P < 0,001$ (Teste de Tukey). EN150 (controle, com adição de 500 mg/kg de eritorbato de sódio e 150 mg/Kg nitrito de sódio), EN75 (Com adição de 500 mg/kg de eritorbato de sódio e 75 mg/Kg nitrito de sódio), P1N75 (Sem adição eritorbato, com adição 1800 mg/Kg de extrato de própolis e 75 mg/Kg nitrito de sódio) e P2N75 – (Sem adição eritorbato, com adição 3600 mg/Kg de extrato de própolis e 75 mg/Kg nitrito de sódio)

Os efeitos do extrato de própolis e redução do nitrito sobre a cor das linguças de cordeiro durante os 21 dias de armazenamento resfriado estão apresentados na Tabela 3. Em relação aos parâmetros de cor, o tempo de armazenamento não afetou L^* ($P > 0,05$). Particularmente para o dia 7, os tratamentos P1N75 e P2N75 apresentaram os valores mais altos (33,77 e 33,21, respectivamente), porém sem diferença estatística, o que sugere que o antioxidante utilizado nestes tratamentos não alterou a luminosidade das linguças. Já nos tratamentos EN150 e EN75 observou-se diferença significativa nos valores de L^* com o decorrer do tempo de armazenamento de 21 dias, sugerindo que houve alteração de cor nos hambúrgueres.

Para o parâmetro de cor a^* houve diferenças significativas ($P < 0,05$) em todos os tratamentos e durante os dias de armazenamento. No dia 0, os valores de a^* apresentaram diferenças ($P < 0,01$) de EN150 (4,81) a P1N75 (2,91). Isto pode ter ocorrido pela aceleração da reação do NO_2 com a mioglobina causada pelo Eritorbato nos tratamentos EN150 e EN75, contrariamente aos tratamentos (P1N75 e P2N75) sem a adição do eritorbato, onde valores de a^* menores podem ter ocorrido pela menor velocidade de redução do nitrito sem o eritorbato, mesmo considerando o tom vermelho do extrato. No entanto, variações crescentes ocorreram em todos os tratamentos ao longo dos dias de avaliação 7 e 14, chegando no dia 21, ao final do armazenamento, os valores nos tratamentos: EN150 (6,22), EN75 (6,62), P1N75 (7,07) e P2N75 (7,58) sendo maiores onde houve a adição da própolis, possivelmente, pelo somatório dos fatores cor da própolis vermelha e boa estabilidade oxidativa do pigmento causada pelo extrato. Em relatos dos autores Carvalho et al. (2020), Ghafouri-Oskuei et al. (2020) e Pateiro et al. (2018), valores de a^* diminuem durante o armazenamento quando foram adicionados antioxidantes naturais, não concordando com os valores obtidos neste estudo.

A adição de extrato mostrou diferenças significativas nos valores de b^* ($P < 0,05$) nos tratamentos EN75 e P1N75 (Tabela 3) durante o tempo de armazenamento demonstrando a tendência a cor amarelo/verde, que para produtos cárneos não é uma cor atrativa para o consumidor. Dessa forma, os tratamentos EN150 e P2N75, onde não foram obtidos valores de b^* com diferenças significativas são tratamentos em que a coloração amarelada sem variações, durante o armazenamento de 0 a 21 dias, atende o atributo de cor para atrair consumidores ao consumo.

Tabela 3. Efeito do extrato de própolis sobre os parâmetros de cor das linguças frescas de cordeiro durante o armazenamento a 2°C.

		Tratamentos					
	Dias	EN150	EN75	P1N75	P2N75	EP	Sig
L^*	0	34,00AB	34,75B	33,79	34,65	0,4695	ns
	7	31,16abA	29,50aA	33,77b	33,21b	0,4579	*
	14	34,57B	33,55B	33,28	36,07	0,4653	ns
	21	35,65B	34,79B	34,81	35,68	0,3505	ns
	EP	0,4521	0,4398	0,4550	0,4057	-	-
	Sig.	*	**	ns	ns	-	-
a^*	0	4,81bA	4,27bA	2,91aA	3,82abA	0,1486	**
	7	5,55abAB	5,33abA	4,75aB	6,15bB	0,1611	*
	14	6,21abB	6,75bB	5,46aB	6,74bBC	0,1652	*

	21	6,22aB	6,62abB	7,07abC	7,58bC	0,1562	*
	EP	0,1660	0,1556	0,1600	0,1495	-	-
	Sig.	*	*	**	**	-	-
b*	0	8,33	8,16B	7,88AB	8,93	0,2146	ns
	7	7,73ab	6,74aAB	8,28bB	8,90b	0,1784	*
	14	8,12	7,49B	7,42AB	8,26	0,1763	ns
	21	6,93ab	5,88aA	6,74abA	7,74b	0,1783	**
	EP	0,1955	0,1864	0,197	0,1701	-	-
	Sig.	**	***	**	**	-	-

a-c: Valores médios na mesma linha com letras diferentes indicam diferença significativa; A-D: Valores médios na mesma coluna com letras diferentes indicam diferença significativa EP: Erro padrão; Sig.: significado; n.s.: não significativo; * $P < 0,05$. ** $P < 0,01$ *** $P < 0,001$ (Teste de Tukey). EN150 (controle, com adição de 500 mg/kg de eritorbato de sódio e 150 mg/Kg nitrito de sódio), EN75 (Com adição de 500 mg/kg de eritorbato de sódio e 75 mg/Kg nitrito de sódio), P1N75 (Sem adição eritorbato, com adição 1800 mg/Kg de extrato de própolis e 75 mg/Kg nitrito de sódio) e P2N75 – (Sem adição eritorbato, com adição 3600 mg/Kg de extrato de própolis e 75 mg/Kg nitrito de sódio)

5.3.4. Oxidação Lipídica (TBARS)

A vida de prateleira de produtos cárneos é limitada por fatores como a oxidação lipídica (Domínguez et al., 2019). Na Tabela 4, os valores crescentes de TBARS de linguças de cordeiro com extrato de própolis vermelha ao longo do tempo são mostrados. A adição de antioxidantes ($P < 0,01$) e o tempo de armazenamento ($P < 0,05$) influenciaram o teor de MDA. Nos dias 0, 7 e 14 de armazenamento sob refrigeração não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos. Os níveis de TBARS aumentaram ($P < 0,05$) ao longo do tempo para todos os tratamentos, apresentando um comportamento semelhante, diminuindo no dia 7 e aumentando até o final do tempo de armazenamento. No dia 21, o lote de EN150 apresentou o nível mais alto ($P < 0,05$) de MDA enquanto o tratamento EN75 e as linguças com extrato de própolis apresentaram melhor estabilidade oxidativa. Esse resultado evidencia o poder antioxidante equalizado entre o antioxidante sintético (eritorbato de sódio) e natural (extrato de própolis vermelha), mesmo na menor concentração testada. Vale ressaltar que valores de MDA entre 1 e 2 mg/Kg são tidos como limiar sensorial para a percepção dos consumidores (Greene & Cumeze 1981). Dessa forma, apesar das diferenças observadas, todos os tratamentos apresentaram valores que não causariam a rejeição pelos consumidores por este atributo (0,20 a 0,81 mg MDA/kg) durante todo o período avaliado em que as amostras estavam sob refrigeração.

Tabela 4. Efeito do extrato de própolis sobre os parâmetros de TBARs das linguças frescas de cordeiro durante o armazenamento a 2°C.

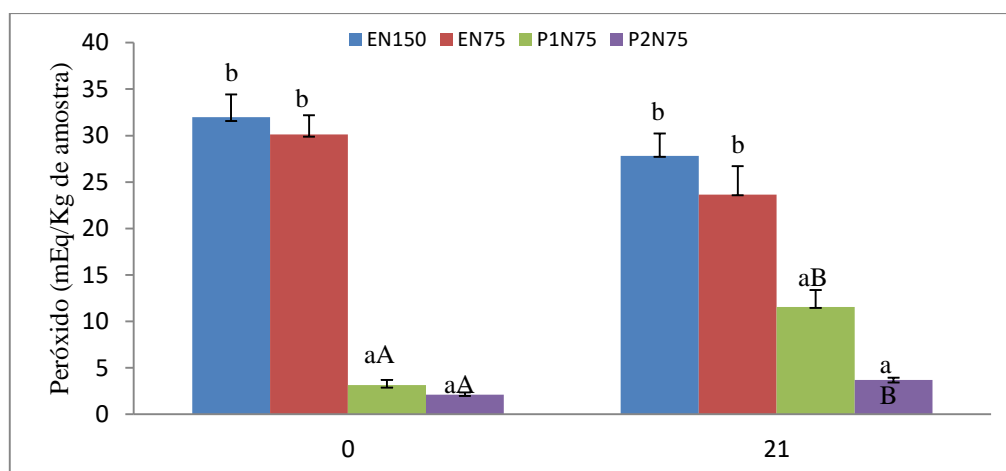
	Dias	Tratamentos				EP	Sig
		EN150	EN75	P1N75	P2N75		
TBARs	0	0,29A	0,33A	0,28A	0,36B	0,0123	ns
	7	0,22A	0,26A	0,20A	0,24A	0,0123	ns
	14	0,36A	0,43B	0,37AB	0,39B	0,0115	ns
	21	0,81bB	0,51aB	0,41aB	0,39aB	0,0355	*
	EP	0,0343	0,0123	0,0148	0,0121	-	-
	Sig.	**	***	**	**	-	-

a-b: Valores médios na mesma linha com letras diferentes indicam diferença significativa; A-B: Valores médios na mesma coluna com letras diferentes indicam diferença significativa EP: Erro padrão; Sig.: significado; n.s: não significativo; * $P < 0,05$. ** $P < 0,01$ *** $P < 0,001$ (Teste de Tukey). EN150 (controle, com adição de 500 mg/kg de eritorbato de sódio e 150 mg/Kg nitrito de sódio), EN75 (Com adição de 500 mg/kg de eritorbato de sódio e 75 mg/Kg nitrito de sódio), P1N75 (Sem adição eritorbato, com adição 1800 mg/Kg de extrato de própolis e 75 mg/Kg nitrito de sódio) e P2N75 – (Sem adição eritorbato, com adição 3600 mg/Kg de extrato de própolis e 75 mg/Kg nitrito de sódio)

5.3.5. Determinação de índice de Peróxido

Na Figura 1 estão demonstrados os valores de índice de peróxido das linguças frescas de cordeiro durante o armazenamento de 21 dias a 2 °C. Os resultados de peroxidação no dia 0 mostraram as diferenças ($P < 0,001$) entre os tratamentos, sendo que os índices de peróxidos encontrados nos tratamentos com extrato de própolis foram menores do que aqueles com eritorbato de sódio (31,98 e 30,13 vs 3,15 vs 2,13 mEq/Kg para com e EN75 vs P1N75 e P2N75, respectivamente). Nos tratamentos EN150 e EN75 não foram encontradas diferenças significativas entre os tempos (0 e 21 dias) avaliados, sendo que os valores encontrados são elevados, ultrapassando o recomendado para consumo humano (20 mEq/kg), segundo Ozogul & Uçar (2013). Já nos tratamentos P1N75 e P2N75 os valores do índice de peróxido aumentaram ($P < 0,01$) do dia 0 para dia 21, porém ficando bem menores do que EN150 e EN75. Esses resultados são promissores, pois, nestes tratamentos houve a adição de extrato de própolis que demonstra o objetivo de sua utilização, que é o de evitar a oxidação lipídica das linguças frescas durante o armazenamento.

Figura 1. Índice de Peróxido de linguças frescas de cordeiro com redução de nitrito e adição de extrato de própolis, armazenadas por 21 dias à 2°C.



