

Universidade Federal de Ouro Preto

Escola de Nutrição

Programa de Pós-Graduação em Saúde e Nutrição
PPGSN

Dissertação

**Avaliação de compostos
bioativos e antioxidantes de
suco de frutas vermelhas
suplementado com própolis
verde**

Géssica Aparecida Lopes

Ouro Preto
2020



UFOP

Géssica Aparecida Lopes

**AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E ANTIOXIDANTES EM SUCO DE
FRUTAS VERMELHAS SUPLEMENTADO COM PRÓPOLIS VERDE**

Dissertação apresentada à banca do Programa de Pós-graduação em Saúde e Nutrição, da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial de avaliação para obtenção do título de mestre. Área de concentração: Bioquímica e Fisiopatologia da Nutrição

Orientadora: Prof^a Dra. Sônia Maria de Figueiredo

Co-orientadora: Prof^a Dra. Maria Helena Nasser Brumano

OURO PRETO

2020

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

L864a Lopes, Gessica Aparecida .
Avaliação de compostos bioativos e antioxidantes em suco de frutas vermelhas suplementado com própolis verde. [manuscrito] / Gessica Aparecida Lopes. - 2020.
80 f.: il.: color., gráf., tab..

Orientadora: Profa. Dra. Sônia Maria De Figueiredo.
Coorientadora: Profa. Dra. Maria Helena Nasser Brumano.
Dissertação (Mestrado Acadêmico). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Nutrição. Programa de Pós-Graduação em Saúde e Nutrição.

Área de Concentração: Saúde e Nutrição.

1. Suco de frutas. 2. Compostos bioativos. 3. Antioxidantes. I. Brumano, Maria Helena Nasser. II. De Figueiredo, Sônia Maria. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 613.2

Bibliotecário(a) Responsável: Sonia Marcelino - CRB62247



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
REITORIA
ESCOLA DE NUTRICAÇÃO
PROGRAMA DE POS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E NUTRICAÇÃO

**FOLHA DE APROVAÇÃO**

Gessica Aparecida Lopes

Avaliação de compostos bioativos e antioxidantes de suco de frutas vermelhas suplementado com própolis verde

Membros da banca

Profa. Juliana de Cássia Gomes Rocha - IFES
Profa. Eleonice Moreira Santos - UFOP
Profa. Maria Helena Nasser Brumano - UFOP
Profa. Sônia Maria de Figueiredo

Versão final

Aprovado em 02 de março de 2020

De acordo

Sônia Maria de Figueiredo,
Professora Orientadora.



Documento assinado eletronicamente por **Sônia Maria de Figueiredo, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 08/09/2020, às 10:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0080465** e o código CRC **C76360AB**.

Referência: Caso responda este documento, indicar expressamente o Processo nº 23109.006317/2020-07

SEI nº 0080465

R. Diogo de Vasconcelos, 122, - Bairro Pilar Ouro Preto/MG, CEP 35400-000
Telefone: - www.ufop.br

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e N. S. Aparecida, por me ajudarem a chegar até aqui, vencendo as dificuldades e guiando os meus passos em direção à conclusão desse objetivo tão almejado.

Ao meu pai, cuja presença sempre significou força e coragem, fazendo tudo que está ao seu alcance para me ajudar. À minha mãe, pela compreensão e amor incondicional sempre que precisei, me apoiando e me confortando nos momentos mais difíceis.

Aos meus irmãos pelo carinho e amizade de sempre.

Ao Túlio pela compreensão e companheirismo, especialmente neste momento.

Aos companheiros de turma durante o mestrado, em especial Ana Carla, Fátima, Janaína, Laise, Lilian, Thaís, Patrícia, Thiago e Waléria. Sou muito grata a vocês por todos os momentos compartilhados, e tantas alegrias proporcionadas, tornando essa trajetória muito mais leve.

À minha orientadora Sônia, a qual considero uma segunda mãe dentro da UFOP, e que me acolheu tão bem desde a época da graduação. Me faltam palavras para descrever o quanto sou grata à você, por todo o suporte, acolhimento, compreensão nos momentos difíceis, carinho, e acima de tudo, por todos os ensinamentos passados à mim. Você é um exemplo de profissional, competente e humana.

À minha co-orientadora Maria Helena, por todos os ensinamentos e por ter literalmente colocado a “mão na massa comigo”. Obrigada por toda dedicação que teve ao nosso trabalho, e por me instruir tão bem em todas as análises. Com certeza, você foi parte fundamental para a conclusão desse trabalho, e sou muito grata à você.

À professora Priscila, que tanto me ajudou durante todo o processo de realização desse trabalho. Sempre prestativa, atenciosa, e auxiliando em tudo que eu precisei. Muito Obrigada!

À professora Eleonice, por sempre aparecer com uma palavra de consolo, e conforto nos momentos de incertezas. Obrigada por espalhar empatia pelos corredores da ENUT. Tenho orgulho de ter tido o prazer de conhecer uma profissional como você, exemplo à ser seguido no meio acadêmico.

À todos os técnicos de laboratório da ENUT, os quais sempre me ajudaram em tudo que precisei, em especial ao Bruno, Michelle e Rafael.

À todos os professores e colaboradores do PPGSN.

À todos os funcionários da ENUT.

À UFOP, pelo ensino gratuito e de qualidade. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pela concessão de bolsa, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento do projeto.

À empresa Pharma Néctar[®] pelo fornecimento da própolis verde utilizada na segunda etapa do estudo. E também à empresa Campo Largo[®], pela doação dos sucos de frutas vermelhas.

Enfim, gostaria de agradecer a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho. Minha eterna gratidão.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

RESUMO

Nos dias atuais a população vem adotando hábitos alimentares mais saudáveis em busca de um equilíbrio alimentar. Neste contexto, os alimentos funcionais, ricos em compostos bioativos como os compostos fenólicos, vêm ganhando destaque, representando um mercado promissor e também despertando o interesse da comunidade científica, devido aos benefícios que eles promovem para a saúde. Dentre esses alimentos, destaca-se a própolis verde, substância resinosa elaborada por abelhas *Apis Mellifera*, à partir da planta *Baccharis Dracunculifolia*. No entanto, o consumo de própolis ainda é baixo pela população, devido às características sensoriais desagradáveis que ela possui. Sendo assim, o objetivo desse estudo foi avaliar os compostos bioativos e capacidade antioxidante de diferentes formulações de suco de frutas vermelhas suplementado com própolis verde e investigar sua aceitação sensorial pelos consumidores. Para tal foram elaboradas três formulações com concentrações diferentes de própolis, sendo 3,1 mg/mL (F₁), 4,6 mg/mL (F₂), e 6,1mg/mL (F₃). Avaliou-se o teor de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e a capacidade antioxidante por meio dos métodos ABTS, DPPH e FRAP. Os valores encontrados para as formulações variaram entre 3,73 a 5,03 mg AGE/mL para fenólicos, 0,14 a 0,22 mg de EQ/mL para flavonoides. Já para a capacidade antioxidante, os valores variaram entre 1119,15 a 1706,71 µmol de Trolox/100 mL para ABTS, 775,54 a 1059,92 µmol de Trolox/100 mL para DPPH e 1353,05 a 1926,74 µmol de Trolox/100 mL para FRAP. Os resultados mostraram um aumento estatisticamente significativo ($p < 0,05$), com o aumento da concentração de própolis adicionada, para todos os parâmetros avaliados nas formulações em comparação com o controle (suco sem adição de própolis). A análise sensorial realizada com 102 provadores, não treinados, em teste cego e com alegações funcionais, mostraram que todas as amostras tiveram mais de 70% de aprovação para todos os atributos avaliados, não havendo diferença estatística entre a aceitação das três formulações, portanto consideradas aceitas pelos provadores. Esse trabalho é promissor em mostrar a aplicação de própolis verde como suplemento alimentar, oferecendo um produto de alto valor nutricional, com grande potencial antioxidante e com características sensoriais aceitas pelos consumidores.

Palavras-chave: frutas vermelhas; própolis verde Brasileira; compostos bioativos; capacidade antioxidante.

ABSTRACT

Nowadays the population has been adopting healthier eating habits in search of a balanced diet. In this context, functional foods, rich in bioactive compounds, such as phenolic compounds, have been gaining prominence, representing a promising market and also arousing the interest of the scientific community, due to the health benefits they promote. Among these foods, green propolis stands out, a resinous substance made by *Apis Mellifera* bees from *Baccharis Dracunculifolia*. However, propolis consumption is still low by the population, due to its unpleasant sensory characteristics. Therefore, the aim of this study was to develop three formulations using commercial red fruit juice supplemented with green propolis, evaluate bioactive and antioxidant compounds and to investigate its sensory acceptance by consumers. Three different concentrations of propolis were used in the formulations, 3,1 mg/mL (F₁), 4,6 mg/mL (F₂), and 6,1mg/mL (F₃). The content of total phenolic compounds, total flavonoids and antioxidant capacity were evaluated using ABTS, DPPH and FRAP methods. The values found for the formulations ranged from 3.73 to 5.03 mg AGE / mL for phenolics, 0.14 to 0.22 mg EQ / mL for flavonoids. For the antioxidant capacity, the values ranged from 1119.15 to 1706.71 µmol of Trolox / 100 mL for ABTS, 775.54 to 1059.92 µmol of Trolox / 100 mL for DPPH and 1353.05 to 1926.74 µmol of Trolox / 100 mL for FRAP. The results showed a statistically significant increase ($p < 0.05$), for all parameters evaluated, in the samples containing propolis in comparison with the control (juice without addition of propolis). The sensory analysis carried out with 102 untrained tasters showed that all samples had more than 70% approval for all evaluated attributes, with no statistical difference between the acceptance of the three formulations, therefore considered accepted by the tasters. This work is promising in showing the application of green propolis as a food supplement, offering a product of high nutritional value, with great antioxidant potential and with sensory characteristics accepted by consumers.

Key words: berries; Brazilian green propolis; bioactive compounds; antioxidant capacity

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. (A) Abelha coletando a resina do "Alecrim do campo" para produção da própolis verde. (B) Própolis verde bruta..	17
Figura 2. Formulações de suco de frutas vermelhas suplementado com própolis em diferentes concentrações e suco controle sem adição de própolis.....	30
Figura 3. Respostas do questionário da primeira etapa da análise sensorial	40
Figura 4. Gráfico de frequência dos escores para os atributos da formulação 1 no teste de aceitação sensorial.	42
Figura 5. Gráfico de frequência dos escores para os atributos da formulação 2 no teste de aceitação sensorial.	43
Figura 6. Gráfico de frequência de notas para os atributos da formulação 3 no teste de aceitação sensorial.....	44
Figura 7. Gráfico de intenção de compra das formulações na primeira etapa do teste de aceitação sensorial.....	46
Figura 8. Gráfico de intenção de compra das formulações na primeira etapa do teste de aceitação sensorial.....	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Formulações de suco de frutas vermelhas suplementado com própolis.....	30
Tabela 2. Conteúdo de fenólicos totais dos extratos aquosos de própolis verde comerciais	35
Tabela 3. Capacidade antioxidante dos extratos de própolis verde comerciais pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP	36
Tabela 4. Conteúdo total de fenólicos e flavonoides das formulações de suco suplementado com própolis e controle	37
Tabela 5. Capacidade antioxidante pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP das formulações de suco suplementado com própolis e controle	38
Tabela 6. Resultado de médias dos escores do teste de aceitação sensorial das três formulações de suco com própolis na primeira etapa	41
Tabela 7. Comparação entre médias obtidas nas duas etapas de teste de aceitação sensorial (sem e com informação sobre as alegações funcionais) dos sucos adicionados de própolis.....	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS: ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico

AGE: Equivalente de ácido gálico

DCNT: Doenças Crônicas Não Transmissíveis

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazil

EQ: Equivalente de quercetina

FRAP: Método de redução de ferro

TPTZ : (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina)

TROLOX – 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico

UFOP: Universidade Federal de Ouro Preto

SUMÁRIO

1. Introdução	12
2. Referencial teórico	15
2.1. Própolis	15
2.2. Própolis verde	16
2.3. Uso de própolis em alimentos	18
2.4. Frutas vermelhas.....	19
2.5. Xilitol.....	19
2.6. Alimentos funcionais	20
2.7. Compostos fenólicos	21
2.8. Flavonoides	22
2.9. Capacidade antioxidante.....	23
2.10. Métodos para se determinar a capacidade antioxidante in vitro.....	24
2.10.1. Abts	24
2.10.2. Dpph•	25
2.10.3. Frap.....	25
3. Justificativa.....	26
4. Objetivos	27
4.1. Geral.....	27
4.2. Específicos	27
5. Metodologia.....	28
5.1. Matérias-primas.....	28
5.1.1. Padrões e reagentes	28
5.1.2. Caracterização das amostras.....	29
5.1.2.1. Primeira etapa do estudo – amostras de extratos aquosos de própolis verde comerciais	29
5.1.2.2. Segunda etapa do estudo – formulações de suco suplementado com extratos aquosos de própolis verde	29
5.1.3. Formulação dos sucos	29
5.2. Métodos.....	30
5.2.1. Compostos fenólicos totais.....	30
5.2.2. Flavonoides totais	31
5.2.3. Determinação da capacidade antioxidante por ABTS	31

5.2.4. Determinação da capacidade antioxidante por DPPH	32
5.2.5. Determinação da capacidade antioxidante por FRAP	32
5.2.6. Análise sensorial	33
5.2.7. Considerações éticas	33
5.2.8. Análise estatística	34
6. Resultados	35
6.1. Caracterização dos extratos de própolis comerciais	35
6.1.1. Fenólicos totais	35
6.1.2. Capacidade antioxidante	35
6.2. Caracterização das formulações	36
6.2.1. Conteúdo total de fenólicos e flavonóides	36
6.2.2. Determinação da capacidade antioxidante por abts, dpph e frap.....	38
6.3. Análise sensorial	39
6.3.1. Questionário	39
6.3.2. Primeira etapa do teste de aceitação sensorial.....	40
6.3.3. Segunda etapa do teste de aceitação sensorial.....	44
6.3.4. Intenção de compra.....	46
7. Discussão.....	48
7.1. Avaliação da qualidade dos extratos de própolis verde	48
7.2. Formulações de suco empregando extratos aquosos de própolis verde	51
7.3. Análise sensorial das formulações de suco empregando extrato aquoso de própolis verde em diferentes concentrações	52
7.3.1 Primeira etapa do teste de aceitação sensorial.....	52
7.3.2. Segunda etapa do teste de aceitação sensorial.....	54
8. Conclusão	56
Referências	57
Apêndice A - Curva padrão de ácido gálico para fenólicos totais.....	71
Apêndice B- Curva padrão de quercetina para flavonoides totais.....	71
Apêndice C- Curva de trolox para ABTS.....	72
Apêndice D- Curva padrão de trolox para DPP.....	72
Apêndice E- Curva padrão de trolox para FRAP.....	73
Apêndice F- Termo de consentimento livre e esclarecido.....	74
Apêndice G- Questionário aplicado na análise sensorial.....	75

Apêndice H- Ficha de avaliação sensorial.....	76
Apêndice I- Ficha informativa das propriedades funcionais das frutas vermelhas....	77
Apêndice J- Ficha informativa das propriedades funcionais da própolis.....	78

1 INTRODUÇÃO

O aumento da expectativa de vida das pessoas, vem se destacando concomitante ao aumento da incidência das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), tais como, diabetes, hipertensão, câncer, entre outras. Com isso, a população vem adotando hábitos alimentares mais saudáveis, buscando um equilíbrio alimentar (DE ANDRADE LOPES et al., 2020; FERREIRA et al., 2019a; VIDAL et al., 2012).

A crescente busca por essa alimentação equilibrada, despertou o interesse por alguns alimentos que, além de suprir necessidades básicas do organismo, previnam ou minimizem sintomas de algumas doenças, atuando por exemplo contra o estresse oxidativo que essas promovem (LIU et al., 2018; VIDAL et al., 2012).

Nesse contexto, os alimentos funcionais vêm ganhando destaque, por serem considerados alimentos que quando incluídos na dieta, possuem além das suas funções nutricionais, substâncias que auxiliam positivamente em uma ou mais funções fisiológicas do organismo, uma vez que apresentam em sua composição compostos bioativos tais como: fitoquímicos, probióticos, prebióticos, ácidos graxos poli-insaturados, vitaminas antioxidantes, entre outras, que são responsáveis por sua funcionalidade, contribuindo assim para uma melhora da saúde, qualidade de vida e auxiliando na redução de riscos de doenças, principalmente, nas DCNT. (ALTEMIMI et al., 2017; COSTA; ROSA, 2016; DRANCA; OROIAN, 2016; HENRIQUE et al., 2018; MANUBOLU et al., 2014; STRINGUETA et al., 2012; VETRANI et al., 2013).

Devido a isso, produtos com alegações funcionais, são considerados uma nova tendência no mercado alimentício para aqueles que buscam alimentação mais saudável, e com isso compostos bioativos têm sido inseridos como ingredientes na formulação de alimentos funcionais e nutracêuticos (SILVA et al., 2016; BEZERRA; STANKIEVICZ; UCZAY, 2017; FARIA; ANJO, 2004).

Contudo, observa-se que atualmente as preferências dos consumidores são mais favoráveis aos alimentos funcionais naturais (BARTKIENE et al., 2020), sendo assim, o desenvolvimento de produtos com ingredientes funcionais tem aumentado, levando em consideração não somente as características sensoriais, mas principalmente sua composição nutricional (MACHADO et al., 2018; SILVA et al., 2016).

Dentre esses alimentos com propriedades funcionais, destaca-se a própolis, um composto resinoso oriundo de plantas (FIGUEIREDO et al., 2014), elaborada por abelhas *Apis mellifera* e tem como principal função proteger as colméias de invasores (DE MENDONÇA et al., 2015). Sua composição varia de acordo com as espécies vegetais ao redor da colméia e, conseqüentemente de sua origem geográfica (DE-MELO et al., 2014). Seus compostos químicos são responsáveis por atividades antimicrobiana, antiinflamatória, antioxidante, antiviral, antifúngica, ações anticancerígenas, entre outras propriedades e, devido à isso atraiu o interesse mundial de pesquisadores nas últimas décadas (ANDRADE et al., 2017; BURDOCK, 1998).