Diferentes letras minúsculas indicam uma diferença significativa entre os tratamentos e letras maiúsculas diferentes indicam uma diferença significativa em dias diferentes. EN150 (controle, com adição de 500 mg/kg de eritorbato de sódio e 150 mg/Kg nitrito de sódio), EN75 (Com adição de 500 mg/kg de eritorbato de sódio e 75 mg/Kg nitrito de sódio), P1N75 (Sem adição eritorbato, com adição 1800 mg/Kg de extrato de própolis e 75 mg/Kg nitrito de sódio) e P2N75 – (Sem adição eritorbato, com adição 3600 mg/Kg de extrato de própolis e 75 mg/Kg nitrito de sódio) (Teste de Tukey - $P < 0,05$).

5.3.6. Textura

A análise do perfil de textura (TPA) é um fator importante quando se trata da avaliação da qualidade de produtos cárneos reestruturados e está descrita na Tabela 5. A adição de extrato de própolis vermelha e redução do teor de nitrito não causou diferença ($P < 0,05$) entre os tratamentos, em relação a todos parâmetros texturais do perfil das linguças frescas (Tabela 5). Por outro lado, a dureza diminuiu ao longo do tempo no tratamento P1N75 ($P < 0,001$) de 72, 95 N para 55,78 N e a elasticidade diminuiu nos tratamentos EN150 ($P < 0,05$) de 0,74 mm para 0,70 mm, P1N75 ($P < 0,01$) de 0,74 mm para 0,65 mm. A mastigabilidade apresentou redução nos tratamentos EN150 ($P < 0,05$) de 29,59.N.mm para 24,83 N.mm e P1N75 ($P < 0,001$) de 33,00 N.mm para 22,28 N.mm. Corroborando com os resultados do trabalho de Armenteros et al. (2013), que utilizaram antioxidantes naturais em salsichas e obtiveram valores que foram diminuindo ao longo do tempo de armazenamento. Ou seja, a incorporação do extrato de própolis vermelha não causou mudanças negativas no perfil de textura das linguças frescas, pois, os tratamentos EN150 e P1N75 mostraram valores semelhantes.

Tabela 5. Efeito da própolis vermelha no perfil de textura e perda por cocção (%) na linguiça de cordeiro durante o armazenamento a 2°C por 21 dias

	Dias	Tratamentos				EP	Sig.
		EN150	EN75	P1N75	P2N75		
Dureza (N)	0	66,07	66,43	72,95B	65,23	1,2211	ns
	21	61,48	64,00	55,78A	61,11	1,2273	ns
	EP	1,8429	2,0135	1,6753	1,3163	-	-
	Sig.	ns	ns	***	Ns	-	-
Elasticidade (mm)	0	0,74	0,74B	0,74B	0,73	0,0110	ns
	21	0,70	0,67A	0,65A	0,70	0,0080	ns
	EP	0,0111	0,0176	0,0109	0,0140	-	-
	Sig.	ns	*	**	ns	-	-
Coesividade	0	0,52	0,52	0,53	0,52	0,0056	ns
	21	0,50	0,53	0,5	0,53	0,0060	ns
	EP	0,0079	0,0098	0,0085	0,0064	-	-
	Sig.	ns	ns	ns	ns	-	-
Mastigabilidade (N.mm)	0	29,59B	30,21	33,00B	29,40	0,8690	ns
	21	24,83A	25,78	22,28A	26,40	0,6278	ns
	EP	0,9195	1,3132	0,8979	1,1050	-	-
	Sig.	*	ns	***	ns	-	-
Perda por cocção (%)	0	26,64a	28,87abA	32,25b	26,96aA	0,4991	**
	21	26,89a	34,01bB	31,57a	33,65bE	0,7663	*
	EP	0,4838	1,1205	0,9867	0,9394	-	-
	Sig.	ns	*	ns	**	-	-

a-b Valores médios na mesma linha com letras diferentes indicam diferença significativa; A-B Valores médios na mesma coluna com letras diferentes indicam diferença significativa EP: Erro padrão; Sig.: significado; n.s.: não significativo; * P < 0,05. ** P < 0,01 *** P < 0,001 (Teste de Tukey). EN150 (controle, com adição de 500 mg/kg de eritorbato de sódio e 150 mg/Kg nitrito de sódio), EN75 (Com adição de 500 mg/kg de eritorbato de sódio e 75 mg/Kg nitrito de sódio), P1N75 (Sem adição eritorbato, com adição 1800 mg/Kg de extrato de própolis e 75 mg/Kg nitrito de sódio) e P2N75 – (Sem adição eritorbato, com adição 3600 mg/Kg de extrato de própolis e 75 mg/Kg nitrito de sódio)

A perda de peso por cocção (Tabela 5) foi registrada na faixa de 26,64% - 32,25% entre os tratamentos no dia 0, o que mostrou diferença significativa (P < 0,01) com maior valor no tratamento P1N75, linguiças de cordeiro com nitrito reduzido e extrato de própolis. No dia 21 a perda por cozimento foi registrada na faixa de 26,89% - 34,01% mostrando diferença

significativa entre os tratamentos ($P < 0,05$) e com maior perda de água nas amostras do tratamento EN75. Estas amostras têm na formulação nitrito reduzido e antioxidante artificial, o que não é um bom indicador para os parâmetros que a indústria busca, de se obter reduzida PCC. Isto evidencia que o P1N75 com redução de nitrito e adição de extrato de própolis não tem diferença significativa com o tratamento EN150 (nitrito máximo e sem antioxidante), de modo que este atenderia melhor esse atributo observado pelos consumidores. Carvalho et al. (2020) obtiveram resultados de PPC entre 21,16% a 26,94% ($P < 0,05$), nos tratamentos com adição de antioxidante natural de cúrcuma em linguiça de cordeiro, menores que os encontrados neste trabalho. A perda por cozimento causa a perda de fluidos contendo nutrientes (solúveis em água), pigmentos (formadores de cor) (Manzoor et al., 2022c) além disso, pode ser influenciada pela capacidade da matriz proteica de estabilizar e/ou imobilizar moléculas de gordura (Kumar et al., 2016), portanto, deve-se levar em consideração a carne da espécie animal e o antioxidante utilizado nos produtos derivados de carne.

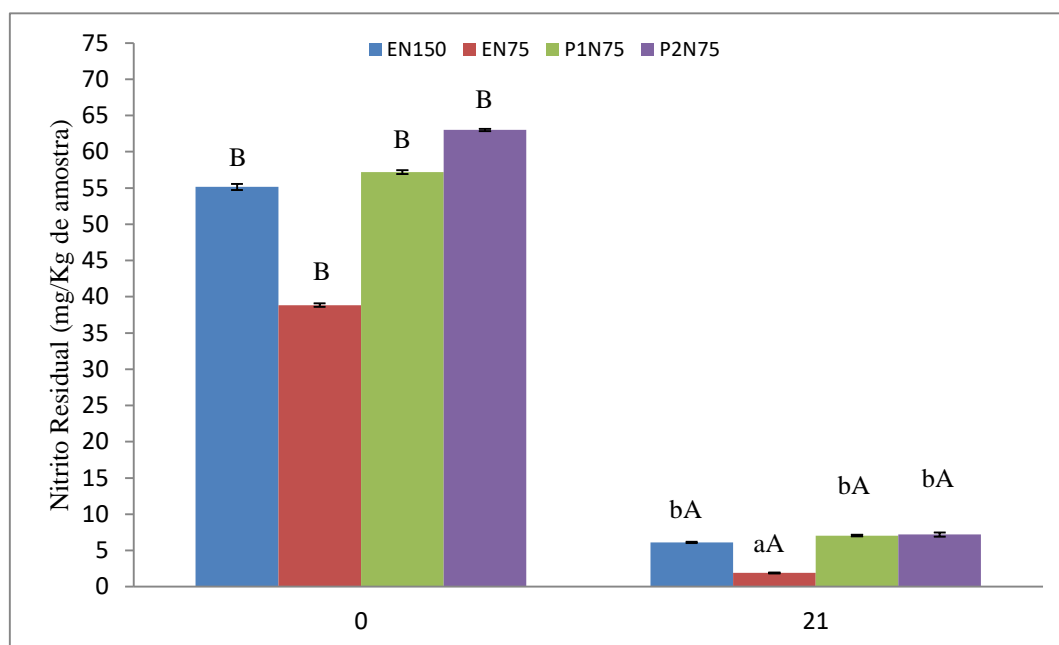
5.3.7. Nitrito Residual

O nitrito residual encontrado nas linguiças frescas está representado na Figura 2. Pode-se observar que houve diferença significativa ($P < 0,01$) no dia 21 e em todos os tratamentos durante o tempo de armazenamento. Os valores encontrados no dia 0 (55,41 vs. 38,84 vs. 57,20 vs. 62,00 mg/Kg para EN150, EN75, P1N75 e P2N75, respectivamente) são maiores, conforme esperado, pois no primeiro dia houve menor tempo para que o nitrito reagisse com mioglobina durante o armazenamento. Dessa forma, os valores observados no dia 21 (6,12 vs. 1,90 vs. 7,04 vs. 7,20 mg/Kg para EN150, EN75, P1N75 e P2N75, respectivamente) são menores, pois, com o tempo o nitrito que foi adicionado às formulações tende a diminuir, se transformando em óxido nítrico e, por conseguinte reagindo com a mioglobina formando complexos de mioglobina, resultando na cor característica dos produtos cárneos curados (Møller; Skibsted, 2002). Resultados de redução de nitrito com o tempo de armazenamento foram observados por Ghafouri-Oskuei et al. (2020) ao adicionar tomate e linhaça em pó em linguiças frescas de carne bovina e Deda et al. (2007) que avaliaram o nitrito residual em salsichas com gorduras saudáveis em substituição à gordura animal. Neste experimento, ao observar os resultados por tratamento fica evidente que o menor valor (1,90 mg/Kg no dia 21) encontrado foi no tratamento EN75 que possui em sua formulação aditivos químicos (Eritorbato de sódio) para fazer parte das reações acima mencionadas e redução do teor de nitrito inicial em relação ao EN150.

Segundo Gangolli et al. (1994) a ingestão diária aceitável para nitrito é de 0,4mg/Kg de peso corpóreo, o que significa que para um adulto de 60 Kg recomenda-se ingerir até 24 mg de nitrito diariamente. É importante ressaltar que a legislação brasileira (Brasil 1998; Brasil 2006)

limita o uso do nitrito de sódio, sendo 150 mg/Kg em linguiças frescas, pois, é sabido que quando há altos níveis de nitrito no organismo humano este age na hemoglobina oxidando ferro impedindo que aconteça o transporte do oxigênio por ela (Phillips 1971). O que pode estar relacionado ao aumento da pressão arterial e até mesmo a alguns tipos de câncer como o gastrointestinal, justamente pela formação de nitrosaminas, substâncias carcinogênicas (Ferguson, 2010). Como visto neste trabalho, com o tempo de armazenamento o valor de nitrito residual vai diminuindo, portanto, se os limites legais preconizados forem seguidos, pode-se dizer que o risco a saúde dos consumidores é baixo ou nulo (Sebraneck; Bacus, 2007), ainda mais quando na formulação há presença de produtos naturais, que contribuem para reduzir esses riscos à saúde do consumidor.

Figura 2. Nitrito residual de linguiças frescas de cordeiro com redução de nitrito e adição de extrato de própolis, armazenadas por 21 dias à 2°C.



Barras de erro correspondentes ao erro padrão. Diferentes letras minúsculas indicam uma diferença significativa entre os tratamentos e letras maiúsculas diferentes indicam uma diferença significativa em dias diferentes. EN150 (controle, com adição de 500 mg/kg de eritorbato de sódio e 150 mg/Kg nitrito de sódio), EN75 (Com adição de 500 mg/kg de eritorbato de sódio e 75 mg/Kg nitrito de sódio), P1N75 (Sem adição eritorbato, com adição 1800 mg/Kg de extrato de própolis e 75 mg/Kg nitrito de sódio) e P2N75 – (Sem adição eritorbato, com adição 3600 mg/Kg de extrato de própolis e 75 mg/Kg nitrito de sódio) (Teste de Tukey - $P < 0,05$).

5.3.8. Ácidos Graxos Livres

O teor de ácidos graxos livres (AGL) presentes nas linguiças de cordeiro está descrito na Tabela 6. A liberação de ácidos graxos das moléculas como fosfolipídios e triglicerídeos é um fenômeno influenciado por vários fatores como lipases endógenas, matérias-primas, condições de processamento, aditivos e ingredientes (Lorenzo et al., 2014a). Em todos os tratamentos os

principais ácidos graxos livres encontrados foram os ácidos graxos monoinsaturados -MUFA (48,04% a 55,26%), seguido pelos saturados – SFA (34,13 % e 40,63%) e poliinsaturados – PUFA (9,15 a 11,68%) nos dias 0 e 21, respectivamente. Ao analisar os ácidos graxos individualmente, observou-se que o ácido eláidico foi o predominante (43,10%), seguido do ácido palmítico (20,70%), ácido esteárico (15,98%) e ácido linoleico (9,03%). Os demais ácidos graxos apresentam-se individualmente < 12%. A quantidade de AGL em todos os tratamentos apresentou a seguinte relação entre os tratamentos e AGL: MUFA < SFA < PUFA. Isso sugeriu uma liberação preferencial de MUFA do que outros AGs.

O total de AGL foi semelhante entre os tratamentos (EN150, EN75, P1N75 e P2N75) nos dias 0 e 21, não apresentando diferença significativa para a maioria dos ácidos graxos livres, com exceção de C14:0 (ácido mirístico), C16:0 (ácido palmítico) e C18:2n-3 (ácido linolênico). No dia 0 o C14:0 (ácido mirístico) apresentou diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos e menores valores naqueles (P1N75 e P2N75) onde foi adicionado o extrato de própolis e por conseguinte nos tratamentos EN150 e EN75 os valores encontrados são maiores. Com o passar dos 21 dias os valores tiveram diferenças significativas ($P < 0,05$) e redução nos valores deste ácido graxo em todos os tratamentos. No dia 0 houve diferença significativa entre os tratamentos no C16:0 (ácido palmítico) e o C18:2n-3 (ácido linolênico) apresentou diferença significativa ($P < 0,05$) somente no EN75 do dia 0 para o dia 21.

Tabela 6. Ácidos Graxos Livres em língua de cordeiro preparadas com nitrito eritorbato (EN150), nitrito reduzido e eritorbato (EN75) e nitrito reduzido e extrato de própolis vermelha (P1N75 e P2N75) armazenados a 2°C.

Ácidos Graxos Livres	Dia	Tratamento				EP	Sig.
		EN150	EN75	P1N75	P2N75		
C14:0	0	2,26b	1,87abA	1,65a	1,94ab	0,09	*
Ácido mirístico	21	2,12ab	2,18bB	1,81ab	1,75a	0,09	*
	Sig.	ns	*	ns	ns	-	-
C16:0	0	23,30b	18,52a	19,03ab	20,95ab	1,10	*
Ácido palmítico	21	21,32	21,48	20,07	20,99	1,10	ns
	Sig.	ns	ns	ns	ns	-	-
C16:1n-7	0	3,93	3,79	3,46	4,02	0,34	ns
Ácido palmitoléico	21	3,86	3,62	3,71	4,26	0,34	ns
	Sig.	ns	ns	ns	ns	-	-
C18:0	0	15,06	18,84	13,44	15,49	1,54	ns
Ácido esteárico	21	16,93	15,21	16,43	16,00	1,54	ns

	Sig.	ns	ns	ns	ns	-	-
C18:1n-9t	0	41,45	42,57	47,81	42,36	1,90	ns
Ácido eláidico	21	43,22	41,61	43,97	41,85	1,90	ns
	Sig.	ns	ns	ns	ns	-	-
C18:1n-9c	0	2,66	3,19	4,00	4,08	0,64	ns
Ácido oléico	21	3,00	2,86	3,33	3,81	0,64	ns
	Sig.	ns	ns	ns	ns	-	-
C18:3n-6	0	9,11	9,73	8,80	9,32	0,57	ns
Ácido α -linolenico	21	8,20	8,06	9,28	9,78	0,57	ns
	Sig.	ns	ns	ns	ns	-	-
C18:3n-3	0	2,23B	1,51	1,82	1,83	0,31	ns
Ácido linolenico	21	1,17A	1,09	1,40	1,55	0,31	ns
	Sig.	*	ns	ns	ns	-	-
SFA	0	40,63	39,23	34,13	38,38	1,64	ns
	21	40,36	38,85	38,31	38,74	1,64	ns
	Sig.	ns	ns	ns	ns	-	-
MUFA	0	48,04	49,56	55,26	50,47	2,19	ns
	21	50,08	48,08	51,01	49,92	2,19	ns
	Sig.	ns	ns	ns	ns	-	-
PUFA	0	11,33	11,24	10,61	11,15	0,70	ns
	21	9,38	9,15	10,68	11,34	0,70	ns
	Sig.	ns	ns	ns	ns	-	-

ab: Valores médios na mesma linha com letras diferentes indicam diferença significativa; A-B Valores médios na mesma coluna com letras diferentes indicam diferença significativa. EP: Erro padrão; Sig.: significativo; n.s.: não significativo; * P < 0,05. ** P < 0,01 *** P < 0,001 (Teste de Tukey). EN150 (controle, com adição de 500 mg/kg de eritorbato de sódio e 150 mg/Kg nitrito de sódio), EN75 (Com adição de 500 mg/kg de eritorbato de sódio e 75 mg/Kg nitrito de sódio), P1N75 (Sem adição eritorbato, com adição 1800 mg/Kg de extrato de própolis e 75 mg/Kg nitrito de sódio) e P2N75 – (Sem adição eritorbato, com adição 3600 mg/Kg de extrato de própolis e 75 mg/Kg nitrito de sódio).

5.3.9. Microbiologia

A própolis é conhecida por sua ação antibacteriana que é atribuída à sua composição química rica em flavonoides (quercetina e naringenina), que promovem modificações na membrana bacteriana e na sua mobilidade (Mirzoeva et al., 1997). Linguças frescas são produtos altamente perecíveis e isto afeta sua estabilidade e o prazo de validade, porque possuem condições

propícias para o crescimento de microrganismos. As avaliações realizadas quanto à presença *Salmonella* sp. e *Echerichia coli* nos dias 0 e 21, foram negativas, comprovando a segurança microbiológica das linguças avaliadas. Já os resultados das análises de microrganismos aeróbios psicotróficos foram afetadas pelo armazenamento e formulação (Tabela 7). Os níveis de psicotróficos de todos os tratamentos apresentaram aumento ($P < 0,05$) gradativo. Ou seja, o crescimento microbiano foi semelhante em todos os tratamentos, não sendo constatado benefício antimicrobiano causado pela adição da própolis vermelha, como era esperado.

O monitoramento das bactérias psicotróficas é muito importante, pois, podem causar mudanças no odor, textura e sabor como resultado de produção de diferentes compostos metabólicos quando presente em alimentos (Safari; Yosefian, 2006), porém, a legislação brasileira não elenca, essa análise, como obrigatória para a comercialização destes produtos (Brasil, 2022). Nos resultados dos experimentos de Vargas-Sanchez et al. (2014) ao utilizarem extrato etanólico de própolis verde em hambúrgueres de carne bovina por 8 dias de armazenamento, encontraram valores de psicotróficos superiores ($7,7 \log_{10}$ UFC/g a $9,3 \log_{10}$ UFC/g) aos encontrados neste trabalho que foram de $6,39 \log_{10}$ UFC/g a $6,76 \log_{10}$ UFC/g. Esta diferença pode ser pelo fato de as linguças deste experimento, apesar de serem armazenadas por 21 dias, foram embaladas à vácuo contribuindo para uma menor exposição a oxidação lipídica, redução de pH e por conseguinte crescimento microbiano.

Tabela 7. Alterações na contagem total de microrganismos psicotróficos (CTP – \log_{10} UFC/g) de linguças de cordeiro com antioxidantes naturais durante o período de armazenamento a 2°C.

Contagem Total de Psicotróficos (CTP- \log_{10} UFC/g)	EN150	EN75	P1N75	P2N75	EP	Sig
Dia 0	4,39A	4,24A	4,32A	4,22A	0,51	ns
Dia 7	4,67A	4,34A	5,07AB	4,98AB	0,52	ns
Dia 14	5,60AB	5,92AB	6,10AB	6,17AB	0,51	ns
Dia 21	6,83B	6,68B	6,40B	6,76B	0,52	ns
EP	0,51	0,52	0,51	0,52	-	-
Sig	*	*	*	*	-	-

A-B Valores médios na mesma coluna com letras diferentes indicam diferença significativa. Sig.: significado; n.s: não significativo; EP: Erro padrão; (Teste de Tukey- * $P < 0,05$). EN150 (controle, com adição de 500 mg/kg de eritorbato de sódio e 150 mg/Kg nitrito de sódio), EN75 (Com adição de 500 mg/kg de eritorbato de sódio e 75 mg/Kg nitrito de sódio), P1N75 (Sem adição eritorbato, com adição 1800 mg/Kg de extrato de própolis e 75 mg/Kg nitrito de sódio) e P2N75 – (Sem adição eritorbato, com adição 3600 mg/Kg de extrato de própolis e 75 mg/Kg nitrito de sódio)

5.3.10. Análise Sensorial

Os resultados dos testes de aceitação sensorial, incluindo os atributos aroma, sabor, textura, suculência e aceitação global das linguças contendo extrato de própolis e nitrito depois de assadas, preparadas e avaliadas por 120 provadores estão na Tabela 8. Suculência, textura, sabor e aceitação global foram os atributos que apresentaram diferença significativa entre os tratamentos. Pontuações mais baixas ($P < 0,05$) para todos os atributos foram registradas para as linguças com baixo percentual de extrato de própolis vermelha (P1N75), possivelmente devido ao sabor residual que a própolis e a carne de cordeiro deixaram na linguça. Já no P2N75 em que houve a incorporação de um percentual maior de própolis, os atributos de textura (7,41) e suculência (7,33) não tiveram diferença significativa ($P < 0,05$) aos valores atribuídos para o EN75, podendo sugerir que o consumidor tem uma aceitação melhor deste produto em relação ao P1N75. Esses resultados indicam que esse ingrediente funcional (extrato de própolis) pode ser incorporado à produtos embutidos, resultando em produtos aceitáveis. Fernandes et al. (2016) em seus experimentos com hambúrguer de cordeiro e antioxidantes naturais de orégano, alecrim, manjerição, eritorbato de sódio e extrato de limão, ao analisar sensorialmente, a aceitação média global foi de 6,80 entre todos os tratamentos, diferente nas notas atribuídas neste trabalho onde a média foi de 7,32.

Evidencia-se que uso de própolis vermelha em derivados de cordeiro tem uma melhor aceitação do que outros extratos utilizados, como no trabalho de Fernandes et al. (2016). Em relação à análise sensorial realizada em embutidos cozidos, todos grupos receberam uma pontuação no teste de aceitação superior a 7 (gostei moderadamente, conforme a escala hedônica utilizada neste estudo) para todos os atributos. Neste contexto, fica evidente que o uso de própolis em linguças pode ser uma opção de antioxidante natural com apelo mais saudável com boa aceitação sensorial pelos consumidores.

Tabela 8. Escores sensoriais para o teste de aceitação para linguça de cordeiro assada

Teste de aceitação	EN150	EN75	P1N75	P2N75	EP	Sig
Aroma	7,37	7,06	7,06	7,06	0,114	ns
Textura	7,63b	7,37ab	7,21a	7,41ab	0,102	*
Sabor	7,74b	7,43ab	7,08a	7,17a	0,105	*
Suculência	7,61b	7,42ab	7,21a	7,33ab	0,380	*
Aceitação Global	7,66b	7,35ab	7,16a	7,13a	0,108	*

a-b Valores médios na mesma linha com letras diferentes indicam diferença significativa; Sig.: significado; n.s.: não significativo; EP: Erro padrão; (Teste de Tukey, * $P < 0,05$). Linguças elaboradas (EN150) com eritorbato de sódio e nitrito (EN75) ou extrato de própolis vermelha e nitrito (P1N75 e P2N75). Escala hedônica utilizada: 1 = desgostei muitíssimo; 2 = desgostei muito; 3 = desgostei 4 = desgostei ligeiramente 5 = nem gostei nem desgostei; 6 = gostei

ligeiramente; 7= gostei regularmente; 8 = gostei muito e 9 = gostei muitíssimo. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos (P <0,05).