As própolis no Brasil são classificadas, atualmente, em 13 tipos (PARK; et al. 2002; SILVA et al., 2008). A própolis do grupo 12, é popularmente conhecida como própolis verde, elaborada a partir da resina da planta *Baccharis Dracunculifolia*, ou “alecrim do campo”, específicas da região Sudeste do Brasil.

A própolis verde é considerada umas das mais populares entre as própolis brasileiras, e contém uma quantidade significativa de artepellin C[®], um derivado do ácido cinâmico, o qual é responsável por várias propriedades atribuídas à própolis verde (KALIL et al., 2019). São encontrados na literatura inúmeros estudos que comprovam atividade anti-inflamatória, antimicrobiana, antifúngica, anticâncer, e antioxidante da própolis verde (BITTENCOURT et al., 2015; GALEOTTI et al., 2018; HOCHHEIM et al., 2019; DE MELLO SOUSA et al., 2019; GREGOLIN, 2019).

Apesar dos benefícios que o consumo da própolis pode trazer para população e do grande interesse no enriquecimento de alimentos e bebidas, seu consumo é limitado, e aceitabilidade é baixa pelos consumidores, uma vez que possui características sensoriais desagradáveis, como sabor amargo e odor forte (JANSEN-ALVES et al., 2018; OSÉS et al., 2016).

Sendo assim, uma possível forma de aumentar o consumo da própolis seria incorporá-la a um produto de alta frequência de consumo pela população, como é o suco de frutas. Sucos de frutas são consumidos e apreciados em todo o mundo, não só pelo seu sabor, mas também, por serem fontes naturais de carboidratos, carotenoides, vitaminas, minerais e outros compostos nutricionais (PINHEIRO et al., 2006). Os sucos mistos de frutas são produtos que oferecem ao consumidor novos

sabores, que são formados através da própria mistura de frutas e já estão presentes no mercado (CRUZ et al., 2017).

Em se tratando das frutas vermelhas, elas caracterizam importantes fontes dietéticas de compostos bioativos como os compostos fenólicos, flavonoides, flavonóis, ácidos fenólicos, taninos, estilbenos, antocianinas, e possuem características sensoriais atrativas ao consumidor, por serem saborosas e com cores atraentes (BERMÚDEZ-SOTO; TOMÁS-BARBERÁN, 2004; KUBOTA et al., 2012).

Diante do exposto, a aplicação da própolis verde em um suco de frutas vermelhas, consiste em uma nova forma de utilização da própolis, proporcionando aos consumidores um produto com alto teor nutricional, rico em compostos bioativos e antioxidantes, e ao mesmo tempo com características sensoriais mais agradáveis.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Própolis

A própolis é um material natural resinoso, elaborado por abelhas a partir de flores, árvores e exsudatos das plantas, nos quais as abelhas depositam secreções salivares, cera e pólen (HEIMBACH et al., 2016; MOJARAB et al., 2020). De modo geral, a própolis é composta por 50-60% de resinas, 30-40% de cera, 5-10% de óleos essenciais, 5% de grãos de pólen e pequenas quantidades de minerais e vitaminas (BARTH et al., 2013).

No entanto, sua composição química pode variar de acordo com as características ambientais da região, a flora predominante utilizada pelas abelhas, a época sazonal da colheita, a variabilidade genética da abelha rainha, que influenciam diretamente no produto final, proporcionando assim, variações significativas em diferentes amostras analisadas quanto aos teores de compostos bioativos do produto (BANKOVA, 2005; BITTENCOURT et al., 2015; TOUZANI et al., 2019).

Aproximadamente 600 compostos já foram identificados na própolis (DE FIGUEIREDO et al., 2017) e a principal classe encontrada e apontada como responsável pela maior parte das propriedades biológicas atribuídas a ela, é a dos compostos fenólicos, entre eles os flavonoides (flavonol, flavona, di-hidroflavonol, flavonona, isoflavona, antocianidina), os ácidos fenólicos que compreendem os ácidos benzoicos (ácidos p-hidroxibenzóico, vanílico, siríngico, gálico e o 3,4-dihidroxibenzóico), e os cinâmicos (ácido caféico, p-cumárico, ferúlico e sinápico) (BANKOVA, 2005; MOREIRA et al., 2011; TORETI et al., 2013).

A própolis brasileira, atualmente, é classificada em 13 tipos de acordo com suas propriedades físico químicas e localização geográfica (SILVA et al., 2008; PARK et al., 2002). Inicialmente, foram descritos 12 tipos de própolis no Brasil por PARK et al. (2002), determinando a origem vegetal apenas de três tipos, sendo o tipo 3, oriunda principalmente da região Sul, tendo sua principal fonte botânica a resina de *Populus sp.*, o tipo 6 oriunda do Nordeste principalmente, apresenta a *Hyptis divaricata* como a principal fonte botânica, e o tipo 12 produzida, sobretudo na região Sudeste, tendo a *Baccharis Dracunculifolia* como principal fonte botânica. Após alguns anos Silva et al. (2008) identificaram a origem da 13ª própolis brasileira, proveniente do Nordeste, originária da *Dalbergia ecasthophyllum*, popularmente conhecida como “Rabo de bugio”.

propriedades biológicas dos diversos tipos de própolis no Brasil, e sua composição química são distintas entre os tipos, devido à grande biodiversidade brasileira (MACHADO et al., 2016). Sua cor é dependente da sua origem, podendo variar do marrom escuro, esverdeado, e marrom avermelhado, com odor característico que também varia de uma amostra para outra (CAVALARO et al., 2019).

Numerosos estudos investigam o potencial da própolis, demonstrando em ensaios *in vitro* atividade antimicrobiana, imunológica, antioxidante, antifúngica, imunomoduladora e anticâncer (BHARGAVA et al., 2018; ELKHENANY; EL-BADRI; DHAR, 2019; HOCHHEIM et al., 2019; RIMBACH et al., 2017; SEIBERT et al., 2019; THAMNOPOULOS et al., 2018).

O mercado mundial da própolis está aumentando nos últimos anos, e é esperado que até 2021, esse mercado cresça 3,5%, aumentando sua produção de 2300 toneladas (2015) para 2900 toneladas (DE FRANCISCO et al., 2018).

O interesse pelo consumo de própolis é crescente no Brasil e no mundo devido ao aumento de pesquisas sobre sua composição química e suas propriedades biológicas (SALGUEIRO; CASTRO, 2016). O Brasil hoje é considerado um dos maiores fornecedores de própolis do mundo (AGUIAR et al., 2018) e seu interesse comercial é crescente, sendo utilizado como componente de aditivos alimentares, cosméticos e farmacêuticos (BANKOVA; POPOVA; TRUSHEVA, 2014).

2.2. Própolis verde

A principal planta utilizada para produção de própolis verde Brasileira é a *Baccharis Dracunculifolia*, popularmente conhecida como “Alecrim do Campo” ou “Vassourinha”, encontrada principalmente, no sudeste do Brasil, nos estados de São Paulo e Minas Gerais (ARRUDA et al., 2020; FERREIRA; NEGRI, 2019).



Figura 1. (A) abelha coletando a resina do "Alecrim do campo" para produção da própolis verde. Fonte: <https://alavoura.com.br/colunas/panorama/ouro-verde-propolis-inibe-fungo-que-ataca-milho-citros-e-tomate/>. (B) Própolis verde bruta. Fonte: Própria.

Alguns componentes químicos dos extratos de própolis verde Brasileira são apontados como os principais responsáveis por suas propriedades funcionais e capacidade de eliminação de radicais livres, como os fenilpropanoides prenilados, incluindo ácidos cafeicos, ácidos cinâmicos, ácido p-cumárico, ácido ferúlico e seus derivados, ácidos cafeoilquínicos e artepilina, sendo esses dois últimos, os componentes mais efetivos devido à alta capacidade antioxidante. (ELKHENANY; EL-BADRI; DHAR, 2019; ZHANG et al., 2017). Um dos compostos fenólicos majoritários, e utilizado como marcador da própolis verde é o artepillin C[®] (ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico) ou artepilina, sendo encontrado somente em amostras de própolis verde, devido a composição botânica utilizada para sua produção (ANDRADE et al., 2017; SALGUEIRO; CASTRO, 2016; VEIGA et al., 2017).

A Própolis verde é o tipo mais popular do Brasil, sendo também considerada a melhor própolis do mundo no mercado japonês, devido às características sensoriais agradáveis e baixo conteúdo de metais pesados e poluentes ambientais (DE FRANCISCO et al., 2018).

Devido às propriedades antimicrobianas, antioxidantes e, seu potencial em estimular função imune, bem como efeitos preventivos e terapêuticos para população humana, a própolis verde Brasileira vêm sendo reconhecida como complemento à saúde (BHARGAVA et al., 2018; RIMBACH et al., 2017; SUN et al., 2019).

2.3. Uso de própolis em alimentos

A composição química da própolis e a riqueza dos compostos bioativos que ela contém encorajam sua aplicação na produção de alimentos, visto que, a adição de própolis aos alimentos promove inúmeros benefícios à saúde do consumidor e também garante a estabilidade microbiana, e a qualidade dos alimentos durante o armazenamento (POBIEGA; KRAŚNIEWSKA; GNIEWOSZ, 2019).

Uma das principais aplicações da própolis nos alimentos é como conservante natural de alimentos, em alternativa aos conservantes sintéticos, devido suas propriedades antimicrobianas e antioxidantes já relatadas na literatura (LUIS-VILLAROYA et al., 2015; OSÉS et al., 2016; THAMNOPOULOS et al., 2018; VIERA et al., 2016). Yang et al. (2017) em estudo avaliando o uso de uma emulsão de própolis como conservante natural em alternativa ao uso de conservantes sintéticos em suco de laranja, obtiveram bons resultados com inibição do crescimento de bactérias no suco, e também preservação dos compostos bioativos, antioxidantes e características físico químicas do suco, durante o armazenamento. Silici e Karaman (2014) também analisaram atividade antimicrobiana em suco de maçã com adição de própolis, com resultados positivos para essa finalidade. Thamnopoulos et al. (2018) investigaram o uso da própolis como agente antimicrobiano natural em leites, onde obteve resultados positivos contra *Listeria Monocytogenes*. Viera et al. (2016) demonstraram a eficiência da adição de própolis em linguiça toscana, e nesse estudo o prazo de validade foi prolongado por 56 dias, inibindo o crescimento de microorganismos.

Além da utilização da própolis para essa finalidade, uma potencial aplicação da própolis seria como ingrediente funcional em alimentos, a fim de melhorar os compostos bioativos de um produto. No entanto, uma das limitações quanto ao uso de própolis como aditivo alimentar é a baixa aceitação pelos consumidores, devido às características sensoriais desagradáveis que normalmente possui, como sabor amargo e odor forte (OSÉS et al., 2016).

2.4. Frutas vermelhas

As frutas vermelhas, também conhecidas como “berries” ou pequenas frutas, são compostas por um grupo que engloba: amora, framboesa, mirtilo, morango, açaí, entre outras. Essas frutas apresentam em sua composição uma grande quantidade de nutrientes e compostos bioativos as quais são atribuídas diversas propriedades funcionais (LAMOUNIER et al., 2019).

Estudos *in vitro* relatam vários efeitos à saúde que estes frutos fornecem quando inseridos na alimentação cotidiana, dentre os quais destacam-se a alta capacidade antioxidante e a capacidade de inibir a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (BERMÚDEZ-SOTO; TOMÁS-BARBERÁN, 2004).

As frutas dessa classe possuem cores atraentes, transmitidas pelos pigmentos das antocianinas que variam do vermelho ao roxo e do roxo ao preto, além de sabores e aromas característicos, que as tornam bastante atraentes aos consumidores (LI et al., 2019; MERTZ et al., 2007).

2.5. Xilitol

O Xilitol é um poliol, que possui um grupo hidroxila ligado a cada átomo de carbono na sua cadeia, com alto poder adoçante e apresentando 40% menos calorias que a sacarose (ALBUQUERQUE et al., 2014).

É utilizado como um adoçante substituto ao açúcar, devido à algumas vantagens como baixo índice glicêmico, baixo valor calórico, alta solubilidade, efeito anticariogênico, dentre outros (ALBUQUERQUE et al., 2014; QUSA et al., 2019). Sendo assim, devido à essas vantagens, aliado ao aumento da consciência da saúde entre os consumidores, a demanda do xilitol aumentou para uso em alimentos, produtos farmacêuticos, e de saúde bucal (PAL; MONDAL; SAHOO, 2016; QUSA et al., 2019).

Na indústria de alimentos o xilitol demonstra eficiência em melhorar propriedades de armazenamento, sabor e cor de produtos alimentares (RAZALI; SHAMSIR, 2020), possuindo sabor doce e aceitável pelos consumidores (QUSA et al., 2019) e, portanto apresentando características potenciais e desejáveis para aplicação em alimentos como gomas de mascar, biscoitos e bebidas (RAZALI; SHAMSIR, 2020).

O xilitol é considerado uma substância atóxica e segura, tendo sua incorporação em alimentos legalmente permitida, e com boa tolerância até 60g de ingestão diária, uma vez que doses elevadas podem levar a um efeito laxativo no organismo (MUSSATTO, 2012; MUSSATTO; ROBERTO, 2002).

Uma das características promissoras para aplicação do xilitol em substituição ao açúcar, é sua indicação para pacientes portadores de diabetes, visto que ele pode ser metabolizado na ausência de insulina (DELGADO ARCAÑO et al., 2018; RAZALI; SHAMSIR, 2020) e portanto, sendo indicado para consumo para portadores dessa patologia (MUSSATTO; ROBERTO, 2002).

2.6. Alimentos funcionais

Observa-se que através da alimentação, tem-se aumentado a procura por alimentos que além de satisfazer as atividades nutricionais básicas, promovem saúde e reduzem o risco de doenças, sendo assim, os alimentos funcionais passaram a ser vistos como uma estratégia importante para deter o avanço das DCNT, considerando o cenário do século XXI. (SILVA et al., 2016).

De acordo com Sancho e Pastore (2016) alimento funcional é qualquer alimento saudável, com aparência similar aos alimentos convencionais que, além das funções nutricionais básicas, proporciona benefícios metabólicos e/ou fisiológicos como a promoção da saúde e prevenção de doenças, quando consumido como parte de uma dieta habitual. Nesse contexto, os alimentos funcionais são hoje considerados uma nova tendência do mercado alimentício para aqueles que buscam a saúde (DALMOLIN; IENSEN; LOPES, 2019). Haja visto, que a crescente exigência do consumidor que busca alimentos cada vez mais saudáveis, com características sensoriais satisfatórias e capazes de prevenir doenças, direciona a pesquisa de novos produtos, componentes e ingredientes (DE LARA et al., 2019).

Dentre os alimentos bem aceitos pelos consumidores estão os sucos e néctares de frutas, que teve seu consumo aumentado nos últimos anos, motivado principalmente, pela maior consciência dos consumidores sobre a importância da escolha de alimentos saudáveis (FARAONI et al., 2013). Sendo assim, o processamento de sucos mistos tem se tornado uma excelente alternativa ao melhor aproveitamento das matérias primas e produção de bebidas não convencionais de alto valor nutricional, visto que a possibilidade em combinar diferentes atributos

sensoriais gera não apenas novos sabores e aromas, mas também promove associação de princípios nutritivos de compostos bioativos de diferentes vegetais (SOARES et al., 2014).

A mistura de mais de uma fruta para produção de sucos, adicionados de ingredientes com alegações funcionais é uma tendência observada no mercado, visto que, esses produtos mistos apresentam uma série de vantagens, tais como melhoria das características nutricionais do produto final, isto é, pela complementação de nutrientes fornecidos por diferentes alimentos, bem como desenvolvimento de novos sabores, visando atender às expectativas dos consumidores (CARVALHO; DE ANDRADE MATTIETTO; BECKMAN, 2017).

2.7. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos representam o maior grupo de fitoquímicos encontrados nos frutos e plantas (MILENE ANGELO; JORGE, 2007; SILVA et al., 2019). São originados do metabolismo secundário das plantas, e apresentam propriedades essenciais para o funcionamento do organismo vegetal, como seu crescimento, pigmentação, reprodução, combate a infecções e radiações UV, dentre outros (CHEYNIER et al., 2013; GRANATO et al., 2018).

Sua composição química consiste de anéis aromáticos ligados a uma ou mais hidroxilas e podem ser divididos em diversas classes de acordo com suas estruturas moleculares, número de anéis aromáticos e de hidroxilas, ligações com outros grupamentos, dentre outras diferenciações, sendo classificados principalmente como flavonóides, ácidos fenólicos, estilbenos e lignanas (ARNOSO; DA COSTA; SCHMIDT., 2019).

A concentração desses compostos nos frutos e plantas são dependentes de vários fatores, como espécie do vegetal, estação do ano, estágios de desenvolvimento e maturação, colheita, condições de cultivo, de solo, armazenamento depois de colhidos, entre outros (ABE et al., 2007; ARNOSO; DA COSTA; SCHMIDT, 2019; ORSAVOVÁ et al., 2019).

Os compostos fenólicos exercem um papel muito importante na proteção celular, devido a capacidade de sequestrar ou inibir diversas espécies de oxigênio reativo, transferir elétrons para radicais livres, desempenhando forte ação na prevenção do estresse oxidativo (VACARO DE SOUZA et al., 2018). Logo, devido às

suas propriedades antioxidantes o consumo de fontes alimentares ricas em compostos fenólicos tem sido associados a redução da incidência de DCNT e proteção aos seres humanos contra danos oxidativos (LI et al., 2019; YOON; CHUNG; THIRUVENGADAM, 2015).

Nos alimentos esses compostos são encontrados principalmente nas frutas, principalmente as que apresentam a coloração vermelha/roxa (como uva, ameixa, cereja, romã, amora), sendo encontrados em menores valores nos sucos de frutas do que em suas polpas *in natura* do fruto (JANIKUES et al., 2013). Além de vegetais, chás, ervas, cacau e vinho, que também são fontes desses compostos (REFOSCO et al., 2019).

Os benefícios para a saúde atribuídos à própolis estão relacionados principalmente ao seu conteúdo de compostos fenólicos e flavonoides (LIMA et al., 2019).