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo sugerem que a adição de extrato de própolis vermelha melhorou o status antioxidante das linguiças de cordeiro. Já a redução do teor de nitrito de sódio não apresentou aumento na oxidação lipídica nem tampouco prejuízo nas características microbiológicas das linguiças. O nível médio de adição de extrato (0,18%) causou menos alterações nos parâmetros de cor e textura das linguiças em relação aos outros tratamentos, sendo este o nível indicado como substituto do antioxidante sintético, eritorbato, nas formulações de linguiças frescas nas condições avaliadas. Portanto, essas descobertas abrem perspectivas para a aplicação do extrato de própolis, como antioxidante natural em produtos cárneos sem alteração nas propriedades físico-químicas durante o período de armazenamento.

6. Referências

- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of AOAC International. **2007**. 18th ed. Gaithersburg: Association of Official Analytical Chemists – AOAC.
- Adolfo Lutz Institute. Analytical Standards of the Adolfo Lutz Institute. **1985**. V.1: Chemical and Physical Methods for Food Analysis. 3rd ed. São Paulo: IMESP; pp. 97-98.
- Banskota, A. H.; Tezuka, Y.; Kadota, S. Recent Progress in Pharmacological Research of Propolis. *Phytotherapy Research*. **2001**, 15, 561–571.
- Brazil. Normative Instruction No. 4, of March 31, **2000**. Technical Regulation on the Identity and Quality of Sausages. Annex III - Technical Regulation on the Identity and Quality of Sausages. Federal Official Gazette, Brasília, DF, April, 5.
- Brazil. Ordinance No. 1.004, of December 11, **1998**. Technical Regulation for the Assignment of Additive Functions and their Maximum Use Limits for Category 8 - Meat and Meat Products. Federal Official Gazette, Brasília, DF, March 22.
- Brazil. National Health Surveillance Agency. Normative Instruction - In nº 161, of July 1, **2022** - Establishes the microbiological standards for food and RDC nº 724, of July 1, 2022, the lists of microbiological standards for food.

Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C.C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT - Food Science and Technology*. **1995**, 28, 25–30, [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).

Biscaia, D.; Ferreira, R.S. Propolis Extracts Obtained by Low Pressure Methods and Supercritical Fluid Extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*. **2009**, 51, 17–23, <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2009.07.011>.

Bligh, E.G.; Dyer, W.J. A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. *Canadian Journal Biochemistry Physiology*. **1959**, 37, 911–917. <https://doi.org/10.1139/o59-099>.

Calegari M.A.; Prasniewski A.C.; Silva C.; Sado R.Y.; Maia F.M.C.; Tonial L.S.M; Oldoni T.L.C. Propolis from Southwest of Parana produced by selected bees: Influence of seasonality and food supplementation on antioxidant activity and phenolic profile *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*. **2017**, 89(1): 45-55.

Carvalho F. A. L.; Munekata P. E. S.; Oliveira A. L.; Pateiro M.; Domínguez R.; Trindade M. A.; Lorenzo J. M. Turmeric (*Curcuma longa* L.) extract on oxidative stability, physicochemical and sensory properties of fresh lamb sausage with fat replacement by tiger nut (*Cyperus esculentus* L.) oil. *Food Research International*. **2020**, 136, 109487. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109487>

Deda, J.G.; Bloukas, G.A. Fista. Effect of tomato paste and nitrite level on processing and quality characteristics of frankfurters. *Meat Science*. **2007**, 76, 501-508.

Domínguez, R.; Gullón, P.; Pateiro, M.; Munekata, P. E. S.; Zhang, W.; Lorenzo, J. M. Tomato as potential source of natural additives for meat industry. A review. *Antioxidants*. **2020**, 9(1), 73. <https://doi.org/10.3390/antiox9010073>.

Ferguson, L. R. Meat and cancer. *Meat Science*. **2010**, v. 84, p. 308-313.

Fernandes, R. P. P.; Trindade, M. A.; Lorenzo, J. M.; Munekata, P. E. S.; de Melo, M. P. Effects of oregano extract on oxidative, microbiological and sensory stability of sheep burgers packed in modified atmosphere. *Food Control*. **2016**, 63, 65-75. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.11.027>.

Fontan R. C. I.; Rebouças K. H.; Veríssimo L. A. A.; Machado A. A. F.; Fontan G. C. R.; Bonomo R.C.F. Influence of meat type, addition of phosphate and texturized soy protein on weight loss by cooking and size reduction of hamburgers. *Foods and Nutrition*, Araraquara. **2011**, v. 22, n. 3, p. 429-434, jul./set.

Frozza, C. O.; Santos. D. A.; Rufatto L. C.; Minetto L.; Scariot F. J.; Echeverrigarayc S.; Piche C. T.; Moura S.; Padilha F. F.; Borsuk S.; Savegnago L.; Collares T.; Seixas F. K.; Dellagostin O.; Roesch-Elya M.; Henriques J. A. P. Antitumor activity of Brazilian red propolis fractions against Hep-2 cancer cell line. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. **2017**, v. 91, p. 951-963.

Gangolli S. D.; Brandt P. A.; Feron V. J.; Janzowsky C.; Koeman J. H.; Speijers G. J. A.; Spiegelhalder B.; Walker R.; Wishnok J. S. Nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. *European Journal of Pharmacology Environmental Toxicology and Pharmacology*. **1994**, Section 292, 1-38.

García M.L; Calvo Marta M.; Selgas M. Dolores. Beef hamburgers enriched in lycopene using dry tomato peel as an ingredient. *Meat Science*. **2009**, 83 45-49. doi:10.1016/j.meatsci.2009.03.009

Ghafouri-Oskuei H.; Javadi A.; Asla M. R.A.; Azadmard-Damirchic S.; Armine M. Quality properties of sausage incorporated with flaxseed and tomato powders. *Meat Science*. **2020**, 161, 107957. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107957>.

Greene B.E.; Cumuze T.H. Relationship between TBARS numbers and inexperienced panelists' assessments of oxidized flavour in cooked beef. *Journal Food Science*. **1981**; 47: 52-8.

Kumar Y.; Kairam N.; Ahmad T.; Yadav D. N. Physico chemical, microstructural and sensory characteristics of low-fat meat emulsion containing aloe gel as potential fat replacer. *International Journal of Food Science and Technology*. **2016**, 51, 309-316. doi:10.1111/ijfs.12957

Lorenzo J.M.; Pateiro M.; Fontán M. C. G.; Carballo J. Effect of fat content on physical, microbial, lipid and protein changes during chill storage of foal liver paté. *Food Chemistry*. **2014**, 155, 57–6.

Lorenzo, J. M.; Trindade, M. A.; Ahn, D. U.; Barba, F. J. Natural antioxidants to reduce the oxidation process of meat and meat products. *Food Research International*. **2019**, 115, 377-378.

Machado B.A.S.; Silva R.P.D.; Barreto G.A.; Costa S.S.; Silva D.F.; Brandão H.N. Chemical Composition and Biological Activity of Extracts Obtained by Supercritical Extraction and Ethanolic Extraction of Brown, Green and Red Propolis Derived from Different Geographic Regions in Brazil. *PLoS ONE*. **2016**, 11(1): e0145954. doi:10.1371/journal.pone.0145954

Mafra J. F.; Santana T. S.; Cruz A. I. C.; Ferreira M. A.; Miranda F. M.; Araújo F. M.; Ribeiro P. R.; Evangelista-Barreto N.S. Influence of red propolis on the physicochemical, microbiological and sensory characteristics of tilapia (*Oreochromis niloticus*) salami. *Food Chemistry*. **2022**, 394. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133502>

Manzoor A.; Dar A. H.; Pandey V. K.; Shams R.; Khan, S.; Panesar P. S.; Kennedy J. F; Fayaz U.; Khan S. A. Recent insights into polysaccharide-based hydrogels and their potential applications in food sector: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. **2022a**, 213, 987-1006.

Manzoor A.; Ahmada S.; Yousuf B. Effect of bioactive-rich mango peel extract on physicochemical, antioxidant and functional characteristics of chicken sausage. *Applied Food Research*. **2022b**, 2 10018. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100183>

Marti-Quijal F. J.; Remize F.; Meca G.; Ferrer E.; Ruiz M.-J.; Barba F. J. Fermentation in fish and by-products processing: An overview of current research and future prospects. *Current Opinion in Food Science*. **2020**, 31(1), 9-16. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.08.001>

Mendonça L.S.; Mendonça F. M. R.; Araújo Y. L. F. M.; Araújo E. D.; Ramalho S. A.; Narain N.; Jain S.; Orellana S.C.; Padilha F.F.; Cardoso J. C. Chemical markers and antifungal activity of red propolis from Sergipe, Brazil. *Food Science and Technology*. **2015**, Campinas, 35(2): 291-298.

Mirzoeva O. K.; Grishanin R. N.; Calder P. C. Antimicrobial action of propolis and some of its components: The effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbiological Research*. **1997**, v. 152, n. 3, p. 239-246, 1 september.

Møller and Leif H. Skibsted Nitric Oxide and Myoglobins Jens K. S. *Chemical Reviews*. **2002**, Vol. 102, No. 4. Doi.10.1021/cr000078y

Munekata P. E. S.; Rocchetti G.; Pateiro M.; Lucini L.; Domínguez R.; Lorenzo J. M. Addition of plant extracts to meat and meat products to extend shelf-life and health-promoting attributes: An overview. *Current Opinion in Food Science*. **2020**, 31, 81-87.

Nori, M. P.; Favaro-Trindade C.S.; Alencar S. M.; Thomazini M.; Balieiro J. C.; Contreras-Castillo C. J. Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. *LWT - Food Science and Technology*. **2011**, v. 44, n. 2, p. 429-435.

Ozogul Y & Uçar Y. The Effects of Natural Extracts on the Quality Changes of Frozen Chub Mackerel (*Scomber japonicus*) Burgers. *Food Bioprocess Technology*. **2013**. [http://doi. 6:1550-1560 DOI 10.1007/s11947-012-0794-9](http://doi.org/10.1007/s11947-012-0794-9)

Pateiro M.; Vargas F. C.; Chinchá A. A. I. A.; Sant'Ana A. S.; Strozzi I.; Rocchetti G.; Lorenzo, J. M. Guarana seed extracts as a useful strategy to extend the shelf life of pork burgers: UHPLC-ESI/QTOF phenolic profile and impact on microbial inactivation, lipid and protein oxidation and antioxidant capacity. *Food Research International*. **2018**, 114, 55-63. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.07.047>.

Pearson, D. Laboratory techniques for food analysis. Zaragoza: Acribia, **1976**. Chap.5, p.137-139: Index of oils and rancidity.

Piccinelli A. L. Lotti C.; Campone L.; Cuesta-Rubio O.; Fernandez M. C.; Rastrelli L. Cuban and Brazilian red propolis: Botanical origin and comparative analysis by high-performance liquid chromatography-photodiode array detection/ electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **2011**, v. 59, n. 12, p. 6484-6491.

Phillips W. E. J. Naturally Occurring Nitrate and Nitrite in Foods in Relation to Infant Methaemoglobinaemia. *Food and Cosmetic Toxicology*. **1971**, Vol. 9, pp. 219-228.

Re R.; Pellegrini N.; Proteggente A.; Pannala A.; Yang M.; Rice-Evans C. Antioxidant activity using an improved ABTS cation radical scavenging assay. *Free Radical Biology and Medicine*. **1999**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237.

Rosa T. A. M.; Degáspari C. H. Quantitative determination of nitrate and nitrite in Italian salami sausages sold in the city of colombo - Paraná. *Academic Vision*. **2013**, (4), 14. 10.5380/acd.v14i4.35108.

Rufatto L. C.; Santos D.A.; Marinho F.; Henriques J. A. P.; Ely M. R.; Moura S. Red propolis: Chemical composition and pharmacological activity. *Asian Pacific Journal Tropical Biomedicine*. **2017**, 7(7): 591–598. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.06.009>

Safari R.; Yosefian M. Changes in TVN (total volatile nitrogen) and psychrotrophic bacteria in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) caviar during processing and cold storage. *Journal of Applied Ichthyology*. **2006**, 22, 416-41.

Sebranek J. G.; Bacus J. N. Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues. *Meat Science*. **2007**, v. 77, p. 136- 147.

Silva N.; Junqueira V. C. A.; Silveira N. F. A.; Taniwaki M. H.; Gomes R. A.R.; Okazaki M. M. *Manual of methods for microbiological analysis of food and water*. **2017**, 5^a ed. - São Paulo: Blucher.

Singleton V. L.; Orthofer R.; Lamuela-Raventós R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants using the folin-ciocalteu reagent. Em Lester Packer (Ed.). *Methods in Enzymology*. **1999**, pp. 152-178. Imprensa Académica.

Schwert R.; Verlindo R.; Soares J. M.; Silva P. F.; Cansian R. L.; Steffens C. Effect of liquid smoke extract on the oxidative stability, benzopyrene and sensory quality of Calabrian sausage. *Current Nutrition & Food Science*. **2020**, 16(3), 343- 353. <https://doi.org/10.2174/1573401315666190126120749>

Vargas-Sanchez P. R. D.; Torrescano-Urrutia G. R, Félix E. A.; Carvajal-Millan E.; Gonzalez-Cordova A. F.; Vallejo-Galland B.; Torres-Llanez M. J.; Sanchez-Escalante A. Antioxidant and Antimicrobial Activity of Commercial Propolis Extract in Beef. *Journal of Food Science*. **2014**, C1499, Vol. 79, Nr. 8. doi: 10.1111/1750-3841.12533.

Vedovatto, E., Steffens, C., Cansian, R. L., Backes, G. T., & Verlindo, R. Evaluation of different starter cultures in the preparation of Italian-style salami. *Brazilian Animal Science*. **2019**, 20. 10.1590/1809-6891v20e-47777.

Vicentini-Polette C. M.V.; Ramos P.R.; Gonçalves C.B.; Oliveira A. L. Determination of free fatty acids in crude vegetable oil samples obtained by high-pressure processes. *Food Chemistry*. **2021**.: X 12. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2021.100166>

Villanueva N.D.M.; Trindade M.A. Estimating the sensory shelf life of chocolate and carrot cupcakes using acceptance tests. *Journal of Sensory Studies*. **2010**, s, v.25, 260-279.

Viuda-Martos M.; Ruiz-Navajas Y.; Fernández-López J.; Pérez-Álvarez J. A. Funcional proprieties of honey, propolis and royal jelly. *Journal of Food Science*. **2008**, v. 73, n. 9, p. R117-R124, 1 november.

Vyncke, W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in thricloracetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. *Fette Seifen Anstrichmittel, Leinfelden*. **1970**, v.72, n.12, p.1084-1087. <https://doi.org/10.1002/lipi.19700721218>

6. CAPÍTULO 3 - DIFERENTES PROCESSOS DE DESOSSA E MATURAÇÃO E SUA INFLUÊNCIA NOS PARÂMETROS DE QUALIDADE DE CORTES DE CARNE DE CORDEIRO

RESUMO

A maciez é um dos atributos mais importantes para o consumidor no momento de decisão de compra e consumo de carne. No intuito de investigar a maciez da carne de cordeiro, três cortes, sendo eles, coxão duro (*músculo gluteobiceps*), patinho (*músculoquadriceps femoral*) e lagarto (*músculo semitendinoso*), foram submetidos a cinco tratamentos, a saber: resfriamento padrão com desossa após 24 horas (RPD24); desossa a quente seguida de resfriamento com gelo (DQRCG); desossa a quente seguida de resfriamento sem gelo (DQRSG); resfriamento padrão com desossa após 24 horas, seguida de maturação por 7 dias (RPDM7) e resfriamento padrão com desossa após 24 horas, seguida de maturação por 14 dias (RPDM14). Para tanto, foram utilizados 50 machos cruzados das raças Santa Inês e Dorper, com 6 meses de idade e peso médio de 47 kg, que foram abatidos e suas meias carcaças foram utilizadas para obtenção das 50 amostras de cada corte. As análises realizadas foram: composição centesimal, cor objetiva, força de cisalhamento Warner-Bratzler (FC), índice defragmentação Miofibrilar (IFM), comprimento de sarcômero (CS) e a Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Os resultados obtidos para o corte coxão duro mostrou melhores valores em PPC e RMN (Carnosina e Lactato alto – indicador de maciez) no tratamento DQRCG; já nos parâmetros de FC e IFM os melhores tratamentos foram os RPDM7 e RPDM14. Para o corte lagarto os resultados de IFM, FC os melhores tratamentos foram os RPDM7 e RPDM14, PCC o tratamento DQRSG e RMN o tratamento RPDM7. Para o corte patinho os resultados de IFM, FC os melhores tratamentos foram os RPDM7 e RPDM14, e RMN o tratamento RPDM14. Portanto, as variações nas formas de desossa, resfriamento e maturação mostraram que cada corte tem uma resposta diferente para cada tratamento no quesito maciez, porém, os tratamentos que deram melhores resultados de forma geral foram os RPDM7 e RPDM14.

Palavras-chave: força de cisalhamento, comprimento de sarcômero, RMN, IFM

ABSTRACT

Tenderness is one of the most important attributes for the consumer when deciding to buy and consume meat. In order to investigate the tenderness of lamb meat, three cuts, namely hard drumstick (gluteobiceps muscle), duckling (quadriceps femoris muscle) and lizard (semitendinosus muscle), were subjected to five treatments, namely: Standard cooling with deboning after 24 hours (RPD24); hot deboning followed by cooling with ice (DQRCG); hot deboning followed by cooling without ice (DQRSG); standard cooling with deboning after 24 hours, followed by maturation for 7 days (RPDM7) and standard cooling with deboning after 24 hours, followed by maturation for 14 days (RPDM14). For this purpose, 50 crossbred males of the Santa Ines and Dorper breeds, aged 6 months and weighing 47 kg on average, were slaughtered and their half carcasses were used to obtain the 50 samples of each cut. The analyzes performed were: centesimal composition, objective color, Warner-Bratzler shear force (FC), Myofibrillar fragmentation index (MFI), sarcomere length (SC) and Nuclear Magnetic Resonance (NMR). The results obtained for the hard drumstick cut showed better values in PPC and NMR (Carnosine and high lactate - indicator of tenderness) in the DQRCG treatment, while in the parameters of FC and IFM the best treatments were RPDM7 and RPDM14. For the lizard cut the results of MFI, CF the best treatments were RPDM7 and RPDM14, PCC the DQRSG treatment and NMR the RPDM7 treatment. For the duckling cut the results of MFI, CF the best treatments were RPDM7 and RPDM14, and NMR the RPDM14 treatment. Therefore, the variations in the forms of deboning, cooling and maturation showed that each cut has a different response to each treatment in terms of tenderness, however, the treatments that gave better results in general were RPDM7 and RPDM14.

Keywords: shear force, sarcomere length, NMR, MFI

6.1. INTRODUÇÃO

A carne de cordeiro é uma das várias opções de carne disponíveis no mercado atualmente. É uma ótima opção de consumo, pois, contém nutrientes importantes, como proteínas, ácidos graxos, vitaminas e minerais, como ferro, zinco e selênio, que contribuem com a saúde humana (Fowler, Morris e Hopkins 2019). Apesar de não ser a primeira escolha para o consumo diário nas mesas brasileiras, por seu preço de venda, sabor e aromas peculiares é bastante estudada, justamente, para que aumente a sua produção, consumo, e caia no gosto do brasileiro. Para tanto, entender, estudar, avaliar todas as etapas do pré-abate, pós abate e processamento são necessárias, pois, elas influenciam na qualidade da carne e nas suas características sensoriais e nutricionais. A avaliação da qualidade da carne ovina envolve estudos sobre cor, características físicas e químicas, além de atributos sensoriais como aroma, maciez e sabor (Alves et al., 2014).

A maciez é ponto principal em questão e para compreender como ela acontece é preciso iniciar no pós-abate, pois, é onde ocorre o estabelecimento do *rigor mortis* com alterações bioquímicas e físico-químicas no músculo esquelético e posterior estágio de maturação. Dessa forma, ao submeter o músculo, nas primeiras dez horas após o abate, a temperaturas muito baixas (inferiores a 10 °C) quando ainda não se estabeleceu o *rigor mortis*, ocorre aceleração do metabolismo e contração do tecido muscular, com encurtamento das fibras (encurtamento pelo frio), reduzindo a maciez da carne (Olsson et al., 1994). No processo de maturação, com efeito de enzimas cálcio-dependentes na carne, a calpaína é responsável por parte da proteólise pós morte e induz um aumento progressivo na maciez (Koochmaraie et al., 1989) e a calpastatina é um inibidor de proteinase específico da calpaína (Cong et al., 1998). Assim, com a liberação de íons Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático no período *post mortem*, há maior estímulo das calpaínas e consequente aumento da maciez da carne durante o processo de maturação.

Diferentes métodos têm sido utilizados por cientistas da carne para quantificar estas propriedades texturais. A força de cisalhamento é o método primário utilizado para quantificar objetivamente a maciez da carne vermelha devido ao menor custo e rapidez (Holman; Fowler; Hopkins, 2016). Além dele, há outras formas de avaliar as características de maciez e textura da carne.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de diferentes processos de desossa e tempos de maturação sobre a maciez de três cortes de carne ovina pouco estudados: coxão duro (músculo *gluteobiceps*), patinho (músculo *quadriceps femoral*) e lagarto (músculo *Semitendinoso*). Buscou-se ainda relacionar os resultados de maciez obtidos utilizando as ferramentas comumente

aplicadas (força de cisalhamento Warner-Bratzler, índice de fragmentação miofibrilar e comprimento de sarcômero) com os resultados obtidos por ressonância magnética nuclear.

6.2. MATERIAL E MÉTODOS

6.2.1. Preparação das amostras

Após aprovação do experimento pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (n°3657171218), foram confinados 50 cordeiros machos cruzados das raças Santa Inês e Dorper, nas dependências do setor de Ovinocultura do Campus FernandoCosta da USP- Pirassununga. A idade inicial dos animais em confinamento foi de 80

± 10 dias, peso corporal inicial de 30 ± 5 kg, e mantidos em confinamento por um período de 50 dias, com sombra e água à vontade. Com ganho de peso médio diário de $0,340$ kg e peso final para abate de 47 ± 5 kg. Tiveram acesso ao leite materno, do nascimento à desmama, e ao concentrado do sistema de *creep feeding* e durante o confinamento a nutrição foi por dieta total. Os animais foram abatidos no Abatedouro do Campus da USP- Fernando Costa em Pirassununga, que é um estabelecimento inspecionado pelo SISP (Serviço de Inspeção do Estado de São Paulo). Dessa forma, o abate transcorreu conforme procedimentos humanitários (Brasil, 2021), os cortes obtidos para serem utilizados neste estudo foram: coxão duro (*músculo gluteobiceps*), patinho (*músculo quadriceps femoral*) e lagarto (*músculo semitendinoso*). Os músculos citados foram obtidos dos 50 animais, sendo submetidos a cinco diferentes tratamentos, variando o momento da desossa, a forma de resfriamento e/ou o tempo de maturação, conforme descrito a seguir:

Resfriamento padrão e desossa das carcaças após 24 horas (RPD24): Os dez animais abatidos foram acondicionados em câmara de resfriamento a 3°C por 24 horas e desossados. As amostras foram coletadas, identificadas e embaladas à vácuo, congeladas a -18°C , para posterior análise.