2.8. Flavonoides

Dentre os compostos fenólicos, os flavonoides assumem grande relevância devido à ampla atividade biológica que essa classe exerce (SILVA et al., 2019). Esses são conhecidos como os principais responsáveis pela capacidade antioxidante em frutas e algumas plantas, devido ao potencial de sequestrar radicais livres, atuando como doadores de hidrogênio e quelantes de metais (IGNAT; VOLF; POPA, 2011; SADOWSKA-BARTOSZ; BARTOSZ, 2014). Esses compostos apresentam vários benefícios à saúde, destacando-se a redução do risco de desenvolvimento de várias doenças, como as cardiovasculares, diabetes e o câncer (LIOBIKAS et al., 2016; RAFFA et al., 2017).

A classe dos flavonóides se divide em dois grupos: antocianinas e flavonóides não antociânicos (conhecidos também como antoxantinas) e, que estão sub-divididas em cinco grandes subclasses: flavanas (catequinas, epicatequinas e teaflavinas), flavonas (apigenina, luteolina), flavonóis (quercetina, rutina, miricetina e kaempferol), flavanonas (hesperidina, narirutina, naringina e nepohesperidina) e isoflavonas (daidzeína, daidzina, genisteína, genistina, gliciteína, glicitina). A variedade estrutural se deve ao fato deles estarem ligados a grupos hidroxilas, metoxilas e estarem ou não conjugados com diferentes compostos (DZOYEM et al., 2018; HEIM; TAGLIAFERRO; BOBILYA, 2002; MAKITA et al., 2016). Na dieta, a quercetina é o flavonoide mais

abundante, e apresenta importante ação antiinflamatória e antioxidante (SAVI et al., 2017).

2.9. Capacidade antioxidante

Os organismos vivos apresentam um sistema de oxidação-redução que permite manter a vida com um balanço saudável, sendo os radicais livres necessários para os diferentes estados de vida das células e dos organismos (GIUST e JING, 2007). A produção contínua de radicais livres durante os processos metabólicos leva ao desenvolvimento de muitos mecanismos de defesa antioxidante para limitar os níveis intracelulares e impedir a indução de danos (COQUEIRO et al., 2017; ROSA et al., 2019).

Antioxidantes são substâncias que retardam ou inibem a oxidação de moléculas (DA SILVA et al., 2019), atuando em situações onde ocorre a produção excessiva de radicais de oxigênio como em processos patofisiológicos ou por fatores ambientais através de mecanismos como inibição de radicais livres ou complexação de metais (SILVA et al., 2018).

O organismo controla a degradação dessas moléculas reativas através de dois sistemas antioxidantes integrados: um endógeno enzimático, diretamente relacionado à degradação do superóxido em água, e outro exógeno não enzimático, no qual compostos antioxidantes presentes na dieta atuam sobre as espécies reativas de oxigênio produzidas pelo organismo (PORSCH; SIMAS; GRANZOTI, 2019).

No decurso da eficiência parcial do sistema antioxidante endógeno do organismo humano, torna-se necessário a contribuição de antioxidantes exógenos, obtidos através da dieta que se encontram presentes naturalmente em muitas frutas e legumes (DAI et al., 2009; SANTOS et al., 2018a, 2018b).

O interesse no papel dos antioxidantes na saúde humana levou ao aumento das pesquisas que avaliam capacidade antioxidante em alimentos. Compostos fitoquímicos com ação antioxidante presentes naturalmente nas frutas, como por exemplo, os compostos fenólicos, carotenoides, tocoferóis e ácido ascórbico, têm apresentado efeito protetor nestes alimentos, contra doenças crônico-degenerativas (SUCUPIRA et al., 2012).

2.10. Métodos para se determinar a capacidade antioxidante *in vitro*

Os métodos de avaliação da capacidade antioxidante *in vitro* têm se tornado importantes ferramentas devido à crescente busca por antioxidantes naturais, com perspectivas de aplicação nas indústrias de alimentos, cosméticos, farmacêutica, e na prática clínica, contribuindo para promoção de saúde e redução do risco de doenças (ALVES et al., 2010; VASCONCELOS et al., 2007).

A quantificação de substâncias antioxidantes pode não ser eficaz com a utilização de apenas uma metodologia, pois vários mecanismos de reação diferentes estão envolvidos no estresse oxidativo e, portanto, não existe um método universal simples pelo qual a capacidade antioxidante possa ser avaliada com precisão e quantitativamente (NIKI, 2010). Sendo assim, o uso de dois ou mais métodos pode fornecer maior elucidação do perfil de capacidade antioxidante (SILVA et al., 2019).

De acordo com Floegel et al. (2011) os métodos mais comumente utilizados na determinação da capacidade antioxidante dos alimentos são, o ABTS (2,20-azino-bis-3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico) e o DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), em seguida a capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC) e capacidade de redução férrica (FRAP).

2.10.1. ABTS

O método do ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)) está baseado na habilidade dos antioxidantes em capturar o cátion ABTS^{•+} (SUCUPIRA et al., 2012). Esse método baseia-se na geração do ABTS^{•+}, que apresenta cor azul esverdeado, por meio da reação do ABTS com persulfato de potássio que possui absorção máxima em 645, 734 e 815 nm (Re et al., 1999). Com a adição de um antioxidante, ocorre a redução do ABTS^{•+} a ABTS promovendo a perda da coloração do meio reacional. Com a perda de cor, a porcentagem de inibição do ABTS^{•+} é determinada em função do Trolox, um padrão submetido às mesmas condições de análise do antioxidante. O método é aplicável ao estudo de antioxidantes hidrossolúveis e lipossolúveis, compostos puros e extratos vegetais (SUCUPIRA et al., 2012).

A vantagem do teste ABTS consiste na sua relativa simplicidade que permite a aplicação na rotina de qualquer laboratório (BORGES et al., 2011).

2.10.2. DPPH

Um dos testes mais conhecidos para avaliar capacidade antioxidante é o DPPH (SRIDHAR; CHARLES, 2019). O DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) é um radical de nitrogênio orgânico, estável, de cor violeta, que possui absorção na faixa de 515-520 nm. É um método químico, aplicado para determinar a capacidade antioxidante de um composto em sequestrar radicais livres, sendo rápido, prático, com boa estabilidade e muito utilizado em ensaios colorimétricos (KEDARE; SINGH, 2011).

Segundo Moon e Shibamoto. (2009) o método DPPH é utilizado em mais de 90% dos estudos de avaliação antioxidante de substâncias puras, misturas ou matrizes complexas. Através dele é possível avaliar a capacidade antioxidante de compostos específicos ou de um extrato em curto período de tempo (SUCUPIRA et al., 2012).

Durante o processo de oxi-redução, o DPPH é reduzido a difenil-picril-hidrazina, e a cor altera de púrpura para tonalidade amarelada, esta mudança está ligada a um decréscimo na absorbância e caracteriza uma resposta positiva à capacidade antioxidante da amostra (BORGES et al., 2011).

2.10.3. FRAP

O método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) também é um método amplamente utilizado para medir a capacidade antioxidante, e provavelmente o mais comum com base na reação de íons metálicos (PASTOR et al., 2020). Neste método, o complexo férrico TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) com Fe^{+3} , em meio ácido, é reduzido à sua forma ferrosa (Fe^{+2}). Assim o complexo Fe (III)-TPTZ, de coloração azul clara, é reduzido a Fe (II)-TPTZ, de coloração azul-escura, na presença de um antioxidante, de modo que sua resposta está ligado ao aumento da absorbância lido em 595nm (MARQUETTI et al., 2018; SUCUPIRA et al., 2012).

3 JUSTIFICATIVA

A própolis verde se apresenta como um alimento com inúmeras propriedades funcionais e benéficas à saúde comprovadas por estudos científicos. No entanto, com baixa adesão de consumo pela população em geral devido às características desagradáveis que normalmente possui como sabor amargo e odor forte. A relevância desse estudo é oferecer aos consumidores uma nova forma de consumo da própolis verde, através de um produto com alto valor nutricional e antioxidante, e com características sensoriais mais atrativas e agradáveis.

4 OBJETIVOS

4.1. Geral

Avaliar compostos bioativos e capacidade antioxidante de diferentes formulações de suco de frutas vermelhas suplementado com própolis verde, e investigar sua aceitação sensorial pelo consumidor.

4.2. Específicos

- 4.2.1. Avaliar quatro amostras de extratos aquosos de própolis verde comerciais quanto ao teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante;
- 4.2.2. Elaborar três formulações de suco de frutas vermelhas suplementado com própolis verde em três concentrações diferentes;
- 4.2.3. Quantificar fenólicos totais, flavonoides totais, e a capacidade antioxidante das diferentes formulações, por meio dos métodos ABTS, DPPH e FRAP;
- 4.2.4. Comparar o conteúdo de compostos bioativos e a capacidade antioxidante das diferentes formulações das bebidas com relação ao suco puro sem adição de própolis;
- 4.2.5. Avaliar aceitação sensorial e intenção de compra das formulações.

5 METODOLOGIA

5.1. Matérias-primas

Para realização da primeira parte do estudo, quatro (4) amostras de extratos aquosos de própolis verde (marcas distintas) foram adquiridas em comércio local, nas cidades de Ouro Preto e Belo Horizonte - Minas Gerais, Brasil. Sendo, três amostras oriundas de São Paulo e uma amostra de Minas Gerais.

Após a realização de testes preliminares para caracterização dessas amostras, aquela com melhores resultados para compostos fenólicos foi empregada na segunda parte do estudo. Portanto, foi utilizada para formulação dos sucos, uma amostra de extrato aquoso de própolis verde, fornecida pela empresa Pharmanéctar®, localizada na cidade de Caeté - Minas Gerais, lote PWE0219.

As amostras de suco de frutas vermelhas empregadas nas formulações foram fornecidas pela empresa Campo Largo, localizada na cidade de Campo Largo – Paraná, lote L9084.

Após aquisição das amostras, as mesmas foram transportadas para a Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), onde foram armazenadas adequadamente, até o momento de utilização. A própolis foi armazenada em local fresco e seco conforme instruções do fornecedor, e o suco sob refrigeração (6 a 10°C), ambos sob ausência de luz.

5.1.1. Padrões e Reagentes

Os padrões de quercetina, ácido gálico e trolox foram adquiridos da Sigma-Aldrich®. Os reagentes Folin Ciocateau (Dinâmica®) e cloreto de alumínio hexahidratado (Synth) foram utilizados para determinação compostos fenólicos e flavonóides, respectivamente. Para análise da capacidade antioxidante, os reagentes ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico), DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) e TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina) foram obtidos da Sigma-Aldrich®. Os demais reagentes utilizados foram todos de grau analítico.

5.1.2. Caracterização das amostras

5.1.2.1. *Primeira etapa do estudo – Amostras de extratos aquosos de própolis verde comerciais*

As amostras de extratos aquosos de própolis verde comerciais foram avaliadas quanto aos teores de fenólicos totais e capacidade antioxidante pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP.

5.1.2.2. *Segunda etapa do estudo – Formulações de suco suplementado com extratos aquosos de própolis verde*

As formulações de suco foram avaliadas quanto aos teores de fenólicos e flavonóides totais e capacidade antioxidante pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP.

5.1.3. Formulação dos sucos

Foram elaboradas três (3) formulações de sucos de frutas vermelhas suplementados com extratos aquosos de própolis verde, em três concentrações diferentes. As concentrações finais dos extratos aquosos de própolis nas diferentes formulações dos sucos foram: 3,1 mg/mL de suco (F₁), 4,6 mg/mL de suco (F₂), 6,1 mg/mL de suco (F₃), considerando a concentração inicial da própolis de 11% de extrato seco e a densidade do extrato de 1,15 g/mL.

As formulações continham suco de frutas vermelhas, xilitol e extrato aquoso de própolis verde (Figura 2). O suco empregado continha os seguintes ingredientes, declarados no rótulo: suco de uva integral, água, polpa de açaí médio, sucos concentrados de cranberry, romã, ameixa, morango, e aroma natural de frutas vermelhas. As proporções de cada ingrediente foram definidas após realização de testes sensoriais prévios, entre os membros da pesquisa.

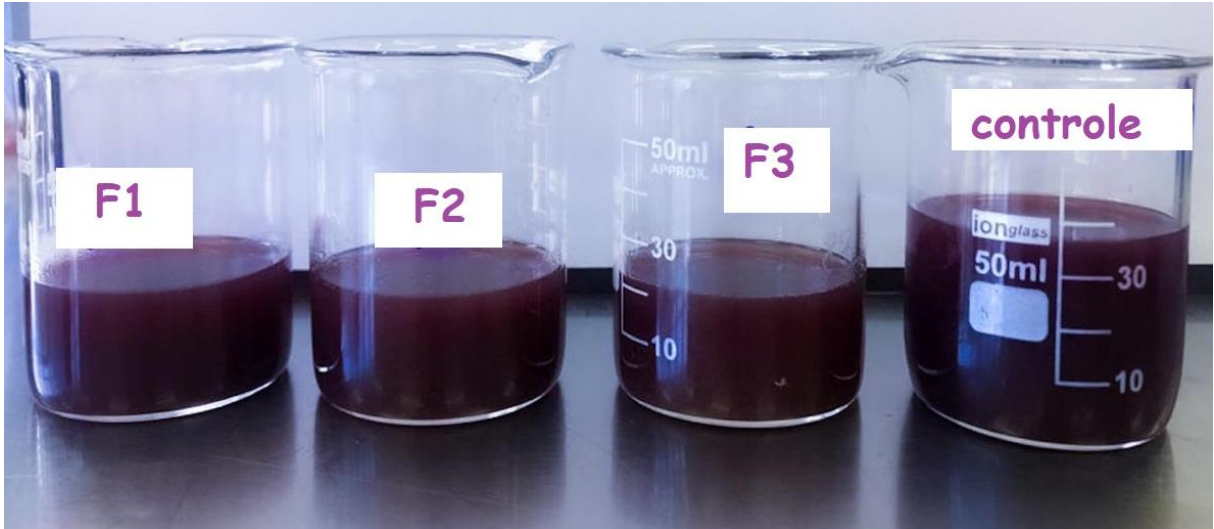


Figura 2. Formulações de suco de frutas vermelhas suplementado com própolis em diferentes concentrações e suco controle sem adição de própolis

Todos os ingredientes adicionados aos sucos foram pesados em balança semi-analítica (OHAUS Corporation), segundo as proporções descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Formulações de suco de frutas vermelhas suplementado com própolis

Formulação	Extrato aquoso de própolis verde (g)	Xilitol (g)	Suco de frutas vermelhas (mL)
F ₁	3,2	3,2	100
F ₂	4,8	4,8	100
F ₃	6,4	6,4	100

5.2. Métodos

5.2.1. Compostos fenólicos totais

O teor total de fenólicos foi determinado utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu, segundo metodologia citada por Singleton e Rossi (1965) com modificações. Um volume de 0,25 mL da amostra, apropriadamente diluída, foi transferido para tubos de ensaio e adicionado de 1,25 mL de reagente Folin-Ciocalteu diluído em água destilada (1:10; v.v⁻¹). Após 3 min de repouso ao abrigo da luz, 1,0 mL de solução saturada de Na₂CO₃ (7,5%; m.v⁻¹) foi adicionado. Após 1 h de repouso em ausência de luz, as absorbâncias das amostras foram medidas em espectrofotômetro Digital UV-Visível (Modelo GTA-97) em comprimento de onda de 760 nm. Uma curva padrão de ácido gálico foi construída, nas concentrações 5, 10,

15, 25, 50, 55, 62,5mg/L (APÊNDICE A) e os resultados foram expressos como mg de ácido gálico por mL de amostra (mg AGE·mL⁻¹).

5.2.2. Flavonoides totais

A determinação dos teores de flavonoides totais foi realizada segundo o método descrito por Woisky e Salatino (1998) com modificações. Para extração dos compostos flavonóides nos extratos de própolis e nas formulações dos sucos, as amostras foram tratadas com HCl 0,2 mol/L, a fim de facilitar a solubilização das mesmas em metanol. Para isso, 10 mL da solução de ácido clorídrico foram adicionados a 1,0 g das amostras que após 10 minutos em repouso foram maceradas, filtradas em papel filtro quantitativo (unifil C40), e seu volume reajustado com metanol PA. Posteriormente, alíquotas apropriadamente diluídas das amostras, foram adicionadas a um volume igual de solução metanólica de cloreto de alumínio a 5%. Para o branco, substituiu-se a solução de cloreto de alumínio por metanol PA. Após repouso por 30 minutos foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 420 nm. O conteúdo de flavonoides foi determinado usando uma curva padrão de quercetina nas concentrações de 2,5, 5, 10, 15, 20 e 25 mg/L (APÊNDICE B), e os resultados expressos em mg de EQ por mL de amostra.

5.2.3. Determinação da capacidade antioxidante por ABTS

A determinação da capacidade antioxidante pelo ensaio do radical ABTS [2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico)] foi realizada segundo metodologia descrita por Re et al. (1999) com modificações. A solução aquosa de ABTS (7 mM) foi preparada pesando 0,096 g do reagente, diluído em água destilada para um volume final de 25mL. Preparou-se o radical ABTS misturando quantidades iguais de solução aquosa de ABTS com persulfato de potássio (2,45 mM), e essa mistura colocada por 15 min em banho de 45-50°C. Após esse tempo, o radical ABTS foi diluído com etanol 80% v/v até obter absorvância de 0,700 +/- 0,05 a 734 nm. Alíquotas das soluções das amostras, apropriadamente diluídas, foram adicionadas a tubos de ensaio, acrescidos de 2,5mL de solução ativada de ABTS. Após 6 min de reação, a leitura da absorvância foi realizada a 734 nm, utilizando um controle onde o volume de amostra foi substituído por água destilada. Os valores de capacidade antioxidante foram obtidos a partir da construção de uma curva padrão de Trolox nas concentrações de

25, 50, 100, 300, 500, e 700 $\mu\text{mol/L}$ (APÊNDICE C) e expressos em μmol de Trolox por mL de amostra.