Desossa a quente seguida de resfriamento com gelo (DQRCG): Os dez animais foram abatidos e desossados a quente logo após o abate, sem passar por resfriamento. As amostras foram coletadas, identificadas e embaladas à vácuo e acondicionadas em caixas térmicas com gelo e água a 0°C permanecendo por duas horas, em seguida congeladas a -18°C , para posterior análise.

Desossa a quente seguida de resfriamento sem gelo (DQRSG): Os dez animais foram abatidos e desossados a quente logo após o abate, sem passar por resfriamento. As amostras foram coletadas, identificadas e embaladas à vácuo e congeladas a -18°C , para posterior análise.

Resfriamento padrão e desossa das carcaças após 24 horas e maturação por 7 dias (RPDM7): Os dez animais abatidos foram acondicionados em câmara de resfriamento a 3°C por 24 horas e

desossados. As amostras foram coletadas, identificadas e embaladas à vácuo e maturadas a 4 °C por um período de 7 dias. Em seguida foram congeladas a -18°C, para posterior análise.

Resfriamento padrão e desossa das carcaças após 24 horas e maturação por 14 dias (RPDM14): Os dez animais abatidos foram acondicionados em câmara de resfriamento a 3°C por 24 horas e desossados. As amostras foram coletadas, identificadas e embaladas à vácuo e maturadas a 4 °C por um período de 14 dias. Em seguida foram congeladas a -18°C, para posterior análise.

6.3. Análises físico-químicas e bioquímicas

6.3.1. Composição Centesimal

No cálculo da composição centesimal foi usada a metodologia oficial da AOAC (2007) para determinar umidade (950.46), resíduo mineral fixo (920.153) e proteínas (928.08). O teor de lipídeos foi determinado pelo método de Bligh & Dyer (1959).

6.3.2. Perda de peso por Cocção

Para análise de perda de peso por cocção as amostras foram retiradas do freezer a -18°C para descongelamento 1 dia antes realização das análises. As amostras embaladas foram acondicionadas em recipientes plásticos identificados e posteriormente em geladeira a 4°C para serem descongeladas. Pesou-se todas as amostras antes do fornecimento em forno elétrico (Philco modelo PFE48P) e posteriormente foram submetidas a 180°C e retiradas quando o centro geométrico da peça atingiu 72°C. Ao serem retiradas do forno, aguardou-se que a temperatura interna da peça chegasse a 25°C e foram pesadas novamente. O cálculo de % de perda foi feito utilizando a fórmula abaixo:

$$\% \text{ Perda de peso por cocção} = \frac{(\text{Massa inicial} - \text{Massa final}) \times 100}{\text{Massa inicial}}$$

6.3.3. Força de cisalhamento (FC)

Após a análise de perda por cocção as amostras foram preparadas para análise de força de cisalhamento com a probe semelhante ao Warner-Bratzler Shear Force. Após terem sido assadas, as amostras foram cortadas em 10 paralelepípedos no sentido paralelo às fibras musculares,

evitando partes com tecido conjuntivo, com área da seção transversal de 1 cm², e analisadas no texturômetro TA.XT Plus (Stable Micro Systems, Surrey, Inglaterra). Este estava acoplado à probe em formato de lâmina de aço inoxidável com ângulo de corte de 60°, espessura 1,01 mm, comprimento 64,94 mm e largura 44,90 mm, movendo-se a uma velocidade de 250 mm/min na direção descendente, até rompimento completo da amostra na direção perpendicular às fibras. A força de cisalhamento foi determinada pela força máxima da curva gerada pelo software.

6.3.4. Comprimento de sarcômero

O comprimento de sarcômero foi obtido por difração a laser, foi realizada conforme Cross et al. (1981) e Koolmees et al. (1986). O equipamento utilizado foi o Laser Ligth Avoid Direct Exposure Classe IIIa Laser Product (CDRH) Modelo: Classe 3R Laser Product (IEC) 5mW Maximum at 632.8 nm, com suporte para lâmina e orifício de passagem de feixe de laser através das lâminas. A lâmina com as fibras foi colocada sob o laser e anotaram-se 6 comprimentos de sarcômero de cada fibra.

6.3.5. Índice de fragmentação Miofibrilar

O índice de fragmentação miofibrilar (IFM) foi determinado de acordo com Culler et al. (1978) com modificações: a concentração de proteína foi determinada pelo método do biureto (Gornall et al., 1949). Uma alíquota da suspensão de miofibrilas foi diluída com a solução de extração até uma concentração proteica de $0,5 \pm 0,05$ mg/mL. A suspensão diluída de miofibrilas foi agitada e colocada em cubeta para leitura da densidade ótica a 540 nm em espectrofotômetro (Biospectro SP-22).

6.3.6. Ressonância Magnética Nuclear por espectrometria (¹H RMN)

Os espectros de RMN de alto campo foram obtidos no Laboratório de RMN do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás, utilizando um espectrômetro Bruker Avance III 500 11.75 T (500,13 MHz para o ¹H) e Bruker Avance III 600 de 14.1 T (600.13 MHz para ¹H). O laboratório está equipado com sondas TBI de tripla ressonância (¹H, ¹³C e XBB) para análises de amostras em solução e sondas HR-MAS de tripla ressonância (¹H, ¹³C e ³¹P), para análises de amostras heterogêneas. Para as análises, 200 mg de carne foram moídas e homogeneizadas em um equipamento Fast-Prep. Um mililitro da solução foi transferido para um microtubo e

centrifugado (10.000 rpm). Uma alíquota do sobrenadante foi transferida para um novo microtubo de centrifuga contendo CDCl_3 . As amostras foram, então, individualmente homogeneizadas em vórtex e centrifugadas (10.000 rpm). Uma alíquota do sobrenadante foi transferida para o tubo de RMN e adicionada uma solução tampão de fosfato de potássio em D_2O mais sal de sódio do ácido propiônico -2,2,3,3- d_4 , utilizada como conservante. Os sinais dos espectros das amostras foram utilizados na quantificação dos metabólitos e calibração do espectro. Esse procedimento foi adaptado da metodologia proposta por Soglia et al. (2019) e segue os protocolos estabelecidos na literatura.

6.3.7. Análises estatísticas

Análises de variância (ANOVA) foram realizadas para comparar os dados de todas as análises físico-químicas, com o tratamento como fonte de variação. Para dados, utilizou-se o software SISVAR, com a ANOVA e teste de Tukey ($P < 0,05$) foi utilizado para comparar as médias quando foram observadas diferenças entre os tratamentos. Os espectros de RMN foram processados e a linha de base e a fase foram ajustadas utilizando-se o software TopSpin 3.1. Os compostos foram identificados com o banco de dados HMDB.

6.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.5. Análises físico-químicas e bioquímicas

6.5.1. Composição Centesimal

A composição centesimal das amostras nos cinco tratamentos está descrita na Tabela 1. O corte coxão duro apresentou diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos em relação à umidade, gordura e cinzas. O corte lagarto (*músculo semitendinoso*) apresentou diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos em umidade, proteína e cinzas. O corte patinho apresentou diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos em umidade, gordura e cinzas. Os valores apresentados de todos os cortes estão próximos ao padrão para carne, segundo Zeola et al. (2004), que apresentaram valores médios gerais de: umidade 75%, Proteína 19%, Gordura 4% e Cinzas 1,1%. Carvalho et al. (2022) em seus estudos com cordeiros da raça Santa Inês alimentados com silagem, obtiveram os seguintes resultados para o corte cárneo lombo: Umidade: 72,5% e Proteína: 20%., semelhantes, na composição centesimal, aos desse trabalho para os cortes coxão duro e patinho. Os valores obtidos para o corte lagarto em relação a umidade

diferiu ($P < 0,05$) em todos os tratamentos (DQRCG, DQRSG, RPDM7 vs 67,90; 66,61; 66,12 respectivamente) sugerindo que houve influência direta nos processamentos pós-abate aplicados no experimento.

Tabela 1. Composição centesimal dos cortes de carne de cordeiro nos cinco tratamentos pós-abate.

	Tratamentos					EP	Sig
	RPD24	DQRCG	DQRSG	RPDM7	RPDM14		
	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10		
<i>Coxão Duro</i>							
Umidade	70,24a	71,19b	71,17ab	71,48ab	71,65ab	0,3471	*
Proteína	23,34	24,85	24,36	24,21	25,65	0,7005	ns
Gordura	3,89ab	3,51a	3,46a	5,49b	4,57ab	0,4350	*
Cinzas	0,82a	0,85b	0,84ab	0,92c	0,84ab	0,0069	*
<i>Lagarto</i>							
Umidade	68,61c	67,90ab	66,61ab	66,12a	71,16d	0,3471	*
Proteína	22,30ab	23,36b	19,54a	21,57ab	23,04b	0,7005	*
Gordura	3,30	3,71	3,41	2,78	3,18	0,4350	ns
Cinzas	0,88e	0,75b	0,85d	0,80c	0,70a	0,0069	*
<i>Patinho</i>							
Umidade	72,81b	70,92a	71,76ab	71,80ab	71,48ab	0,3471	*
Proteína	23,64	22,80	23,94	22,73	24,78	0,7005	ns
Gordura	3,31a	5,42b	5,04ab	3,57a	3,51a	0,4350	*
Cinzas	0,83ab	0,80a	0,89c	0,82ab	0,84b	0,0069	*

a-e: Valores médios na mesma linha com letras diferentes indicam diferença significativa; SE: Erro padrão; Sig.: significado; n.s.: não significativo; . (Teste de Tukey- * $P < 0,05$). RPD24 (Resfriamento padrão e desossa das carcaças após 24 horas); DQRCG (Desossa a quente seguida de resfriamento com gelo); DQRSG (Desossa a quente seguida de resfriamento sem gelo); M7 (Resfriamento padrão e desossa das carcaças após 24 horas e maturação por 7 dias) e M14 (Resfriamento padrão e desossa das carcaças após 24 horas e maturação por 14 dias).

6.5.2. Perda por cocção (PPC), Força de cisalhamento (FC), Comprimento de Sarcômero (CS) e Índice de Fragmentação Miofibrilar (IFM)

Os valores de PPC (Tabela 2) indicam que não houve diferença ($P < 0,05$) para o corte PT entre os tratamentos. Já para o corte CXD e LG a perda por cocção variou de 24,42% a 32,00% e

24,63% a 31,03%, respectivamente, sendo que os maiores valores de perda foram no tratamento RPDM7. Isto pode ter ocorrido porque os músculos que ficaram mais tempo maturando apresentarem perdas de água livre maiores, caracterizando uma maior perda após o cozimento. Resultados semelhantes aos do tratamento RPDM7, entre 31,60% a 33,56 %, de perda por cocção em cortes de cordeiro foram encontrados por Lunesu et al. (2023) em condições normais de processamento pós-abate.

O IFM dos cortes CXD, LG e PT apresentaram valores com diferença ($P < 0,05$) em todos os tratamentos. Em todos os cortes os valores foram aumentando gradativamente e conforme ocorria o aumento gradativo de fragmentação das miofibrilas com o processo de maturação. Segundo Gonçalves et al. (2004), o IFM tem a tendência em variar conforme a espécie animal, além disso, cita que o amaciamento da carne é um fator importante, mas o gradativo aumento deste índice após a morte do animal é de extrema importância. Considera-se satisfatória para a textura da carne valores de IFM acima de 60 (Culler et al., 1978), no entanto, percebe-se neste trabalho conforme Tabela 3, todos os valores apresentados estão abaixo de 60, pois, os cortes estudados são considerados de não nobres e na literatura não há estudos sobre eles.

Os resultados apresentados na Tabela 2 para comprimento de sarcômero mostram diferença ($P < 0,05$) em todos os tratamentos para os três cortes. Para o corte CXD o CS com maior valor foi o do tratamento RPDM14. O corte LG mostrou valores de CS semelhantes para os tratamentos RPD24, RPDM7 RPDM14e para o corte PT os melhores tratamentos foram RPD24 e RPDM14. Avaliando-se a textura das amostras com base no CS, as amostras consideradas moderadamente macias estão entre os valores 1,7 a 2,0 μm . Pôde ser observado aqueles valores apenas nos tratamentos onde houve maturação 7 e 14 dias e naquele onde aconteceu a desossa na carcaça resfriada após 24 horas (RPD24), confirmando que esse método utilizado comumente na maiores dos abatedouros frigoríficos é o mais indicado para a maciez quando se fala em CS.

A Força de Cisalhamento, conforme resultados apresentados na Tabela 2, apresentaram diferença ($P < 0,05$) em todos os tratamentos para os três cortes estudados: CXD, LG e PT. Porém, os valores menores de FC para todos os cortes foram nos tratamentos onde já era previsto, ou seja, nos quais houve maturação de 7 e 14 dias. Já nos tratamentos onde houve a exposição da carne a temperaturas mais baixas após a desossa a quente houve o encurtamento do sarcômero (Olsson et al., 1994) e obteve-se carne mais duras, corroborando com valores de IFM maiores onde houve a degradação das proteínas miofibrilares (Veiseth et al., 2004).

Tabela 2 – Força de cisalhamento Warner-Bratzler (FC), perda por cocção (PPC), comprimento do sarcômero (CS) e índice de fragmentação miofibrilar (IFM) de cortes de carne de cordeiro submetidos a diferentes tratamentos pós-abate.

Corte	Tratamentos					EP	Sig
	RPD24 n=10	DQRCG n=10	DQRSG n=10	RPDM7 n=10	RPDM14 n=10		
<i>PPC%</i>							
CXD	27,90ab	24,42a	28,07ab	32,00b	29,67ab	1,5741	*
LG	25,77ab	27,33ab	24,63a	31,03b	26,41ab	1,5741	*
PT	33,03	30,69	31,48	33,47	33,54	1,5741	ns
<i>IFM</i>							
CXD	40,51a	50,54b	44,38a	54,99bc	57,43c	1,5178	*
LG	28,41a	20,52a	31,95b	40,14c	40,13c	1,5178	*
PT	40,11ab	37,65a	44,40bc	45,10bc	46,54c	1,5178	*
<i>CS (μm)</i>							
CXD	1,49ab	1,38a	1,47ab	1,51ab	1,54b	0,0385	*
LG	1,78b	1,43a	1,48a	1,81b	1,82b	0,0385	*
PT	1,57b	1,36a	1,48ab	1,56b	1,49ab	0,0385	*
<i>FC (N)</i>							
CXD	31,93b	35,39b	28,23b	19,04a	17,89a	1,9345	*
LG	35,67b	59,24c	38,25b	32,50ab	26,26a	1,9345	*
PT	28,23b	48,05c	29,98b	18,71a	17,09a	1,9345	*

a-b : Valores médios na mesma linha com letras diferentes indicam diferença significativa; EP: Erro padrão; Sig.: significado; n.s.: não significativo; * $P < 0,05$. (Teste de Tukey). RPD24 (Resfriamento padrão e desossa das carcaças após 24 horas); DQRCG (Desossa a quente seguida de resfriamento com gelo); DQRSG (Desossa a quente seguida de resfriamento sem gelo); M7 (Resfriamento padrão e desossa das carcaças após 24 horas e maturação por 7 dias) e M14 (Resfriamento padrão e desossa das carcaças após 24 horas e maturação por 14 dias). Cortes: CXD (Coxão Duro); LG (Lagarto) e PT(Patinho).

6.6. Identificação e quantificação de espectros de RMN

6.6.1. Coxão Duro (*músculo gluteobiceps*)

As concentrações médias estão divididas por aminoácidos essenciais, metabólitos abundantes em carne (carnosina e anserina) e ácidos orgânicos e niacinamida.

Identificou-se e quantificou-se 12 metabólitos encontrados no corte CXD e que estão relatados na Tabela 3. Dos aminoácidos livres presentes e quantificados a alanina, não apresentou diferença significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos. Já a valina e isoleucina apresentaram

diferença significativa ($P < 0,05$) evidenciando que a maior concentração presente de aminoácidos livres foi no tratamento onde o corte CXD foi maturado por 14 dias.

A carnosina e anserina são compostos de histidina que possuem propriedades antioxidantes e tamponantes. Valores maiores de carnosina são normalmente encontrados em músculos com maior proporção de fibras brancas (Purchas et al., 2004). Porque onde há acúmulo de ácido láctico por atividade metabólica anaeróbica, a carnosina entra com sua ação tampão (Purchas et al., 2004). Os resultados deste trabalho no corte CXD apresentaram diferenças ($P < 0,05$) entre todos os tratamentos, ressaltando que o maior (28,20 mg/ 0,1 g de carne) valor encontrado foi na desossa a quente e resfriamento com gelo. Samuelsson et al. (2022) que avaliaram corte de carne de cordeiro encontraram valores diferentes daqueles achados neste trabalho, uma média de 10,5 $\mu\text{mol/g}$ de carne de carnosina. Da mesma forma, Antonelo et al. (2020) que ao avaliarem corte de bovinos encontraram, em média 12,97 $\mu\text{mol/g}$ de carne para carnosina, metabólito este que foi correlacionado fortemente com maciez.

Quando se trata dos compostos que participam do metabolismo energético, o mais abundante encontrado é o lactato, que está presente no músculo após abate, pois é um subproduto da quebra do glicogênio no ambiente anaeróbico. Nos tratamentos o comportamento do lactato apresentou diferenças ($P < 0,05$), sendo o valor mais expressivo (115,73 mg/0,1 g de carne) no tratamento de desossa a quente e resfriamento com gelo posterior. Ao verificar os valores (30,39 N) da FC e de comprimento de sarcômero (1,38 μm), deste corte neste mesmo tratamento citado, percebe-se que este indicador de maciez não corrobora com teor de lactato que Grajales-Lagunes et al. (2012) cita, que quanto maior o teor de lactato maior a maciez da carne. Sugerindo que somente o teor de lactato não é indicador determinante para classificação de um corte como macio

Tabela 3 – Identificação e quantificação de espectros de RMN do Coxão Duro

RMN	Tratamentos					EP	Sig
	RPD24 n=10	DQRCG n=10	DQRSG n=10	RPDM7 n=10	RPDM14 n=10		
Aminoácidos livres (mg/0,1g de carne)							
Alanina	2,16	4,79	2,38	3,40	4,84	0,7079	ns
Valina	0,52a	1,14ab	0,57a	1,36ab	2,10b	0,2832	*
Isoleucina	0,38a	0,84ab	0,39a	0,90ab	1,42b	0,2041	*
Compostos contendo histidina (mg/0,1g de carne)							
Carnosina	11,87a	28,20b	11,48a	18,67ab	18,16ab	3,7652	*
Anserina	24,21a	56,93b	28,44ab	36,29ab	38,81ab	7,2987	*
Metabólitos – Metabolismo energético (mg/0,1g de carne)							

Creatina	30,88a	68,09b	35,97ab	40,37ab	42,25ab	8,2730	*
Lactato	53,90ab	115,73b	52,61a	66,82ab	70,90ab	1,5498	*
Hipoxantina	5,84a	11,10b	7,03ab	7,40ab	8,39ab	1,2374	*
AMP	16,02a	38,08b	18,57ab	23,00ab	26,77ab	4,9249	*
IMP	6,95ab	14,16b	8,64ab	5,89a	4,32a	1,8071	*
Metabólitos – Outros compostos (mg/0,1g de de carne)							
Niacinamida	0,47a	1,11b	0,58ab	0,65ab	0,84ab	0,1550	*
Acetato	0,26a	0,48ab	0,27a	0,56ab	0,78b	0,0931	*

a-b : Valores médios na mesma linha com letras diferentes indicam diferença significativa; EP: Erro padrão; Sig.: significado; n.s.: não significativo; * $P < 0,05$. (Teste de Tukey). RPD24 (Resfriamento padrão e desossa das carcaças após 24 horas); DQRCG (Desossa a quente seguida de resfriamento com gelo); DQRSG (Desossa a quente seguida de resfriamento sem gelo); M7 (Resfriamento padrão e desossa das carcaças após 24 horas e maturação por 7 dias) e M14 (Resfriamento padrão e desossa das carcaças após 24 horas e maturação por 14 dias).

6.6.2. Lagarto (*músculo semitendinoso*)

Para o corte LG os 12 metabólitos encontrados e identificados estão relatados na Tabela 4. Dos aminoácidos livres presentes e quantificados todos apresentaram diferença significativa ($P < 0,05$) evidenciando que a maior concentração presente de aminoácidos livres foi no tratamento onde o corte LG passou por processo de maturação por 14 dias.

Os resultados encontrados de carnosina e anserina no corte LG apresentaram diferenças ($P < 0,05$) entre todos os tratamentos. O maior valor encontrado (21,20 mg/0,1 g de carne) foi no tratamento com maturação de 7 dias. Silva et al. (2023) e Kodani et al. (2017) em seus experimentos encontraram valores diferentes para carnosina em cortes bovinos (12,83 mg/0,1 g de carne).

Os compostos que participam do metabolismo energético que foram encontrados são o lactato, creatina, IMP e AMP que é um subproduto da quebra do glicogênio no ambiente anaeróbico, após abate, apresentados na Tabela 4. Estes resultados mostram diferenças significativas entre os tratamentos para o corte LG no tratamento maturado por 7 dias. Segundo D'Alessandro et al. (2012) quanto maior o teor de lactato maior a maciez da carne, portanto, para o corte LG a FC obtida foi a menor (35,50 N) entre os tratamentos e de comprimento de sarcômero (0,655 μm) maiores, confirmando que o tratamento com maiores índices de maciez é o maturado por 7 dias.

Tabela 4 – Identificação e quantificação de espectros de RMN Lagarto

RMN	Tratamentos					EP	Sig
	RPD24 n=10	DQRCG n=10	DQRSG n=10	RPDM7 n=10	RPDM14 n=10		
Aminoácidos livres (mg/100 g de carne)							
Alanina	2,57a	3,26ab	2,29a	4,00ab	4,81b	0,4390	*
Valina	0,67a	0,93a	0,60a	1,43ab	1,93b	0,2133	*
Isoleucina	0,53a	0,75a	0,45a	1,07ab	1,46b	0,1599	*
Compostos contendo histidina (mg/100 g de carne)							
Carnosina	11,11a	18,00ab	11,57ab	21,20b	17,16ab	2,4556	*
Anserina	24,44a	37,88ab	23,25a	44,09b	37,97ab	4,7096	*
Metabólitos – Metabolismo energético (mg/100 g de carne)							
Creatina	38,32ab	49,84ab	30,25a	56,07b	46,32ab	5,5833	*
Lactato	63,51ab	86,48ab	51,04a	91,74b	78,84ab	9,4108	*
Hipoxantina	6,81ab	8,43ab	5,41a	9,91b	8,78ab	0,9871	*
AMP	16,66a	25,62ab	15,82a	29,38b	27,10ab	3,4150	*
IMP	7,19ab	8,57b	3,39ab	3,43ab	2,61a	1,4444	*
Metabólitos – Outros compostos (mg/100 g de carne)							
Acetato	0,38a	0,39ab	0,34a	0,74bc	0,76c	0,0855	*
Niacinamida	0,70ab	0,95ab	0,50a	1,01b	1,01b	0,1224	*

a-c : Valores médios na mesma linha com letras diferentes indicam diferença significativa; SE: Erro padrão; Sig.: significado; n.s.: não significativo; * $P < 0,05$. (Teste de Tukey). RPD24 (Resfriamento padrão e desossa das carcaças após 24 horas); DQRCG (Desossa a quente seguida de resfriamento com gelo); DQRSG (Desossa a quente seguida de resfriamento sem gelo); M7 (Resfriamento padrão e desossa das carcaças após 24 horas e maturação por 7 dias) e M14 (Resfriamento padrão e desossa das carcaças após 24 horas e maturação por 14 dias).