5.2.4. Determinação da capacidade antioxidante por DPPH

A determinação da capacidade antioxidante das amostras pelo ensaio DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) foi realizada segundo metodologia descrita por Rufino et al. (2007). O reagente DPPH 0,06 mM foi obtido a partir da diluição de 0,0026 g de reagente DPPH com álcool etílico 80% em balão volumétrico de 100 mL. Alíquotas das soluções das amostras, apropriadamente diluídas, foram adicionadas a tubos de ensaio, acrescidas de 1,95 mL da solução de DPPH. Um controle foi realizado substituindo o mesmo volume de amostra por álcool etílico 80%. A leitura da absorbância foi realizada a 517nm, após 30 min de reação. Os valores de capacidade antioxidante do DPPH foram obtidos a partir da construção de uma curva padrão de Trolox nas concentrações 25, 50, 100, 300, 500, 700 e 900 μM (APÊNDICE D), e expressos em μmol de Trolox por mL de amostra.

5.2.5. Determinação da capacidade antioxidante por FRAP

A determinação da capacidade antioxidante pelo ensaio FRAP (Método de Redução do Ferro) foi determinada de acordo com metodologia descrita por Rufino et al. (2006). A solução de FRAP foi obtida a partir da combinação de 20,8 mL de tampão acetato 0,3 M, 2,1 mL de uma solução de TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina) 10 mM e 2,1 mL de uma solução aquosa de cloreto férrico 20 mM. Alíquotas das soluções das amostras, apropriadamente diluídas, foram adicionadas a tubos de ensaio, acrescidas de 1,8mL da solução de FRAP e 0,18 mL de água destilada, e colocada em banho termostático a 37 °C por 30 min. Após o tempo de reação a leitura da absorbância foi realizada a 595 nm. Os valores da capacidade antioxidante para o FRAP foram obtidos a partir de uma curva padrão de Trolox nas concentrações 100, 200, 300, 400, 600 e 900 μM (APÊNDICE E), e expressos em μmol de Trolox por mL de amostra.

5.2.6. Análise Sensorial

A análise de aceitação sensorial das formulações foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial da Escola de Nutrição da UFOP. Primeiramente, os participantes receberam o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (APÊNDICE F) onde constavam informações a respeito do estudo, para então decidirem se gostariam de participar da análise, com assinatura do termo. Imediatamente após, eles receberam um questionário para preenchimento de dados pessoais, socioeconômicos, e algumas perguntas a respeito do conhecimento sobre alimentos funcionais, conhecimento e consumo da própolis e das frutas vermelhas, além do nível de preocupação com a saúde (APÊNDICE G).

A avaliação foi dividida em duas etapas, e na primeira delas, 102 provadores voluntários, não treinados, realizaram um teste cego, com amostras das três formulações dos sucos. Para cada amostra, 20 mL dos sucos foram oferecidos em copos plásticos codificados com números aleatórios. Foi oferecida água como limpador de paladar entre uma amostra e outra. Os consumidores receberam fichas de avaliação do teste de aceitação para cada formulação. A aceitabilidade das formulações em relação aos atributos sensoriais foi avaliada usando uma escala hedônica de 9 pontos, variando de desgostei extremamente (1) a gostei extremamente (9). Além da análise sensorial, também foi perguntado a intenção de compra das três amostras, em uma escala de 1 a 5 (de “certamente não compraria” a “certamente compraria”) (APÊNDICE H).

Na segunda etapa da análise sensorial, 102 provadores, voluntários e não treinados, receberam um informativo com as alegações funcionais da própolis e das frutas vermelhas (APÊNDICE I), e logo após leitura, receberam as mesmas amostras dos sucos, com códigos diferentes e aleatórios, contendo as instruções para avaliar a aceitação empregando-se a mesma escala hedônica e intenção de compra descrita anteriormente.

5.2.7. Considerações éticas

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFOP e registrado pelo CAAE 14919519.6.0000.5150.

5.2.8. Análise estatística

Para análise estatística dos dados obtidos para os compostos bioativos e capacidade antioxidante das amostras, as médias referentes às triplicatas, foram submetidas à análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de Tukey, em caso de diferença estatística ($p < 0,05$). O teste de Dunnett foi utilizado nas análises de comparação das médias entre as formulações com o suco controle. A comparação entre as médias obtidas nas duas etapas da análise sensorial foi determinada por meio de um teste t pareado. Todas as análises estatísticas foram realizadas ao nível de significância de 5%, empregando-se o software SAS v.9.

6 RESULTADOS

6.1. Caracterização dos extratos de própolis comerciais

Os extratos de própolis comerciais foram caracterizados por meio de fenólicos totais e capacidade antioxidante, e os resultados expressos a seguir.

Os resultados das médias obtidas para o conteúdo de fenólicos dos extratos de própolis verde estão apresentados na Tabela 2. Pode-se observar que, apesar de serem todos extratos aquosos de própolis verde com a mesma concentração mínima de extrato seco, indicado no rótulo, as quatro amostras diferiram estatisticamente entre si para os valores de fenólicos, variando entre 37,34 a 47,02 mg AGE.mL⁻¹ de extrato. O E₁ apresentou o maior valor de fenólicos entre os extratos e E₂ o menor valor (Tabela 2). Esse resultado sugere que esses compostos diferem em termos quantitativos tanto de acordo com a origem da própolis como também com as condições de extração de cada fabricante.

Tabela 2. Conteúdo de fenólicos totais dos extratos aquosos de própolis verde comerciais

Extratos comerciais	Fenólicos totais
E ₁	47,02 ± 0,06 _a
E ₂	37,34 ± 0,07 _d
E ₃	43,62 ± 0,18 _c
E ₄	45,52 ± 0,21 _b

Resultados expressos em média ± desvio padrão (mg AGE.mL⁻¹ de extrato). Letras diferentes na coluna demonstram diferença significativa entre si, através do teste de Tukey a 5% de probabilidade.

6.1.1. Capacidade antioxidante

A Tabela 3 apresenta os resultados obtidos para a capacidade antioxidante avaliada pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP e mostra que para os três métodos, todos os valores diferiram estatisticamente entre si ($p > 0,05$). Para o método ABTS, os valores variaram entre 74,75 a 158,92 μmol de Trolox.mL⁻¹ de extrato, enquanto que pelo método DPPH foram encontrados valores entre 48,12 a 119,81 μmol de Trolox.mL⁻¹ de extrato, e pelo método FRAP, os valores ficaram entre 75,14 a 149,71 μmol de Trolox.mL⁻¹ de extrato. O extrato E₂ apresentou o menor valor de capacidade

antioxidante pelos três métodos avaliados, bem como a menor média para o teor de fenólicos totais (Tabela 2). No entanto, os maiores valores variaram de acordo com o método utilizado, visto que E₁ obteve a maior média para ABTS, o E₃ para DPPH e o E₄ para FRAP.

Tabela 3. Capacidade antioxidante dos extratos de própolis verde comerciais pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP

Extratos comerciais	ABTS	DPPH	FRAP
E ₁	158,92 ± 1,34 ^a	84,91 ± 0,29 ^c	124,10 ± 0,59 ^c
E ₂	74,75 ± 0,22 ^d	48,12 ± 0,38 ^d	75,14 ± 0,58 ^d
E ₃	121,39 ± 0,98 ^c	129,48 ± 0,78 ^a	139,46 ± 0,30 ^b
E ₄	155,25 ± 1,75 ^b	119,81 ± 1,74 ^b	149,71 ± 0,97 ^a

Resultados expressos em média e ± Desvio Padrão (μmol de Trolox. mL^{-1} de extrato). Letras diferentes nas colunas demonstram diferença significativa entre si, através do teste de Tukey a 5% de probabilidade.

6.2. Caracterização das formulações

6.2.1. Conteúdo total de fenólicos e flavonóides

Para o desenvolvimento das formulações, foi selecionado um dos extratos entre as marcas comerciais testadas anteriormente, o qual foi utilizado para suplementar o suco de frutas vermelhas. O critério para seleção foi baseado quanto ao maior teor de fenólicos totais, uma vez que a capacidade antioxidante dos extratos variou entre os métodos analisados. Dessa forma, foi selecionado o extrato E₁, como utilizamos uma nova amostra desse extrato de lote diferente ao anterior, ele foi novamente caracterizado quanto ao teor de fenólicos totais, e também avaliado seu conteúdo em flavonóides totais. A média obtida para o teor de fenólicos totais desse extrato foi $47,58 \pm 0,06$ mg de AGE. mL^{-1} de própolis e o teor de flavonóides totais foi $2,67 \pm 0,01$ mg de EQ. mL^{-1} de própolis.

Os resultados obtidos para o teor de fenólicos e flavonóides totais das três formulações de suco suplementado com própolis verde nas diferentes concentrações e do suco sem adição de própolis (controle) estão descritos na tabela 4.

Os dados apresentados mostram que os valores de fenólicos totais das formulações variaram de 3,73 a 5,03 mg de AGE. mL^{-1} de suco, sendo esses valores proporcionais à concentração de própolis adicionada, como esperado. É possível

verificar que as formulações F₁, F₂, e F₃ apresentaram um aumento no teor de fenólicos, de 41,82; 67,68 e 91,25% respectivamente, com relação ao controle (Tabela 4).

Os testes estatísticos efetuados mostraram que todas as amostras foram diferentes entre si. E ao comparar cada formulação com o controle pelo teste de Dunnet, os valores também apresentaram diferença significativa, mostrando a eficácia da adição de própolis nos sucos quanto aos teores de fenólicos totais. Com relação aos valores de flavonóides totais, não foi possível detectar o teor desses compostos no suco puro (controle) nas condições testadas. No entanto, ao adicionar a própolis no suco, esse teor foi quantificado e os valores variaram entre 0,14 a 0,22 mg de EQ.mL⁻¹ (Tabela 4). Observou-se que assim como o teor de fenólicos, esses valores também aumentaram com a adição de concentrações crescentes de própolis, mostrando o potencial efeito da própolis verde como suplemento alimentar (Tabela 4).

Tabela 4. Conteúdo total de fenólicos e flavonoides das formulações de suco suplementado com própolis e controle

Amostras	Fenólicos totais	Flavonoides totais
Controle	2,63 ± 0,03 ^a	ND
F ₁	3,73 ± 0,03 ^{b ***}	0,14 ± 0,01 ^a
F ₂	4,41 ± 0,02 ^{c ***}	0,18 ± 0,01 ^b
F ₃	5,03 ± 0,03 ^{d ***}	0,22 ± 0,00 ^c

Resultados expressos em média ± Desvio Padrão. Fenólicos totais expressos em mg AGE.mL⁻¹ de suco e flavonoides totais expressos em mg de EQ/mL de suco. Letras diferentes nas colunas demonstram diferença significativa entre si, através do teste Tukey a 5% de probabilidade. Comparações significativas pelo teste de Dunnet (p<0,05) entre o controle e as formulações são indicadas por ***. ND= valor não detectado.

6.2.2. Determinação da capacidade antioxidante por ABTS, DPPH e FRAP

Os resultados obtidos para análise de capacidade antioxidante descritos na Tabela 5 mostram que todas as amostras diferem estatisticamente entre si, e as três formulações diferem do controle. No ensaio ABTS o valor encontrado para o controle foi de 462,84 $\mu\text{mol de Trolox}\cdot 100\text{mL}^{-1}$, e nas formulações os valores variaram entre 1119,15 a 1706,71 $\mu\text{mol de Trolox}\cdot 100\text{mL}^{-1}$, mostrando um aumento de quase 4x maior entre o controle e as formulações contendo própolis. Para o ensaio DPPH, o controle apresentou valor de 221,53 $\mu\text{mol de Trolox}\cdot 100\text{mL}^{-1}$, e nas formulações os valores ficaram entre 775,54 a 1059,92 $\mu\text{mol de Trolox}\cdot 100\text{mL}^{-1}$, apresentando o aumento mais significativo entre as análises de antioxidantes. Os valores médios de capacidade antioxidante foram maiores para o ensaio FRAP, entretanto foi o que menos diferiu entre as formulações e controle. O valor encontrado para o controle foi 1057,24 $\mu\text{mol de Trolox}\cdot 100\text{mL}^{-1}$ e para as formulações os valores variaram entre 1353,05 a 1926,74 $\mu\text{mol de Trolox}\cdot 100\text{mL}^{-1}$. Os dados mostram que houve um aumento significativo nos valores de capacidade antioxidante entre as formulações e o controle, avaliada pelos três métodos, sendo esse aumento proporcional à concentração de própolis verde adicionada no suco (Tabela 5).

Tabela 5. Capacidade antioxidante pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP das formulações de suco suplementado com própolis e controle

Formulações	ABTS	DPPH	FRAP
Controle	462,84 \pm 0,05 ^a	221,53 \pm 0,05 ^a	1057,24 \pm 0,02 ^a
F ₁	1119,15 \pm 0,09 ^{b ***}	775,54 \pm 0,09 ^{b ***}	1353,05 \pm 0,04 ^{b ***}
F ₂	1369,18 \pm 0,05 ^{c ***}	899,18 \pm 0,05 ^{c ***}	1698,80 \pm 0,03 ^{c ***}
F ₃	1706,71 \pm 0,06 ^{d ***}	1059,92 \pm 0,06 ^{d ***}	1926,74 \pm 0,03 ^{d ***}

Resultados expressos em média e desvio padrão ($\mu\text{mol de Trolox}\cdot 100\text{mL}^{-1}$ de suco). Letras diferentes nas colunas demonstram diferença significativa entre si, através do teste Tukey a 5% de probabilidade. Comparações significativas pelo teste de Dunnet ($p < 0,05$) entre o controle e as formulações são indicadas por ***.

6.3. Análise sensorial

6.3.1. Questionário

O teste de aceitação sensorial foi realizado por 102 provadores, sendo 86% do sexo feminino e 14% do sexo masculino, com idades entre 18 e 45 anos, concentrando-se a maior parte na faixa de 18 a 24 anos (71%). Entre os participantes, 76% eram alunos de graduação da UFOP. As respostas do questionário aplicado mostraram que a maior parte dos consumidores responderam que possuem de “média” a “muita” preocupação com a saúde 47% e 48% respectivamente (Figura 3). Aproximadamente 64% responderam que praticam alimentação saudável no dia a dia, ou pelo menos na maioria das vezes. No que diz respeito ao conhecimento sobre alimentos funcionais, 78% conhecem esses alimentos e acham importante inclui-los na alimentação diária. Com relação ao conhecimento das frutas vermelhas e da própolis, 73% relataram que conhecem e consomem frutas vermelhas, e 27% conhecem, mas não as consome. No entanto para a própolis, 48% dos provadores conhecem e consomem a própolis, e 51% conhecem, mas não consomem, mostrando que a maior parte dos consumidores, não consomem própolis no dia a dia.

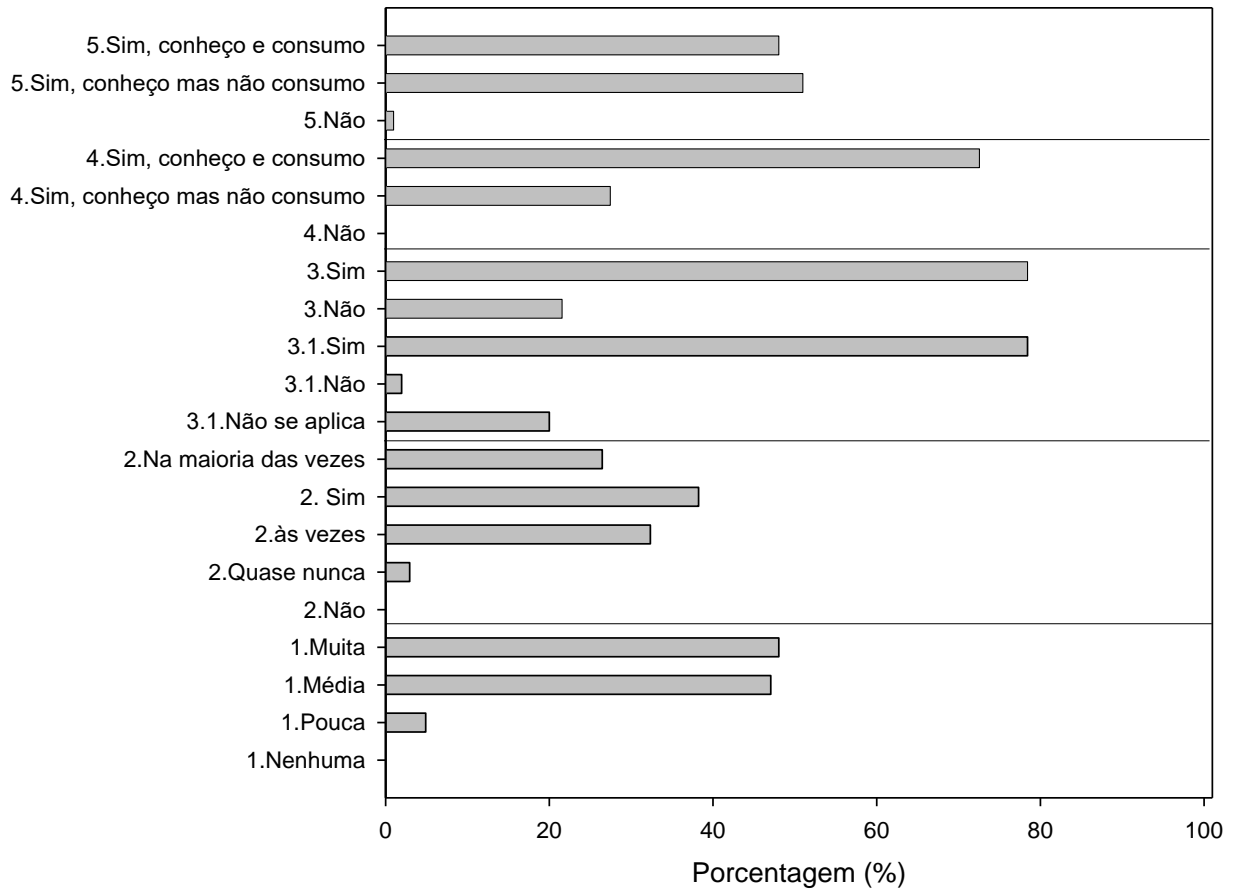


Figura 3. Respostas do questionário aplicado na primeira etapa da análise sensorial. Perguntas respectivas para as respostas: 1. Nível de Preocupação com a saúde 2. Prática de alimentação saudável no dia a dia 3. Conhece alimentos funcionais 3.1 Se sim acha importante incluir na alimentação 4. Conhece e consome frutas vermelhas 5. Conhece e consome própolis.