6.6.3. Patinho (*músculo quadriceps femoral*)

A identificação e quantificação das concentrações dos doze metabólitos do corte PT estão relatados na Tabela 5. Dos aminoácidos livres presentes, a isoleucina não apresentou diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos. Os aminoácidos alanina e valina e apresentaram diferenças ($P < 0,05$) evidenciando que a maior concentração presente de aminoácidos livres foi no tratamento onde o corte LG passou por processo de maturação por 7 dias.

Os resultados de carnosina para o corte PT não apresentaram diferenças ($P > 0,05$) entre os tratamentos. Dentre os compostos que participam do metabolismo energético todos os metabólitos: lactato, creatina, IMP, AMP e Hipoxantina apresentaram valores maiores para o

tratamento de desossa a quente e resfriamento sem gelo. Ao observar o menor valor da FC obtida para o corte LG (17,09 N) e maior IFM (46,54), confirmando que o tratamento com maiores índices de maciez é o maturado por 14 dias, pois, quanto maior o teor de lactato maior a maciez da carne (D'Alessandro et al., 2012; Grajales-Lagunes et al., 2012).

Tabela 5 – Identificação e quantificação de espectros de RMN Patinho

RMN	Tratamentos					EP	Sig
	RPD24 n=10	DQRCG n=10	DQRSG n=10	RPDM7 n=10	RPDM14 n=10		
Aminoácidos livres (mg/100 g de carne)							
Alanina	2,14a	2,34ab	3,95c	3,68bc	3,00abc	0,3758	*
Valina	0,41a	0,50ab	0,89abc	1,12bc	1,19c	0,1694	*
Isoleucina	0,36	0,38	0,62	0,84	0,75	0,1211	ns
Compostos contendo histidina (mg/100 g de carne)							
Carnosina	6,23	8,33	13,52	13,41	6,88	2,0657	ns
Anserina	14,25a	17,71ab	33,45b	26,80ab	13,56a	4,7079	*
Metabólitos – Metabolismo energético (mg/100 g de carne)							
Creatina	26,38a	30,72a	52,00b	42,37ab	26,05a	5,0714	*
Lactato	38,61a	44,69ab	74,95b	54,85ab	33,96a	7,9094	*
Hipoxantina	4,44a	5,96abc	8,35c	7,89bc	5,18ab	0,7596	*
IMP	7,05bc	8,08c	8,07c	2,56ab	0,33a	1,2960	*
AMP	10,09a	12,50ab	25,67b	18,88ab	10,70a	3,5505	*
Metabólitos – Outros compostos (mg/100 g de carne)							
Acetato	0,28a	0,22a	0,44ab	0,61b	0,49ab	0,0717	*
Niacinamida	0,50	0,59	0,75	0,95	0,40	0,1395	ns

a-c: Valores médios na mesma linha com letras diferentes indicam diferença significativa; SE: Erro padrão; Sig.: significado; n.s.: não significativo; * $P < 0,05$. (Teste de Tukey). RPD24 (Resfriamento padrão e desossa das carcaças após 24 horas); DQRCG (Desossa a quente seguida de resfriamento com gelo); DQRSG (Desossa a quente seguida de resfriamento sem gelo); M7 (Resfriamento padrão e desossa das carcaças após 24 horas e maturação por 7 dias) e M14 (Resfriamento padrão e desossa das carcaças após 24 horas e maturação por 14 dias).

6.7. CONCLUSÃO

Na busca por melhores práticas nos processos pós-abate, desossa, resfriamento e maturação, os resultados podem direcionar agroindústrias produtoras de carne de cordeiro, escolhendo as etapas de processamento, assim, obtém-se os produtos finais com parâmetros desejáveis, como cortes com maior suculência e maciez. As variações nas formas de desossa, resfriamento e maturação mostraram que cada corte tem uma resposta diferente para cada tratamento no quesito maciez. Porém, neste trabalho os melhores resultados de maciez se deram nos tratamentos de desossaa quente e com sete dias de maturação.

Dessa forma, utilizar as avaliações tradicionais e primárias para se saber sobre a qualidade da carne ainda é opção mais difundida e viável, porém, a RMN é uma análise secundária com resultados promissores e que está sendo muito estudada, tanto para avaliar maciez e qualidade nutricional de alimentos.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e financiamento do CNPQ (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - número 431558/2016-7).

REFERÊNCIAS

- Alves, L. G. C., Osório J. C. S., Fernandes A. R. M., Ricardo H. A., Cunha C. M. (2014). Produção de carne ovina com foco no consumidor. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, v. 10, n. 18, p. 2400.
- Antonelo D. S., Cônsolo N. R. B., Gómez J. F. M., Beline M., Goulart R. S., Corte R.R.P.S., Colnago L. A., Schilling M. W., Gerrard D. E., Silva S. L. (2020). Metabolite profile and consumer sensory acceptability of meat from lean Nellore and Angus × Nellore crossbreed cattle fed soybean oil. **Food Research International** 132. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109056>
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. (2007). **Official methods of analysis of AOAC International**. 18.ed. Gaithersburg: Association of Official Analytical Chemists - AOAC.
- Bligh, E.G.; Dyer, W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, v.37, n.8, p.911-917.
- Brasil (2021). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 365 de 16 de julho de 2021**. Regulamento Técnico de Manejo Pré-abate e Abate Humanitário e os métodos de insensibilização autorizados pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-n-365-de-16-de-julho-de-2021-334038845>.
- Carvalho A. F., Araújo M. J., Vallecillo S. J. A, Neto J. P.C, Souza A. R., Edvan R. L., Dias-Silva T. P., Bezerra L. R. (2022). Tissue composition and meat quality of lambs fed diets containing whole-plant sesame silage as a replacement for whole-plant corn silage **Small Ruminant Research**, 216. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2022.106799>
- Cong. M., Thompson, V. F., Goll, D. E., Antin, P. B. (1998). The bovine calpastatin gene promoter and a new N-terminal region of the protein are targets for cAMP- dependent protein kinase activity. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 272.
- Cross, H.R., West, R.L., Dutson, T.R. (1981). Comparison of methods for measuring sarcomere length in beef semitendinosus muscle. **Meat Science**, Oxford, v.5, n.4, p.261- 266.

Culler, R.D., Parrish-Jr, F.C., Smith, G.C.; Cross, H.R. (1978). Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical, physical and sensory characteristics of bovine Longissimus muscle. **Journal of Food Science**, v. 43, p. 1177-1180.

D'Alessandro A., Rinalducci S., Marrocco C., Zolla V., Napolitano F., Zolla L. (2012). Love me tender: An Omics window on the bovine meat tenderness network. **Journal of Proteomics**. 75, 4360 – 4380. doi:10.1016/j.jprot.2012.02.013

Fowler, Stephanie M.; Morris, Stephen; Hopkins, David L. (2019). Nutritional composition of lamb retail cuts from the carcasses of extensively finished lambs. **Meat Science**, v. 154, n. April, p. 126–132. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.04.016>.

Gonçalves, L. A. G., Zapata, J. F. F., Rodrigues, M. C. P., Borges, A. S. (2004). Efeitos do sexo e do tempo de maturação sobre a qualidade da carne ovina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 24(3): 459-467, jul.- set. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612004000300027>

Gornall, A.G.; Bardawill, C.J.; David, M.M. (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. **The Journal of Biological Chemistry**, 177: 751-766.

Grajales-Lagunes, A., Rivera-Bautista, C., Ruiz-Cabrera, M., Gonzalez-García, R., Ramirez-Telles, J., Abud-Archilla, M. (2012). Effect of lactic acid on the meat quality properties and the taste of pork Serratus ventralis muscle. **Agriculture Food Science**. 21, 171–181. <https://doi.org/10.23986/afsci.6082>.

Holman, B. W. B., Fowler, S. M., & Hopkins, D. L. (2016). Are shear force methods adequately reported? **Meat Science**, 119, 1–9.

Kodani, Y., Miyakawa, T., Komatsu, T., Tanokura, M., (2017). NMR-based metabolomics for simultaneously evaluating multiple determinants of primary beef quality in Japanese Black cattle. **Science Reports**. 7, 1297. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01272-8>.

Koohmaraie, M.; Crouse, J.D.; Mersmann, H.J. (1989). Acceleration of postmortem tenderization in ovine carcasses through infusion of calcium chloride: effect of concentration and ionic strength. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.67, n.4, p.934-942.

Koolmees, P. A., Korteknie, F., Smulders, F. J. M. (1986). Accuracy and utility of sarcomere length assessment by laser diffraction. **Food Microstruct.**, 5, pp. 71-76.

Lunesu M. F., Battacone G., Mellino M. R., Carta S., Pulina G., Nudda A. (2023). The heavy suckling lamb of Sarda dairy sheep and its crossbreed with Dorper rams: Performance, meat quality and consumer perceptions. **Meat Science** 204. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2023.109234>.

Olsson, U., Hertzman, C., Tornberg, E. (1994). The influence of low temperature, type of muscle and electrical stimulation on the course of rigor mortis, ageing and tenderness of beef muscles. **Meat Science**, Oxford, v.37, p.115-131.

Purchas, R.W., Rutherford, S.M., Pearce, P.D., Vather, R., Wilkinson, B.H.P., (2004). Concentrations in beef and lamb of taurine, carnosine, coenzyme Q10, and creatine. **Meat Science**. 66, 629–637. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(03\)00181-5](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(03)00181-5).

Samuelsson L. M., Smolenski G., Boggs I., Choe J., Farouk M. M., Kim Y. H. B. (2002). Metabolomic and proteomic characterisation of aged and packaged lamb loins with different colour stability. **Journal of Food Composition and Analysis** 111. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104639>

Soglia, F., Silva, A.K., Lião, L.M., Laghi, L., Petracchi, M. (2019). Effect of broiler breast abnormality and freezing on meat quality and metabolites assessed by ¹H NMR spectroscopy. **Poultry Science**. 98, 7139–7150. <https://doi.org/10.3382/ps/pez514>.

Valença R. L., Sobrinho A. G. S., Romanzini E. P., Andrade N., Borghia T. H., Zeola N. M. B. L., Cirne L. G.A., Oliveira V. S. (2020). Peanut meal and crude glycerin in lamb diets: Meat quality and fatty acid profile. **Small Ruminant Research**, 185. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106076>

Veiseth, E., Shackelford, S. D., Wheeler, T. L., Koohmaraie, M. (2004). Factors regulating lamb longissimus tenderness are affected by age at slaughter. **Meat Science**, v. 68, p. 635 – 640.

Zeola, N.M.B.L.; Silva Sobrinho, A.G.D., Gonzaga Neto, S.; Marques, C.A.T. (2004). Composição centesimal da carne de cordeiros submetidos a dietas com diferentes teores de concentrado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 1, p. 253-257.

7. CONCLUSÕES GERAIS

A introdução de ingredientes mais saudáveis agrada mais o consumidor. A opção estudada foi a adição do extrato etanólico de própolis vermelha que possui alta concentração de flavonóides além de outros compostos fenólicos, oferecendo um elevado potencial antioxidante a este extrato. Dessa forma, pode-se concluir que se obteve efeito deste extrato nos hambúrgueres e linguiças frescas em que foi utilizado.

Verificou-se que a incorporação do extrato conferiu aos produtos a estabilidade oxidativa similar ao antioxidante sintético eritorbato de sódio, além de não ter comprometido a aceitabilidade sensorial do produto. Portanto, é uma alternativa viável que favorece a estabilidade e saudabilidade aos produtos cárneos e promove também o incentivo do consumo de carne de cordeiro, agregando valor ao produto final.

O estudo de maciez da carne de cordeiro buscando por melhores práticas nos processos pós-abate, desossa, resfriamento e maturação mostrou que ao avaliar três cortes, pouco estudados, as respostas foram variadas, já utilizando as técnicas comumente utilizadas (FC, CS e IFM). O desafio maior é buscar as correlações usando a RMN, que é uma análise secundária, com as técnicas mais difundidas e validadas, mas são promissoras. Porém, é necessário que seja uma técnica mais acessível, quando se trata de equipamentos, metodologias, estatísticas e interpretação de resultados, para o dia a dia das agroindústrias.