6.3.2. Primeira etapa do teste de aceitação sensorial (teste cego)

As médias para as notas obtidas no teste sensorial das três formulações de acordo os cinco atributos estão descritos na tabela 6. Observou-se que as notas foram bem próximas para todos os atributos, com médias variando entre 6,6 a 7,1 entre as três formulações testadas, o que corresponde na escala hedônica aos termos “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”. Nota-se que não houve diferença estatística entre as formulações, em nenhum atributo avaliado, logo podemos inferir, que não houve diferença na aceitação entre as formulações.

Tabela 6. Resultado de médias dos escores do teste de aceitação sensorial das três formulações (F1, F2 e F3) de suco com própolis na primeira etapa

Atributos	F1	F2	F3	<i>P-valor</i>
Aparência	7,1 ± 1,4 a	7,0 ± 1,3 a	6,7 ± 1,5 a	0.0707
Sabor	6,6 ± 1,7 a	6,7 ± 1,7 a	7,0 ± 1,7 a	0.2208
Aroma	6,8 ± 1,7 a	6,8 ± 1,5 a	7,1 ± 1,6 a	0.3459
Cor	7,0 ± 1,5 a	6,9 ± 1,5 a	6,6 ± 1,7 a	0.2148
Impressão global	7,0 ± 1,3 a	6,9 ± 1,4 a	7,1 ± 1,5 a	0.6213

Resultados expressos em média e desvio padrão, para as três formulações de suco suplementado com própolis. Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não se diferem estatisticamente através do teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para uma maior compreensão da distribuição dos escores na aceitação sensorial individual de cada formulação, realizou-se um agrupamento dos escores em relação aos atributos avaliados, referente à escala hedônica de 9 pontos. Dessa forma, obtiveram-se três classes distintas (aprovação, indiferente e rejeição): “Aprovação” – equivalente aos escores de 6 (“gostei ligeiramente”) até 9 (“gostei extremamente”); “Indiferente” - equivalente ao escore 5 (“não gostei nem desgostei”); e “Rejeição” - equivalente aos escores de 1 (“desgostei extremamente”) a 4 (“desgostei ligeiramente”). Por meio desse agrupamento foi realizada uma análise de frequência para cada formulação, as quais estão apresentadas graficamente nas Figuras 4, 5 e 6.

Na Figura 4 está representado o gráfico de frequência dos escores obtidos para a formulação 1. A frequência de aprovação entre os atributos foram semelhantes, contudo, o atributo impressão global recebeu a maior frequência de notas, com 89,22% de aprovação pelos consumidores, e apenas 5,88% dos provadores reprovaram as amostras para esse atributo, mostrando que de forma geral, os provadores gostaram dessa formulação. No entanto, foi observado que o sabor e o aroma apresentaram os maiores índices de reprovação, provavelmente por serem esses os atributos que mais influenciam negativamente na aceitação da própolis.

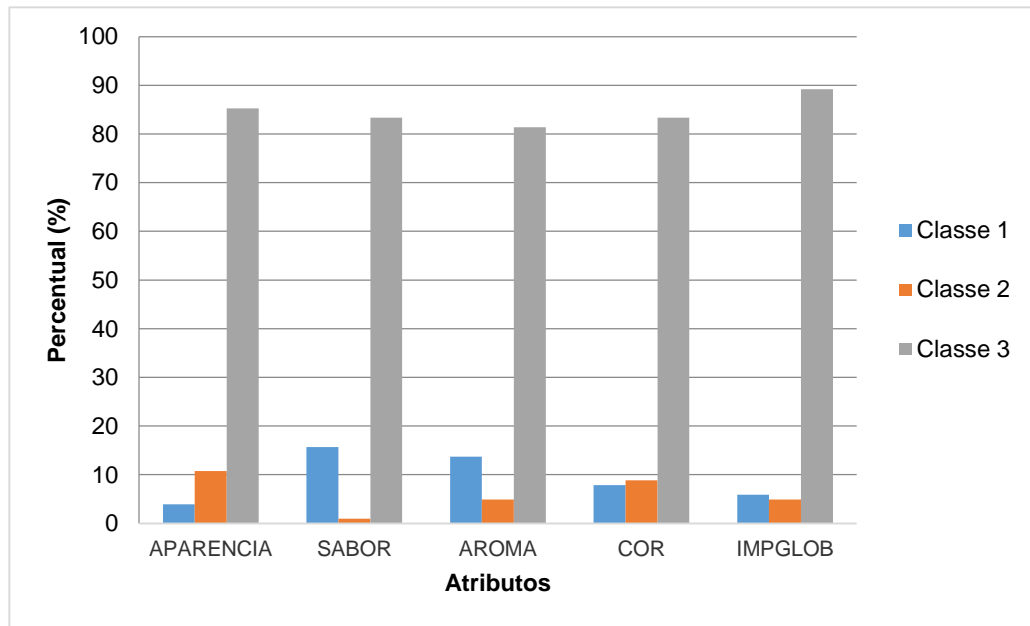


Figura 4. Gráfico de frequência dos escores para os atributos da Formulação 1 no teste de aceitação sensorial. Classe 1: Rejeição (escores 1-4) Classe 2: Indiferente (escore 5) Classe 3: Aprovação (escores 6-9)

De acordo com a Figura 5, os resultados para a formulação 2 mostram que o atributo melhor avaliado também foi a impressão global, com 89,22% de aprovação, seguidos pela aparência e cor, ambos com 87,25% de aprovação. Os atributos sabor e aroma, assim como na formulação 1, tiveram os maiores índices de rejeição, com 16,67 e 9,8% de notas ruins, respectivamente, mostrando que essas foram as características mais difíceis de mascarar nessas formulações.

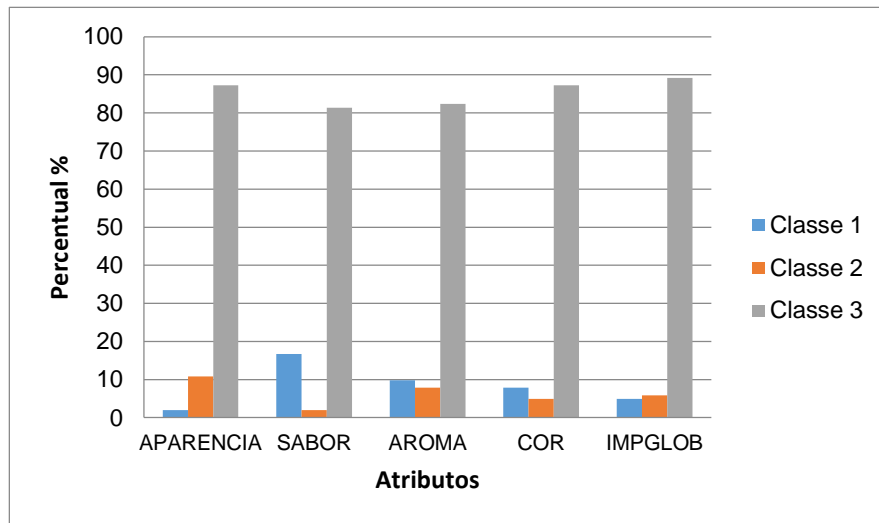


Figura 5. Gráfico de frequência dos escores para os atributos da Formulação 2 no teste de aceitação sensorial. Classe 1: Rejeição (escores 1-4) Classe 2: Indiferente (escore 5) Classe 3: Aprovação (escores 6-9)

Para a formulação 3, a análise de frequência mostrou que o atributo impressão global novamente foi o mais bem avaliado pelos provadores, com 90,2% de aprovação, sendo esse valor maior do que para as outras formulações (Figura 6). No entanto, nota-se que o atributo cor apresentou um índice de aceitação menor (74,51% de aprovação), comparado às outras formulações e ainda apresentou o maior índice de rejeição com relação aos outros atributos, com 16,67% das notas ruins. Esse fato pode ser justificado, devido à maior concentração de própolis empregada nessa formulação, o que alterou sensorialmente a cor, deixando a amostra mais escura, e, portanto, desagradando os provadores. Outro fato que comprova essa hipótese é a redução da aprovação do atributo aparência dessa formulação em comparação com as outras formulações, com 81,37% de aprovação e 9,8% de rejeição.

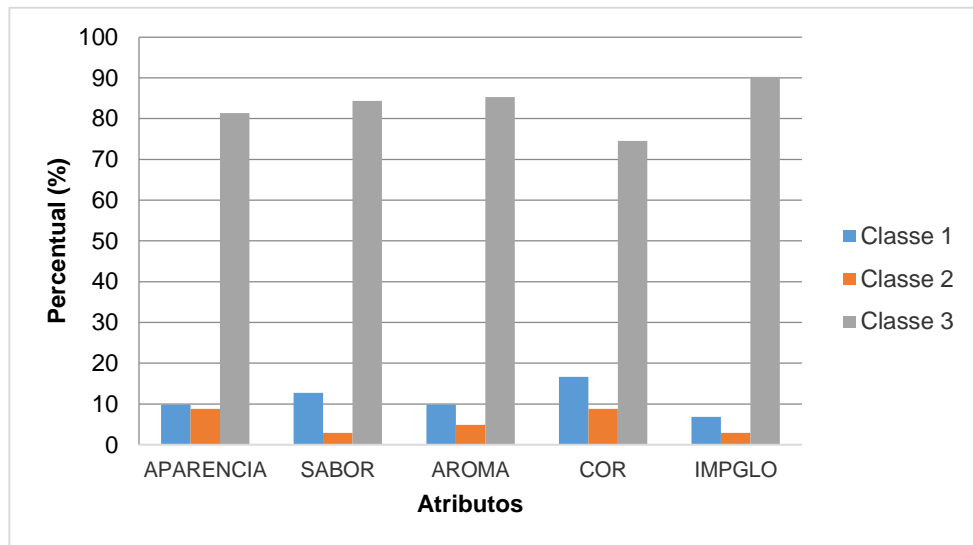


Figura 6. Gráfico de frequência de notas para os atributos da formulação 3 no teste de aceitação sensorial. Classe 1: Rejeição (escores 1-4) Classe 2: Indiferente (escore 5) Classe 3: Aprovação (escores 6-9)

6.3.3. Segunda etapa do teste de aceitação sensorial: alegação funcional informada

Para avaliar os efeitos das alegações funcionais das frutas vermelhas e da própolis, na aceitação sensorial das formulações, foi realizado um teste t pareado para comparação das médias entre a primeira etapa (teste cego) e a segunda etapa com as informações. Os resultados estão descritos na tabela 7, e mostram que não houve diferença estatística entre as médias das duas etapas para todos os atributos avaliados das três formulações.

Tabela 7. Comparação entre médias obtidas nas duas etapas de teste de aceitação sensorial (sem e com informação sobre as alegações funcionais) dos sucos adicionados de própolis.

Impressão global			
Amostras	1ª sessão	2ª sessão	P-valor
F1	7,14	7,25	0,1921
F2	7,01	7,11	0,3910
F3	6,95	7,05	0,6593
Aparência			
Amostras	1ª sessão	2ª sessão	P-valor
F1	7,11	7,22	0,5103
F2	7,02	7,24	0,1950
F3	6,69	6,84	0,4594
Sabor			
Amostras	1ª sessão	2ª sessão	P-valor
F1	6,63	7,07	0,0602
F2	6,68	7,03	0,1156
F3	7,01	7,01	1,0000
Aroma			
Amostras	1ª sessão	2ª sessão	P-valor
F1	6,76	6,98	0,3454
F2	6,81	7,01	0,3098
F3	7,07	6,93	0,5347
Cor			
Amostras	1ª sessão	2ª sessão	P-valor
F1	7,00	6,94	0,7729
F2	6,92	6,77	0,4894
F3	6,63	6,60	0,9008

6.3.4. Intenção de compra

O gráfico da figura 7 mostra os resultados para intenção de compra da primeira etapa da análise sensorial. Pode-se observar que a maior frequência de escores para intenção de compra nas três formulações foi para o escore 4, com até 39,2% dos votos, que corresponde na escala hedônica, ao termo “provavelmente compraria”. Apesar de uma grande parte dos provadores terem associado o termo “não sei se compraria” para todas as formulações (de 32,0 a 39,0%), poucos provadores rejeitaram totalmente a intenção de compra das amostras, representados pelas menores frequências (de 5 a 6%) com escores “certamente não compraria”.

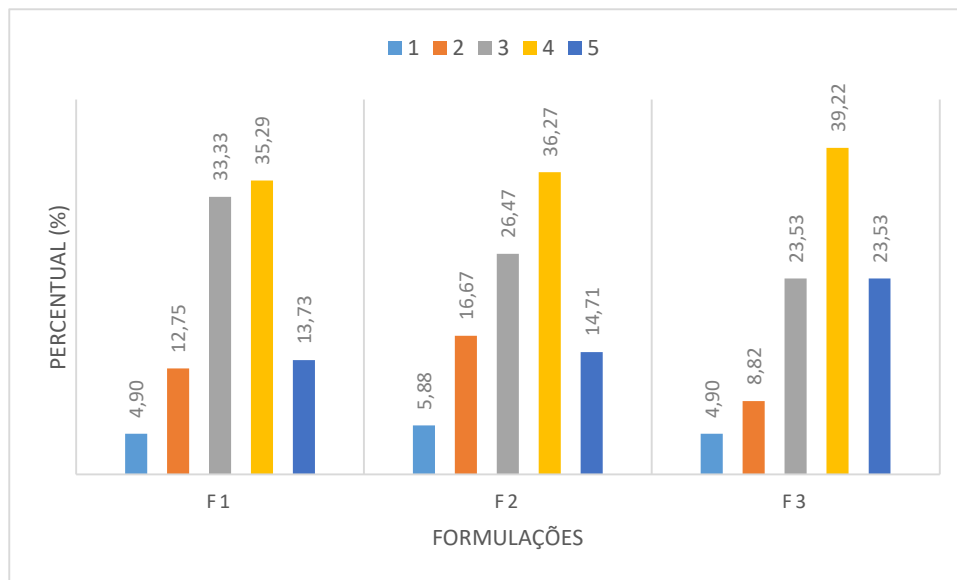


Figura 7. Gráfico de intenção de compra das formulações na primeira etapa do teste de aceitação sensorial. 1- Certamente não compraria; 2- Provavelmente não compraria; 3- Não sei se compraria; 4- Provavelmente Compraria; 5- Certamente Compraria.

Com relação à segunda etapa da análise sensorial (Figura 8) a maior frequência de intenção de compra também foi para o escore 4 (“provavelmente compraria”), com 40,2%. Entretanto, ao comparar a intenção de compra da primeira e segunda etapa, nota-se que a frequência de escores 1 e 2, que indicam rejeição da intenção de compra das amostras, diminuíram para as três formulações com relação a primeira etapa, e ainda, de caráter positivo, a frequência de escores 4 e 5, que indicam “provavelmente e certamente compraria”, aumentaram.

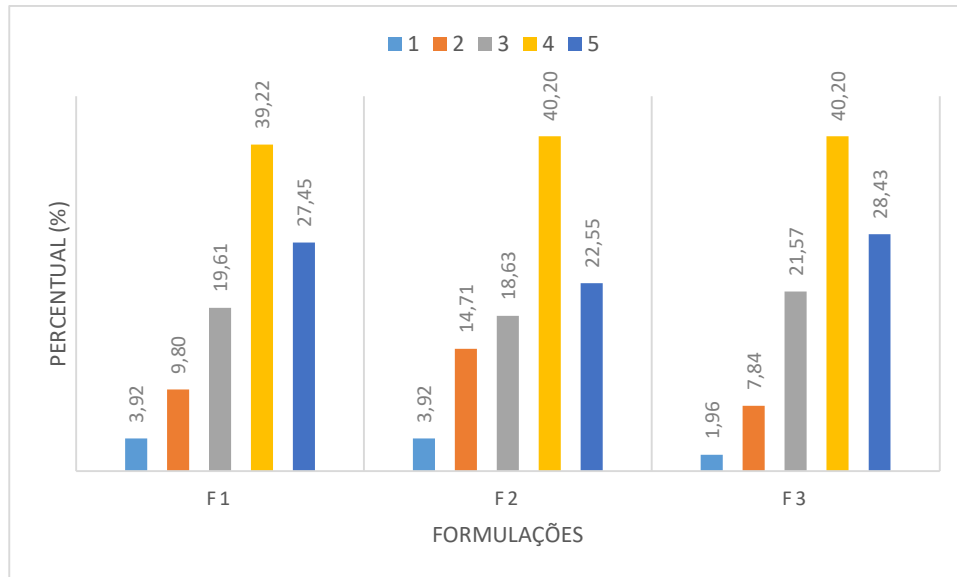


Figura 8. Gráfico de intenção de compra das formulações na primeira etapa do teste de aceitação sensorial. 1- Certamente não compraria; 2- Provavelmente não compraria; 3- Não sei se compraria; 4- Provavelmente Compraria; 5- Certamente Compraria.

7 DISCUSSÃO

7.1. Avaliação da qualidade dos extratos de própolis verde

De acordo com as informações fornecidas nas embalagens dos extratos de própolis verde comerciais, todos eles apresentam a mesma concentração de 11% de extrato seco, que é a concentração mínima exigida pela Legislação Brasileira para extratos comerciais de própolis (BRASIL, 2001). Entretanto, as médias obtidas para o teor de fenólicos e para a capacidade antioxidante pelos três métodos analisados, mostraram diferenças estatísticas entre todos os extratos. Esse fato pode ser justificado devido à possíveis diferenças quanto ao período da coleta, a forma de extração, variações ambientais como condições climáticas e de vegetação local, entre outros, o que pode influenciar diretamente na constituição química da própolis (DE FIGUEIREDO et al., 2017; PORTILHO et al., 2013). Além disso, essas variações podem implicar na diminuição de alguns componentes biologicamente ativos e no aumento de outros (COSTA et al., 2013).

No presente estudo o extrato 1 (E₁) obteve a maior média para fenólicos de 47,02 mg de AGE.mL⁻¹, e o extrato 2 (E₂) apresentou o menor valor de 37,34 mg de AGE.mL⁻¹. No estudo de Alves e Kubota (2013), os autores avaliaram seis amostras de própolis comerciais, adquiridas em lojas de produtos naturais e farmácias na cidade de Santa Maria-RS, sendo cinco amostras de extratos etanólicos e uma de extrato aquoso, todas com concentração mínima de 11%, com exceção de uma amostra de extrato etanólico que continha 12%. O valor médio encontrado de fenólicos totais para o extrato aquoso foi de 5,39 mg de AGE.g⁻¹ de extrato, valor inferior aqueles encontrados em nosso estudo. Um fato importante a ser destacado, é que os autores não informaram o tipo de própolis analisado, sendo que no Brasil já foram identificados 13 tipos de própolis e cada um possui composição química predominante específica (SILVA, et al., 2008).

É importante ressaltar que os estudos encontrados na literatura para extratos aquosos comerciais de própolis verde ainda são muito escassos, dificultando a comparação dos resultados obtidos nesse estudo.

Salgueiro e Castro. (2016) analisaram 12 extratos etanólicos de própolis verde comerciais da cidade do Rio de Janeiro, e encontraram uma média de 40,5 a 1226,8 mg de AGE.g⁻¹. Entretanto, os extratos comerciais eram etanólicos, e tinham

concentração de 30% (m/v), o qual é quase 3x maior do que as amostras de extrato aquoso usadas nesse estudo.

Uma variação importante na composição química da própolis, está relacionada ao tipo de solvente utilizado para extração; sendo assim espera-se que extratos aquosos como os analisados no presente estudo, apresentem características diferentes com relação aos extratos etanólicos. Alguns autores como Cavalaro et al. (2019), concluíram que o uso de concentrações mais elevadas de etanol no processo de extração, aumentou os valores de compostos fenólicos e capacidade antioxidante nos extratos de própolis verde. Mouhoubi-Tafinine e colaboradores (2016) também avaliaram fenólicos totais de própolis provenientes da Argélia, extraídos com quatro tipos de solventes (água, etanol 50%, etanol 85% e metanol), e concluíram que os maiores valores de fenólicos foram obtidos em etanol 85% (53,51mg de AGE.g⁻¹) e o menor valor foi para extrato aquoso (1,71mg de AGE.g⁻¹), resultado bem inferior aos encontrados no nosso estudo. Hochheim et al. (2019) testaram três métodos de extração em amostras de própolis de Blumenau-SC, empregando diferentes solventes (metanólico, etanólico e aquoso), o extrato aquoso também apresentou valor inferior ao etanólico para fenólicos, com média de 11,96 mg de AGE.g⁻¹, e também o menor valor para flavonoides totais, com 3,67mg de EQ.g⁻¹.

Apesar de as variações na composição química e na atividade biológica da própolis estarem associadas ao seu tipo e origem geográfica (GALEOTTI et al., 2018), esse estudo mostrou resultados semelhantes à de outros autores que estudaram diferentes tipos de própolis, provenientes de outras regiões do Brasil. Franz et al. (2018) encontraram média para o teor de fenólicos de 37,97 a 67,42 mg de AGE.g⁻¹ e flavonoides 0,93 a 16,30 mg de EQ/g em própolis do Pantanal. Barbosa et al. (2016) apresentam valores de 6,39 a 40,80 mg de AGE.g⁻¹ para os teores de fenólicos totais e 0,37 a 3,41 mg de EQ.g⁻¹ de flavonoides na própolis de Roraima. Bittencourt et al. (2015) analisaram extratos etanólicos de própolis verde e a média de fenólicos variou de 31,85 a 204 mg de AGE.g⁻¹.

Os resultados de capacidade antioxidante dos extratos aquosos de própolis verde comerciais, foram diferentes dependendo do tipo de método utilizado (Tabela 3), sugerindo que o perfil de compostos bioativos presentes nos extratos são diferentes, e, portanto, atuam de formas distintas na neutralização de radicais livres do ABTS e DPPH, bem como na capacidade de redução dos íons ferro.

Não foram encontrados na literatura trabalhos sobre capacidade antioxidante para própolis aquoso verde na concentração de 11% p/v, empregando os mesmos métodos utilizados nesse estudo. No entanto, os extratos analisados nesse estudo apresentaram valores semelhantes a alguns estudos da literatura sobre outros tipos de própolis e de diferentes concentrações e regiões. Barbosa et al. (2016), avaliaram a capacidade antioxidante de extrato etanólico de própolis proveniente de Roraima, pelo método DPPH, e obtiveram valores médios de 27,01 a 85,89 $\mu\text{mol de Trolox.g}^{-1}$, sendo esse segundo valor próximo ao obtido pelo extrato 1 (E1) no nosso estudo. Valores entre 11,8 a 235,6 $\mu\text{mol de Trolox.g}^{-1}$ para o método DPPH e 25,5 a 439,2 $\mu\text{mol de Trolox.g}^{-1}$ para ABTS foram reportados por Calegari et al. (2017) em 15 amostras de extratos etanólicos de própolis do estado do Paraná. Esses resultados podem ser comparáveis aos valores encontrados nesse estudo (Tabela 3).

Oldoni et al. (2015) também analisaram extratos etanólicos de própolis provenientes do Paraná, e relatou valores menores do que os encontrados para as amostras analisadas nesse estudo para DPPH (31,6 a 58,2 $\mu\text{mol de Trolox.g}^{-1}$) e nos estudos acima mencionados. Esses valores sugerem que grandes variações para capacidade antioxidante podem ocorrer em extratos obtidos inclusive em amostras do mesmo estado. Em contrapartida, os dados encontrados na literatura para capacidade antioxidante pelo método FRAP, foram maiores do que os obtidos nesse estudo. No trabalho de Andrade et al. (2017), foram encontrados valores médios de 604,20 $\mu\text{mol de Trolox.g}^{-1}$ de própolis verde do Nordeste, e 2694,96 $\mu\text{mol de Trolox.g}^{-1}$ foram reportados por Skaba et al. (2013), em extratos etanólicos de própolis verde de Minas Gerais. No entanto, vale salientar que os estudos descritos anteriormente, utilizam extratos etanólicos da própolis bruta, com concentrações desconhecidas, portanto não são passíveis de comparação direta.

É interessante notar que o extrato 2 (E2) apresentou tanto a menor capacidade antioxidante para os três métodos avaliados, quanto o menor teor de fenólicos. Essa relação entre o teor de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante já foi relatada por vários autores, mostrando que o baixo teor de fenólicos totais do extrato 2, pode ter influenciado em sua menor capacidade antioxidante (DA SILVA et al., 2006; KALOGEROPOULOS et al., 2009; SIRIPATRAWAN; VITCHAYAKITTI; SANGUANDEEKUL, 2013; YANG et al., 2011).

Analisar amostras de extratos aquosos de própolis verde, que estão disponíveis no mercado é um destaque dessa pesquisa, visto que a maior parte dos pesquisadores utilizam extratos de própolis bruta, que não estão acessíveis aos consumidores.

7.2. Formulações de suco empregando extratos aquosos de própolis verde

Com relação aos resultados das formulações, já era esperado que a adição de própolis ao suco, poderia melhorar as propriedades bioativas em comparação com o controle, tendo em vista, o conteúdo significativo de compostos fenólicos e antioxidantes da própolis, encontrados no extrato aquoso verde e em muitos outros relatados na literatura. Os dados obtidos nesse estudo comprovam que as concentrações finais de própolis no suco (3,1; 4,6 e 6,1 mg/mL) influenciaram diretamente, de forma positiva, todos os parâmetros avaliados, melhorando o conteúdo de compostos bioativos e a capacidade antioxidante, mostrando assim seu potencial como suplemento alimentar, com propriedades benéficas à saúde. Nosso estudo corrobora com os resultados encontrados por Osés et al. (2016) que analisaram propriedades bioativas de mel com adição de própolis provenientes da Espanha, e concluíram que mesmo adicionando concentrações baixas como 0,1% de própolis, houve melhoria da capacidade antimicrobiana, antioxidante, e anti-inflamatória em comparação com os méis controles.

Os teores de fenólicos totais encontrados nas formulações, aumentaram significativamente em até 91%, comparados ao controle. Com relação ao teor de flavonoides, o suco empregado nesse estudo, não apresentou valores detectáveis por meio do método utilizado. No entanto, os teores para esse composto bioativo, aumentaram nas diferentes formulações do suco suplementado com própolis. Em conjunto, esses resultados mostram que um suco comercial pode ter suas propriedades nutricionais melhoradas com a adição de própolis em sua composição.

Osés et al. (2016), encontraram valores de fenólicos totais variando de 140 a 200 mg AGE.100 g⁻¹ e 2,5 a 10 mg EQ.100g⁻¹ para flavonoides, em méis contendo 0,1 a 0,5% de própolis. Valores semelhantes foram relatados por Juszczak et al. (2016) em estudo com mel suplementado com produtos apícolas. No caso do mel adicionado de própolis, os autores reportaram 114,82 mg AGE.100 g⁻¹ e 15,96 mg EQ.100g⁻¹. Os sucos elaborados nesse trabalho, contendo concentrações de própolis de 0,31 a 0,61%, apresentaram valores de 373 a 484 mg AGE.100 g⁻¹ e 14 a 21 mg

EQ.100g⁻¹, e, portanto, mais elevados que os produtos de mel suplementados com própolis.

Com relação à capacidade antioxidante, os valores das formulações de sucos variaram entre 1119,1 a 1706,7 $\mu\text{mol de Trolox.100mL}^{-1}$ pelo método ABTS (Tabela 5). Esses valores foram superiores aos reportados por Osés et al., (2016), que encontraram 131,6 a 470,0 $\mu\text{mol de Trolox.100mL}^{-1}$ para os méis com adição de própolis.

7.3. Análise sensorial das formulações de suco empregando extrato aquoso de própolis verde em diferentes concentrações

7.3.1. Primeira etapa do teste de aceitação sensorial

Na primeira etapa da análise sensorial não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as médias obtidas para os atributos das três formulações, que variaram entre 6,6 a 7,1 (Tabela 6). Ao avaliar a frequência do índice de aprovação, considerando escores entre 6 e 9 na escala, o atributo aparência recebeu a maior frequência para as formulações 1 e 2 com 85,3 e 87,2%, respectivamente, e o atributo sabor a maior frequência para a formulação 3 com 84,3% (Figuras 4-6). Contudo, o atributo sabor foi o que também recebeu a maior frequência do índice de rejeição para todas as formulações. Uma possível justificativa, seria que alguns consumidores, não gostavam do sabor da própolis e mencionaram esse fato na ficha de avaliação. Como não houve critério de exclusão, para participantes que não gostavam de própolis, isso pode ter contribuído para um índice maior de rejeição para o atributo sabor.

De acordo com Teixeira (1987), para que um produto seja considerado aceito em termos das propriedades sensoriais, é necessário que ele atinja uma frequência de aceitação de pelo menos 70% de acordo com os atributos avaliados. Como todas as formulações apresentaram valores superiores a 70% em todos os atributos, podemos inferir que todas as concentrações de própolis testadas, foram aceitas pelos provadores (Figura 4-6).

Poucos trabalhos foram encontrados utilizando a própolis como suplemento na elaboração de produtos alimentícios. Acredita-se que o maior empecilho para essa finalidade esteja diretamente associado ao sabor e aroma característicos da própolis, que podem alterar significativamente a aceitação sensorial dos produtos aos quais esse extrato será adicionado, dependendo da concentração utilizada.

Existem estudos mostrando que produtos alimentícios elaborados com própolis tiveram boa aceitação por parte dos consumidores. Chaves et al. (2016), elaboraram uma geléia *light* de abacaxi contendo 1,8 gramas de própolis em 100 gramas do produto, obtendo valores superiores a 79,0% para todos os atributos avaliados. Apesar dos autores não terem informado a concentração mínima de extrato seco da própolis comercial utilizada, esse trabalho mostrou que os atributos indesejados da própolis podem ser mascarados na formulação. Neves e Lima. (2010) elaboraram um néctar de acerola adicionado de extrato de própolis comercial, em concentrações de 0,5 a 10%, e observaram que apenas a bebida na concentração de 0,5% foi aceita pelos consumidores para todos os atributos avaliados. No entanto os autores não mencionam o tipo da própolis utilizada, nem a sua concentração inicial. Osés et al., (2016) testaram três concentrações diferentes (0,1; 0,3 e 0,5%), de extrato etanólico de própolis proveniente da Espanha, adicionados em méis. A amostra com própolis que mais atraiu os consumidores foi aquela contendo 0,1%, apesar de todas três terem sido aceitas de acordo com os autores.

Um fato importante à ser destacado, é que os produtos elaborados com própolis descritos anteriormente, são produtos com elevados teores de açúcares na composição, ao contrário das formulações elaboradas no presente estudo, que não possuem adição de açúcares, além daqueles contidos nas próprias frutas. Além disso, para ajudar a melhorar o sabor da própolis nas formulações, optamos por utilizar o edulcorante xilitol, podendo portanto, beneficiar pessoas com restrição de açúcares na dieta, como os portadores de diabetes.

Alguns pesquisadores investigaram o uso da própolis como conservante natural em alimentos, mostrando suas propriedades antimicrobianas, e também avaliando a aceitação dos consumidores. Luís-Villarroya et al., (2015) analisaram sucos de maçã comerciais com adição de própolis e relataram que além das amostras terem apresentado atividade antimicrobiana eficaz contra *Listeria monocytogenes*, os sucos com 0,05 e 0,1 mg/mL de própolis tiveram aceitação semelhante ao controle (sem adição de própolis). Contudo, a maior concentração (0,2 mg/mL) não foi bem avaliada. Gutiérrez-Cortés e Suarez Mahecha. (2014) avaliaram o potencial antimicrobiano de um extrato etanólico de própolis adicionado em salsichas com concentração de 0,8 mg/mL, e reportaram que as características sensoriais foram bem aceitas pelos consumidores, apesar de sugerido uma melhora na cor do produto.

Duman e Özpolat. (2015) adicionaram própolis em filés de peixes frescos nas concentrações 0,1, 0,3 e 0,5%, e identificaram que as amostras com extrato de própolis apresentaram de modo geral escores aceitáveis, com o benefício de prolongar a vida útil do produto em até 2 semanas com relação as amostras sem adição de própolis. Por outro lado, em um estudo sobre a avaliação sensorial de amostras de leite com própolis nas concentrações de 0,5 e 2,1%, apresentou resultado “nem gostou, nem desgostou” (Thamnopoulos et al., 2018); porém a adição de própolis no leite, inibiu o crescimento microbiano de *Listeria monocytogenes* satisfazendo o principal objetivo do estudo.

No que se refere à intenção de compra, a formulação 3 apresentou o melhor resultado entre as formulações. Os escores 4 e 5, utilizados como referência para intenção de compra positiva, totalizaram juntos 64,75% de aceitação dos participantes. Também foi possível observar que o número de indecisos, que não sabiam se comprariam os sucos, foi maior do que os participantes que sinalizaram intenção negativa de compra (escores 1 e 2).

7.3.2. Segunda etapa do teste de aceitação sensorial

Na segunda etapa, a apresentação aos participantes das informações sobre as propriedades funcionais e benefícios à saúde atribuídas à própolis e às frutas vermelhas, não resultou em aumento significativo das médias dos escores para os atributos; porém, a intenção de compra aumentou para todas as formulações. A formulação 3 se manteve com a melhor frequência de intenção de compra, entretanto, o maior aumento observado com relação a primeira etapa foi para a formulação 1, que passou de 49,02% de intenção de compra para 66,67%. Outro fato importante a ser destacado é que o número de indecisos e de intenção negativa diminuiu para todas as formulações. Isso sugere que o conhecimento sobre os benefícios à saúde reportados aos consumidores, influenciou positivamente na intenção de compra dos sucos suplementados com própolis, ou seja, os consumidores estariam dispostos a comprar e consumir o produto, pelas propriedades funcionais atribuídas à ele. Esse resultado também foi observado por Luis-Villaroya et al. (2015) em um estudo de avaliação sensorial em duas etapas (teste cego e com alegações funcionais) com amostras de suco de maçã comercial adicionado de própolis. Esses autores verificaram que após conhecer o conteúdo de própolis nas amostras, e seus

benefícios à saúde, a intenção de compra dos provadores aumentou em 22% para uma das concentrações testadas.

Esses resultados podem indicar que os benefícios à saúde atribuídos à própolis, podem ser justificáveis pela comercialização de produtos enriquecidos com própolis, como alimento funcional e com boas características sensoriais, atendendo as demandas dos consumidores (LUIS-VILLARROYA et al., 2015)

8 CONCLUSÃO

As amostras de própolis verde comerciais diferiram entre si quanto aos compostos fenólicos e a capacidade antioxidante, evidenciando as variações existentes na constituição química entre os diferentes extratos, até mesmo em amostras oriundas da mesma origem botânica e com a mesma concentração mínima declarada no rótulo. Essa variação é explicada por inúmeros fatores envolvendo região de coleta, época de colheita, bem como diferentes métodos de extração, uma vez que, por se tratarem de extratos comerciais, não há conhecimento à esse respeito.

Esse estudo é promissor em mostrar a aplicação de um extrato aquoso de própolis verde brasileira como suplemento alimentar, com finalidade de melhorar os compostos bioativos e antioxidantes em um suco de frutas vermelhas comercial, apresentando boa aceitação sensorial.

Os resultados mostraram a eficiência da própolis como aditivo em alimentos, sendo capaz de aumentar os compostos fenólicos e antioxidantes de um suco. Além disso, os atributos sensoriais das formulações foram bem aceitos pelos consumidores, mostrando que é possível encobrir características desagradáveis da própolis, em um produto que tenha boa aceitação como é o caso dos sucos de frutas.

O conhecimento dos benefícios à saúde atribuídos à própolis, influenciaram positivamente na intenção de compra dos sucos, mostrando que cada vez mais os consumidores estão dispostos a incluir alimentos não tradicionais na alimentação, pelos benefícios adquiridos.

Essas formulações podem atender tanto aos consumidores que buscam produtos industrializados mais saudáveis e com alegações funcionais, bem como o público com restrição ao consumo de açúcar, como por exemplo, os portadores de Diabetes.

Sendo assim, produtos com extrato aquoso de própolis verde, podem ser elaborados a fim de oferecer um alimento com alto teor nutricional e propriedades funcionais, sobretudo com características sensoriais que podem agradar aos consumidores.

REFERÊNCIAS

- ABE, Lucile Tiemi et al. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivar uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 394-400, junho de 2007.
- AGUIAR, G. R. et al. Estudo Químico e Avaliação Biológica da Própolis Vermelha de Alagoas. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 1, p. 2–12, 2018.
- ALBUQUERQUE, T. L. DE et al. **Biotechnological production of xylitol from lignocellulosic wastes: A review***Process Biochemistry*Elsevier Ltd, , 1 nov. 2014.
- ALTEMIMI, A. et al. Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. **Plants**, v. 6, n. 4, 2017.
- ALVES, C. Q. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202–2210, 2010.
- ALVES, E.; KUBOTA, E. H. Conteúdo De Fenólicos, Flavonoides Totais E Atividade Antioxidante De Amostras De Própolis Comerciais. **Revista de Ciências Farmaceuticas Basica e Aplicada**, v. 34, n. 1, p. 37–41, 2013.
- ANDRADE, J. K. S. et al. Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region. **Food Research International**, v. 101, n. August, p. 129–138, 2017.
- ARNOSO, B. J. DE M.; DA COSTA, G. F.; SCHMIDT, B. **Biodisponibilidade e classificação de compostos fenólicos**. **Nutr Bras**;18(1);39-48, 2019.
- ARRUDA, C. et al. Effect of light, oxygen and temperature on the stability of artepillin C and p-coumaric acid from Brazilian green propolis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 178, 2020.
- BANKOVA, V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, n. 1–2, p. 114–117, 2005.
- BANKOVA, V.; POPOVA, M.; TRUSHEVA, B. Propolis volatile compounds: Chemical diversity and biological activity: A review. **Chemistry Central Journal**, v. 8, n. 1, p. 1–8, 2014.
- BARBOSA, S. R. M. et al. Teor de fenólicos e atividade antioxidante de própolis em

áreas de floresta e savana de Roraima. **RCT: Revista de Ciência e Tecnologia**, v. 2, n. 3, 2016.

BARTH, O. M. et al. Botanical origin and Artepillin-C content of Brazilian propolis samples. **Grana**, v. 52, n. 2, p. 129–135, 2013.

BARTKIENE, E. et al. Variations of the antimicrobial, antioxidant, sensory attributes and biogenic amines content in Lithuania-derived bee products. **Lwt**, v. 118, n. May 2019, p. 108793, 2020.

BERMÚDEZ-SOTO, M. J.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. Evaluation of commercial red fruit juice concentrates as ingredients for antioxidant functional juices. **European Food Research and Technology**, v. 219, n. 2, p. 133–141, 2004.

BEZERRA, A. S.; STANKIEVICZ, S. A.; UCZAY, J. Composição nutricional e atividade antioxidante de plantas alimentícias não convencionais da região sul do Brasil. **Arquivos Brasileiros de Alimentação**, v. 1, n. 1, p. 182–188, 2017.

BHARGAVA, P. et al. Anticancer activity of the supercritical extract of Brazilian green propolis and its active component, artepillin C: Bioinformatics and experimental analyses of its mechanisms of action. **International Journal of Oncology**, v. 52, n. 3, p. 925–932, 2018.

BITTENCOURT, M. L. F. et al. Metabolite profiling, antioxidant and antibacterial activities of Brazilian propolis: Use of correlation and multivariate analyses to identify potential bioactive compounds. **Food Research International**, 2015.

BORGES, L.L. et al. Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais. **Enciclopédia Biosfera**, v. 7, n. 12, p. 1-20, 2011.

BURDOCK, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). **Food and Chemical Toxicology**, v. 36, n. 4, p. 347–363, 1998.

CALEGARI, M. A. et al. Propolis from southwest of parana produced by selected bees: Influence of seasonality and food supplementation on antioxidant activity and phenolic profile. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 1, p. 45–55, 2017.

CARVALHO, A. V.; DE ANDRADE MATTIETTO, R.; BECKMAN, J. C. Estudo da estabilidade de polpas de frutas tropicais mistas congeladas utilizadas na formulação

- de bebidas. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, p. 1–9, 2017.
- CAVALARO, R. I. et al. In vitro and in vivo antioxidant properties of bioactive compounds from green propolis obtained by ultrasound-assisted extraction. **Food Chemistry: X**, v. 4, n. April, p. 100054, 2019.
- CHAVES, A. et al. Desenvolvimento de geleia light de abacaxi com própolis. p. 70–88, 2016.
- CHEYNIER, V. et al. Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 72, p. 1–20, 2013.
- COQUEIRO, A.Y. et al. Creatina como antioxidante em estados metabólicos envolvendo estresse oxidativo. **Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício (RBPFE)**, v. 11, n. 64, p. 128-137, 2017.
- COSTA, A. S. et al. Levantamento dos estudos realizados com a própolis produzida no estado da Bahia. **Sitientibus série Ciências Biológicas**, v. 13, n. Bittencourt 2008, p. 1–7, 2013.
- COSTA, N. M. B.; ROSA, C. O. B. **Alimentos funcionais: componentes bioativos e efeitos fisiológicos**. Editora Rubio, 2016.
- DA SILVA, D. L. et al. Antioxidant capacity of Cerrado fruits. **Desafios-Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins**, v. 6, n. Especial, p. 127–133, 2019.
- DA SILVA, J. F. M. et al. Correlation analysis between phenolic levels of Brazilian propolis extracts and their antimicrobial and antioxidant activities. **Food Chemistry**, v. 99, n. 3, p. 431–435, 2006.
- DAI, J. et al. A comprehensive study of anthocyanin-containing extracts from selected blackberry cultivars: Extraction methods, stability, anticancer properties and mechanisms. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 4, p. 837–847, 1 abr. 2009.
- DALMOLIN, Cristina et al. Análise sensorial de um brownie sem glúten e sem lactose. **Disciplinarum Scientia| Saúde**, v. 20, n. 2, p. 295-303, 2019.
- DE ANDRADE LOPES, W.M. et al. Atuação do nutricionista na prevenção e controle da hipertensão arterial sistêmica e do diabetes mellitus. **Brazilian Journal of Health**

Review, v. 3, n. 1, p. 308-324, 2020.

DE-MELO, A. A. M. et al. Capacidade antioxidante da própolis. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 44, n. 3, p. 341–348, 2014.

DE FIGUEIREDO, S. M. et al. Physicochemical Characteristics of Brazilian Green Propolis Evaluated During a Six-Year Period. **Current Drug Discovery Technologies**, v. 14, n. 2, p. 127–134, 2017.

DE FRANCISCO, L. et al. Evaluation of radical scavenging activity, intestinal cell viability and antifungal activity of Brazilian propolis by-product. **Food Research International**, v. 105, n. August 2017, p. 537–547, 2018.

DE LARA, J. C. et al. Elaboração e aceitabilidade por atletas e desportistas de iogurte de quefir adicionado de caseína. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 13, n. 79, p. 312-320, 2019.

DE LIMA, D. R. F. et al. Avaliação das propriedades e potencialidades da própolis verde e sua fonte botânica baccharis dracunculifolia. **Revista Tecnologia e Tendências**, v. 10, n. 2, p. 93-110, 2019

DE MELLO SOUSA, Juliana Paes Leme. Estudo Químico e Potencial Antimicrobiano da Própolis Brasileira Produzida por Diferentes Espécies de Abelhas. **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 5, 2019.

DE MENDONÇA, I. C. G. et al. Brazilian red propolis: Phytochemical screening, antioxidant activity and effect against cancer cells. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 15, n. 1, p. 1–12, 2015.

DELGADO ARCAÑO, Y. et al. Xylitol: A review on the progress and challenges of its production by chemical route. **Catalysis Today**, 6 ago. 2018.

DRANCA, F.; OROIAN, M. Optimization of ultrasound-assisted extraction of total monomeric anthocyanin (TMA) and total phenolic content (TPC) from eggplant (*Solanum melongena* L.) peel. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 31, p. 637–646, 2016.

DUMAN, M.; ÖZPOLAT, E. Effects of water extract of propolis on fresh shibuta (*Barbus grypus*) fillets during chilled storage. **Food Chemistry**, v. 189, p. 80–85, 2015.

DZOYEM, J. P. et al. Antibacterial activity and cytotoxicity of flavonoids compounds

isolated from *Pseudarthria hookeri* Wight & Arn. (Fabaceae). **South African Journal of Botany**, v. 114, p. 100–103, 1 jan. 2018.

ELKHENANY, H.; EL-BADRI, N.; DHAR, M. Green propolis extract promotes in vitro proliferation, differentiation, and migration of bone marrow stromal cells. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 115, n. January, p. 108861, 2019.

FARAONI, A. S. et al. Propriedades reológicas de sucos mistos de manga, goiaba e acerola adicionados de fitoquímicos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 16, n. 1, p. 21–28, 2013.

FARIA, D.; ANJO, C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular Functional foods in angiology and vascular surgery. **J Vasc Br**, v. 3, n. 2, p. 145–54, 2004.

FERREIRA, T.C. et al. AÇÃO DE UM BOLO FUNCIONAL E UM CONVENCIONAL NA GLICEMIA PÓS-PRANDIAL DE DOCENTES. **Revista Eletrônica Estácio Saúde**, v. 8, n. 2, p. 31-38, 2019a.

FERREIRA, J. M.; NEGRI, G. Composição química e atividade biológica das própolis brasileiras: verde e vermelha. **ACTA Apicola Brasilica**, v. 6, n. 1, p. 06, 2019b.

FIGUEIREDO, S. et al. Immunomodulatory Properties of Green Propolis. **Recent Patents on Endocrine, Metabolic & Immune Drug Discovery**, v. 8, n. 2, p. 85–94, 2014.

FLOEGEL, A. et al. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 7, p. 1043–1048, nov. 2011.

FRANZ, G. M. et al. Análise polínica e compostos fenólicos de mel e própolis do Pantanal, Mato Grosso, Brasil. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 1, p. 13–25, 2018.

GALEOTTI, F. et al. Chemical composition and antioxidant activity of propolis prepared in different forms and in different solvents useful for finished products. **Foods**, v. 7, n. 3, 2018.

GRANATO, D. et al. Antioxidant activity, total phenolics and flavonoids contents: Should we ban in vitro screening methods? **Food Chemistry**, v. 264, n. October 2017, p. 471–475, 2018.

GREGOLIN, F. S. et al. The in vitro control of *Fusarium proliferatum* by propolis ethanolic extracts. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, n. 2, p. 456-463, 2019.

GUTIÉRREZ-CORTÉS, C.; SUAREZ MAHECHA, H. Antimicrobial activity of propolis and its effect on the physicochemical and sensoral characteristics in sausages. **Vitae**, v. 21, n. 2, p. 90–96, 2014.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **Journal of Nutritional Biochemistry**. Elsevier, 2002.

HEIMBACH, N. D. S. et al. Resíduo da extração de própolis como inibidor bacteriano in vitro. **Revista Brasileira de Saude e Producao Animal**, v. 17, n. 1, p. 65–72, 2016.

HENRIQUE, V. A. et al. Alimentos funcionais [e-book]: aspectos nutricionais na qualidade de vida. 1. ed., Aracaju: **Edifs**, 57 p, 2018.

HOCHHEIM, S. et al. Determination of phenolic profile by HPLC–ESI-MS/MS, antioxidant activity, in vitro cytotoxicity and anti-herpetic activity of propolis from the Brazilian native bee *Melipona quadrifasciata*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, 2019.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1821–1835, 2011.

JANIKUES, A.G.P.R. et al. Compostos fenólicos: possíveis aplicações na doença renal crônica. **Nutrire Rev. Soc. Bras. Aliment. Nutr**, p. 322-337, 2013.

JANSEN-ALVES, C. et al. Microencapsulation of Propolis in Protein Matrix Using Spray Drying for Application in Food Systems. **Food and Bioprocess Technology**, v. 11, n. 7, p. 1422–1436, 2018.

JUSZCZAK, L. et al. Antioxidant activity of honey supplemented with bee products. **Natural Product Research**, v. 30, n. 12, p. 1436–1439, 2016.

K. PARK, Y.; M. ALENCAR, S.; L. AGUIAR, C. Botanical Origin and Chemical Composition of Brazilian Propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 9, p. 2502–2506, 14 mar. 2002.

KALIL, M. A. et al. Brazilian Green Propolis as a Therapeutic Agent for the Post-surgical Treatment of Caseous Lymphadenitis in Sheep. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, n. November, p. 1–10, 2019.

KALOGEROPOULOS, N. et al. Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. **Food Chemistry**, v. 116, n. 2, p. 452–461, 2009.

KEDARE, S. B.; SINGH, R. P. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. **Journal of Food Science and Technology**, 2011.

KUBOTA, M. et al. Anthocyanins from the fruits of *Rubus croceacanthus* and *Rubus sieboldii*, wild berry plants from Okinawa, Japan. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 28, n. 2, p. 179–182, 2012.

LAMOUNIER, M. L. et al. Refrigerante de frutas vermelhas: desenvolvimento, teste físico-químico, microbiológico e sensorial. **Holos**, v. 3, p. 1–24, 2019.

LI, S. et al. Optical non-destructive techniques for small berry fruits: A review. **Artificial Intelligence in Agriculture**, 2019.

LIOBIKAS, J. et al. Anthocyanins in cardioprotection: A path through mitochondria. **Pharmacological Research**, v. 113, p. 808–815, 2016.

LIU, Q. et al. Comparison of antioxidant activities of different grape varieties. **Molecules**, v. 23, n. 10, p. 1–17, 2018.

LUIS-VILLAROYA, A. et al. Bioactive properties of a propolis-based dietary supplement and its use in combination with mild heat for apple juice preservation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 205, p. 90–97, 2015.

MACHADO, B. A. S. et al. 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**, v. 11, n. 1, p. 1–26, 2016.

MACHADO, P. G. et al. Elaboração de suco misto de frutas com potencial funcional e comparação com suco comercial “detox”. **Revista do Congresso Sul Brasileiro de Engenharia de Alimentos**, v. 3, n. 1, p. 01–07, 2018.

- MAKITA, C. et al. Comparative analyses of flavonoid content in *Moringa oleifera* and *Moringa ovalifolia* with the aid of UHPLC-qTOF-MS fingerprinting. **South African Journal of Botany**, v. 105, p. 116–122, 1 jul. 2016.
- MANUBOLU, M. et al. Protective effect of *Actinopterys radiata* (Sw.) Link. against CCl₄ induced oxidative stress in albino rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 153, n. 3, p. 744–752, 2014.
- MARQUETTI, C. et al. Jaboticaba skin flour: Analysis and sustainable alternative source to incorporate bioactive compounds and increase the nutritional value of cookies. **Food Science and Technology**, v. 38, n. 4, p. 629–638, 1 out. 2018.
- MERTZ, C. et al. Analysis of phenolic compounds in two blackberry species (*Rubus glaucus* and *Rubus adenotrichus*) by high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ion trap mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 21, p. 8616–8624, 2007.
- MILENE ANGELO, P.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1–9, 2007.
- MOJARAB, S. et al. Immune responses to HIV-1 polytope vaccine candidate formulated in aqueous and alcoholic extracts of Propolis: Comparable immune responses to Alum and Freund adjuvants. **Microbial Pathogenesis**, 2020.
- MOON, J. K.; SHIBAMOTO, T. Antioxidant assays for plant and food components. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 11 mar. 2009.
- MOREIRA, L. L. et al. Propolis influence on erythrocyte membrane disorder (hereditary spherocytosis): A first approach. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 2, p. 520–526, 2011.
- MOUHOUBI-TAFININE, Z.; OUCHEMOUKH, S.; TAMENDJARI, A. Antioxydant activity of some algerian honey and propolis. **Industrial Crops and Products**, 2016.
- MUSSATTO, S. I. Application of xylitol in food formulations and benefits for health. In: **D-Xylitol: Fermentative Production, Application and Commercialization**. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. p. 309–323, 2012.
- MUSSATTO, S. I.; ROBERTO, I. C. Xilitol: edulcorante com efeitos benéficos para a saúde humana. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 4, p. 401–

413, dez. 2002.

NEVES, M. V. M.; LIMA, V. L. A. G. Avaliação sensorial e caracterização físico-química de néctar de acerola adicionada de extrato comercial de própolis. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 21, n. 3, p. 399–405, 2010.

NIKI, E. Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. **Free Radical Biology and Medicine**. Pergamon, 2010.

OLDONI, T. L. C. et al. Chemical characterization and optimization of the extraction process of bioactive compounds from propolis produced by selected bees *Apis mellifera*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 10, p. 2054–2062, 2015.

ORSAVOVÁ, J. et al. Contribution of phenolic compounds, ascorbic acid and vitamin E to antioxidant activity of currant (*Ribes L.*) and gooseberry (*Ribes uva-crispa L.*) fruits. **Food Chemistry**, v. 284, p. 323–333, 30 jun. 2019.

OSÉS, S. M. et al. Bioactive properties of honey with propolis. **Food Chemistry**, v. 196, p. 1215–1223, 2016.

PAL, S.; MONDAL, A. K.; SAHOO, D. K. Molecular strategies for enhancing microbial production of xylitol. **Process Biochemistry**. Elsevier, 2016.

PASTOR, F. T. et al. Development of voltammetric methods for antioxidant activity determination based on Fe(III) reduction. **Microchemical Journal**, p. 104721, 11 fev. 2020.

PINHEIRO, A. M. et al. Avaliação química, físico-química e microbiológica de sucos de frutas integrais: Abacaxi, caju e maracujá. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 98–103, 2006.

PINHEIRO, R.C. et al. Produção de suco funcional de gengibre, maracujá, capim santo e inhame. In: **8th International Symposium on Technological Innovation**. 2017.

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, n. November 2018, p. 53–62, 2019.

PORSCH, L.; SIMAS, L. A. W.; GRANZOTI, R. O. C. Estresse oxidativo e o seu impacto no envelhecimento: uma revisão bibliográfica. **Brazilian Journal of Natural Sciences**, p. 80–86, 2019.

PORTILHO, R. et al. Valiação da atividade antibacteriana e antifúngica da própolis produzida no estado do Tocantins. **Revista Científica do ITPAC**, v. 6, n. 2, p. 5–12, 2013.

QUSA, M. H. et al. Novel olive oil phenolic (-)-oleocanthal (+)-xylitol-based solid dispersion formulations with potent oral anti-breast cancer activities. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 569, p. 118596, 5 out. 2019.

RAFFA, D. et al. Recent discoveries of anticancer flavonoids. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 142, p. 213–228, 2017.

RAZALI, S. A.; SHAMSIR, M. S. Characterisation of a catalytic triad and reaction selectivity in the dual mechanism of the catalyse hydride transfer in xylitol phosphate dehydrogenase. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 97, p. 107548, 1 jun. 2020.

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

REFOSCO, E. K. et al. Compostos fenólicos na alimentação e seus benefícios para a saúde : uma revisão. **Ciência Atual**, v. 13, n. 1, p. 2–9, 2019.

RIMBACH, G. et al. Anti-inflammatory properties of Brazilian green propolis encapsulated in a γ -cyclodextrin complex in mice fed a western-type diet. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 6, p. 1–14, 2017.

ROSA, E. C. C. C. et al. Avaliação do Estresse oxidativo e Lipoperoxidação(LPO)em pacientes com diabetes mellitus tipo 2 (DM2) tratados no Hospital Universitário de Brasília (HUB). **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 5, p. 4236–4256, 2019.

RUFINO, M. D. S. M. et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2006.

SADOWSKA-BARTOSZ, I.; BARTOSZ, G. Effect of antioxidants supplementation on

aging and longevity. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

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

SANCHO, R. A. S.; PASTORE, G. M. Alimentos Funcionais: a Revolução Silenciosa na Alimentação. **Revista Processos Químicos**, 10(19), 13-24, 2016.

SANTOS, A. F. et al. Efeito antioxidante da diosmina: revisão integrativa. **ABCS Health Sciences**, v. 43, n. 3, 2018a.

SANTOS, J. A. S. et al. Estudo do potencial antioxidante da *Anacardium occidentale* L. e determinação de seus compostos fenólicos. **Diversitas Journal**, v. 3, n. 2, p. 455, 2 set. 2018b.

SAVI, P. D. R. S. et al. Análise De Flavonoides Totais Presentes Em Algumas Frutas E Hortaliças Convencionais E Orgânicas Mais Consumidas Na Região Sul Do Brasil. **DEMETRA: Alimentação, Nutrição & Saúde**, v. 12, n. 1, p. 275–288, 2017.

SEIBERT, J. B. et al. Development of propolis nanoemulsion with antioxidant and antimicrobial activity for use as a potential natural preservative. **Food Chemistry**, 2019.

SILICI, S.; KARAMAN, K. Inhibitory effect of propolis on patulin production of *penicillium expansum* in apple juice. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 38, n. 3, p. 1129–1134, 2014.

SILVA, A. C. C. et al. Alimentos contendo ingredientes funcionais em sua formulação: revisão de artigos publicados em revistas brasileiras. **Conexão Ciência (Online)**, v. 11, n. 2, p. 133–144, 2016.

SILVA, B. B. et al. Chemical composition and botanical origin of red propolis, a new type of Brazilian propolis. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 5, n. 3, p. 313–316, 2008.

SILVA, L. A. DA et al. Atividade antioxidante do óleo essencial de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. por diferentes métodos de análises antioxidantes (ABTS, DPPH, FRAP, β -caroteno/ácido linoleico). **Revista Fitos**, v. 12, n. 2, 2018.

SILVA, R. W. V. DA et al. Uso da metodologia de superfície de resposta na otimização da extração de compostos fenólicos da casca dos frutos de *Hymenaea courbaril* L. (Jatobá). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 22, 2019.

SINGLETON, V.L; ROSSI, J. A. Colorimetria de fenólicos totais com reagentes de ácido fosfomolibdico-fosfotungstico. **American journal of Enology and Viticulture** , v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SIRIPATRAWAN, U.; VITCHAYAKITTI, W.; SANGUANDEEKUL, R. Antioxidant and antimicrobial properties of Thai propolis extracted using ethanol aqueous solution. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 1, p. 22–27, 2013.

SKABA, D. et al. Influence of the toothpaste with brazilian ethanol extract propolis on the oral cavity health. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013.

SOARES, D. J. et al. Desenvolvimento De Néctar Misto De Uva E Tangerina. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 16, n. 1, p. 1–10, 2014.

SRIDHAR, K.; CHARLES, A. L. In vitro antioxidant activity of Kyoho grape extracts in DPPH [rad] and ABTS [rad] assays: Estimation methods for EC 50 using advanced statistical programs. **Food Chemistry**, v. 275, p. 41–49, 1 mar. 2019.

STRINGUETA, P. C. et al. Public Health Policies and Functional Property Claims for Food in Brazil. In: **Structure and Function of Food Engineering**. InTech, 2012.

SUCUPIRA, N. R. et al. Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 14, n. 4, p. 263–269, 2012.

SUN, S. et al. Identification and determination of seven phenolic acids in brazilian green propolis by UPLC-ESI-QTOF-MS and HPLC. **Molecules**, v. 24, n. 9, p. 1–13, 2019.

TEIXEIRA, E; MEINERT, E.M; BARBETTA, P.A. **Análise sensorial de alimentos**. Editora da UFSC, 1987.

THAMNOPOULOS, I. A. I. et al. Inhibitory activity of propolis against *Listeria monocytogenes* in milk stored under refrigeration. **Food Microbiology**, v. 73, p. 168–176, 2018.

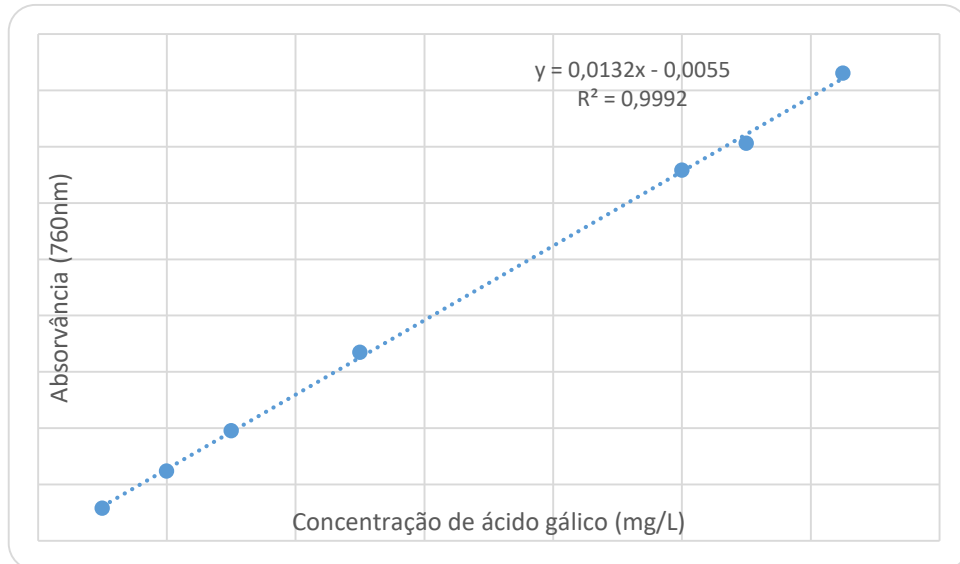
- TORETI, V. C. et al. Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013.
- TOUZANI, S. et al. In Vitro Evaluation of the Potential Use of Propolis as a Multitarget Therapeutic Product: Physicochemical Properties, Chemical Composition, and Immunomodulatory, Antibacterial, and Anticancer Properties. **BioMed Research International**, v. 2019, 2019.
- VACARO DE SOUZA, A. et al. Original Article Campinas, v. 21, e2017103. **J. Food Technol.**, v. 21, p. 2017103, 2018.
- VASCONCELOS, S. M. L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: Principais métodos analíticos para sua determinação. **Quimica Nova SBQ**, 2007.
- VEIGA, R. S. et al. Artepillin C and phenolic compounds responsible for antimicrobial and antioxidant activity of green propolis and *Baccharis dracunculifolia* DC. **Journal of Applied Microbiology**, v. 122, n. 4, p. 911–920, 2017.
- VETRANI, C. et al. Nutrition and oxidative stress: A systematic review of human studies. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 64, n. 3, p. 312–326, 2013.
- VIDAL, A. M. et al. A ingestão de alimentos funcionais e sua contribuição para a diminuição da incidência de doenças. **Cadernos de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 1, n. 15, p. 43–52, 2012.
- VIERA, V.B. et al. Preparation and microbiological analysis of Tuscan sausage with added propolis extract. **Food Science and Technology**, v. 36, p. 37-41, 2016.
- WOISKY, R. G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of apicultural research**, v. 37, n. 2, p. 99-105, 1998.
- YANG, H. et al. Antioxidant compounds from propolis collected in Anhui, China. **Molecules**, v. 16, n. 4, p. 3444–3455, 2011.
- YANG, W. et al. Preservation of orange juice using propolis. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 11, p. 3375–3383, 2017.

YOON, J. Y.; CHUNG, I. M.; THIRUVENGADAM, M. Evaluation of phenolic compounds, antioxidant and antimicrobial activities from transgenic hairy root cultures of gherkin (*Cucumis anguria* L.). **South African Journal of Botany**, v. 100, p. 80–86, 1 set. 2015.

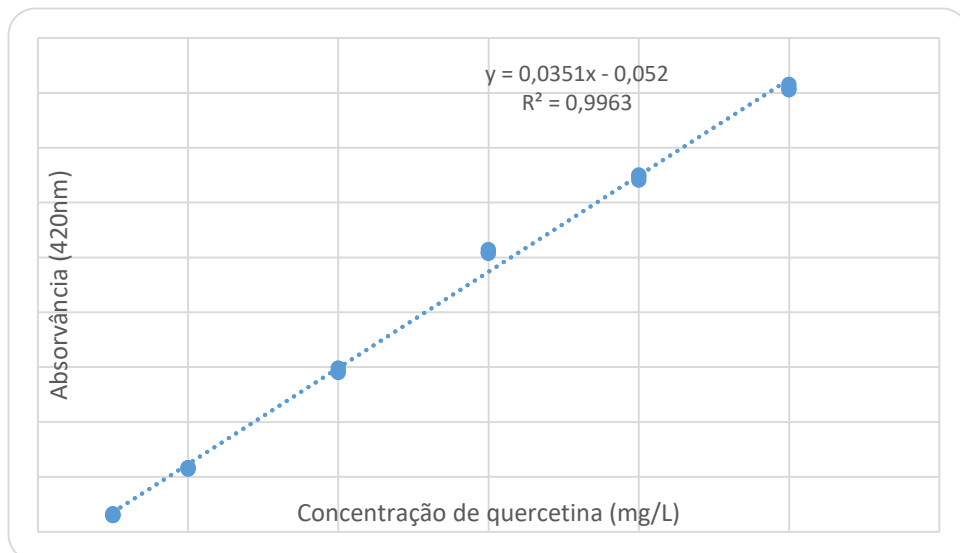
ZHANG, C. et al. Identification of Free Radical Scavengers from Brazilian Green Propolis Using Off-Line HPLC-DPPH Assay and LC-MS. **Journal of Food Science**, v. 82, n. 7, p. 1602–1607, 2017.

APÊNDICES

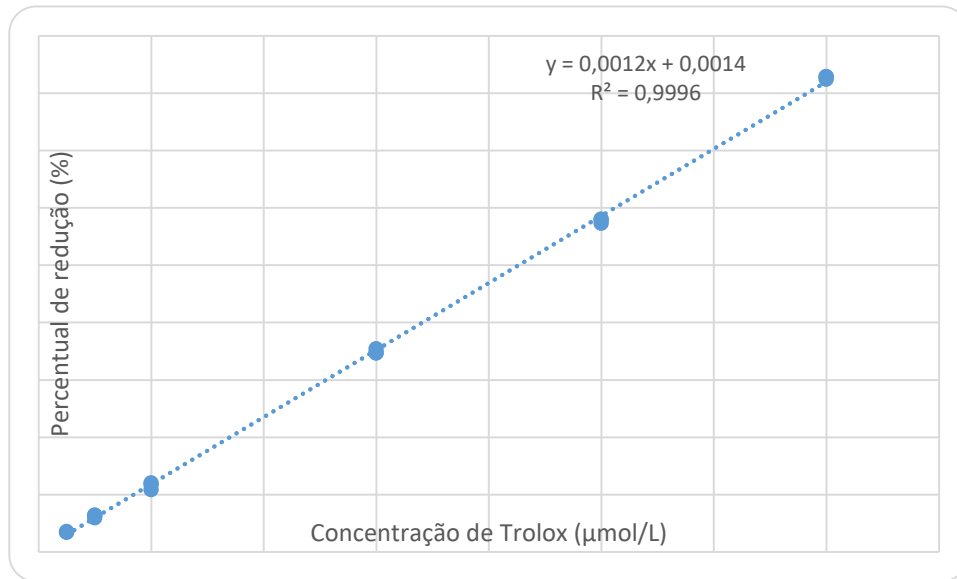
A- CURVA PADRÃO DE ÁCIDO GÁLICO PARA FENÓLICOS TOTAIS



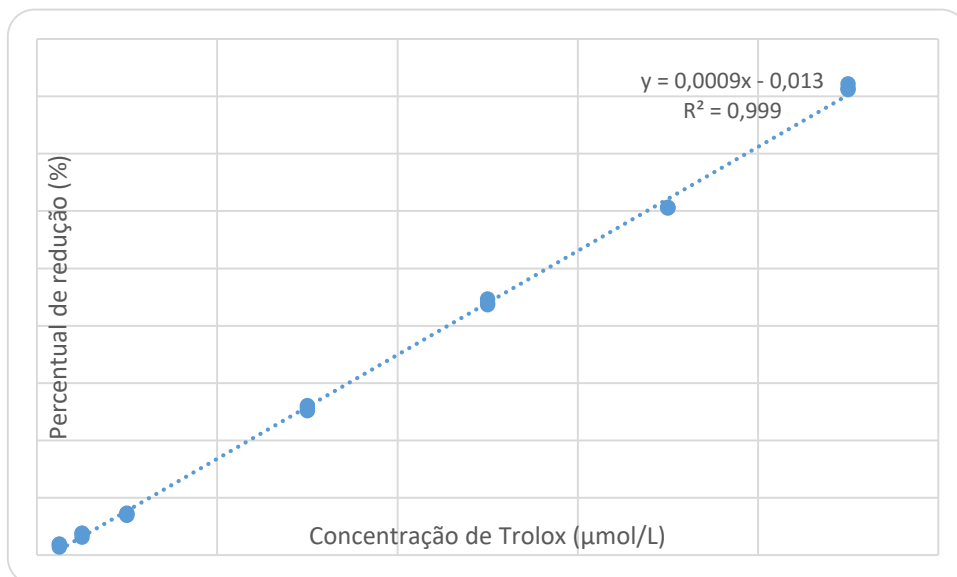
B- CURVA PADRÃO DE QUERCETINA PARA FLAVONOIDES TOTAIS



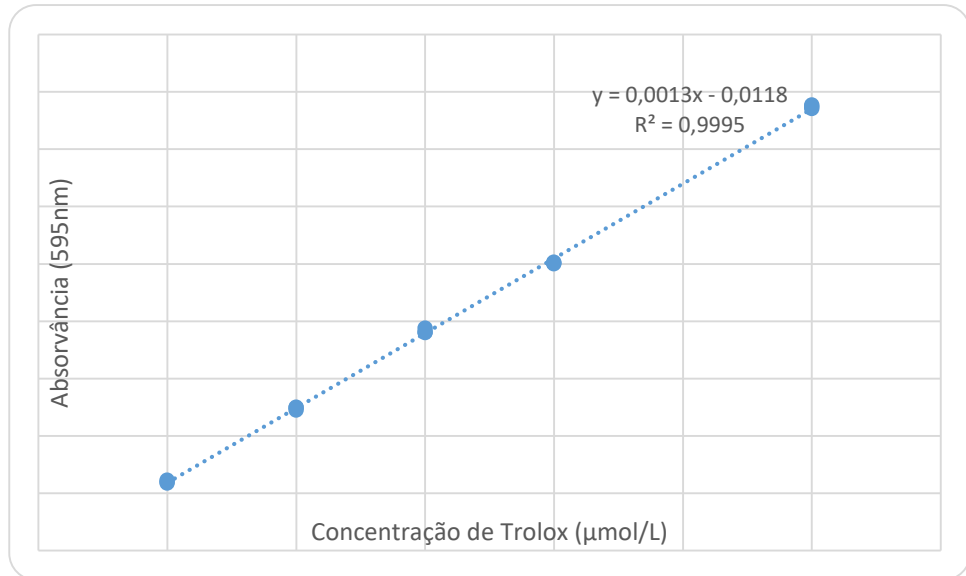
C- CURVA PADRÃO DE TROLOX PARA ABTS



D- CURVA PADRÃO DE TROLOX PARA DPPH



E- CURVA PADRÃO DE TROLOX PARA FRAP



F- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado(a) para participar, como voluntário(a), de uma pesquisa, onde Sônia Maria de Figueiredo e Maria Helena Brumano, são as pesquisadoras responsáveis. Após receber os esclarecimentos e as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento. Em caso de recusa, você não será penalizado(a) de forma alguma.

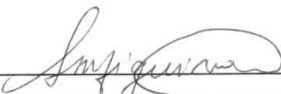
Em caso de dúvida sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com os pesquisadores responsáveis, Sônia Maria de Figueiredo nos telefones: (31) 98896-4089 e/ou com e/ou Maria Helena Brumano telefone (31) 99745-8680 e/ou Géssica Aparecida Lopes no telefone: (31) 98727-5480. Em casos de dúvidas sobre os seus direitos como participante nesta pesquisa (apenas para tratar de dúvidas éticas), você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Ouro Preto, no telefone: (31)3559 1368.

Informações importantes sobre a pesquisa: O projeto de pesquisa é intitulado “AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E ANTIOXIDANTES DE SUCO DE FRUTAS VERMELHAS SUPLEMENTADO COM PROPOLIS”. O objetivo principal do estudo é avaliar compostos bioativos e atividade antioxidante e características sensoriais de suco de frutas vermelhas suplementado com própolis. Sua participação no estudo será por meio da avaliação sensorial das formulações de sucos de frutas vermelhas com própolis. Para participar da pesquisa, você não poderá apresentar nenhuma doença que o impeça de consumir o produto ou que limite a sua capacidade de avaliação sensorial (como algum comprometimento nas vias aéreas respiratórias) ou caso tenha alergia ou intolerância ao própolis, deve evitar de participar do estudo. As amostras de sucos frutas vermelhas serão servidas com um volume de 20 mL e diante de qualquer sintoma indesejável relacionado à ingestão do produto, o pesquisador responsável te encaminhará para atendimento ambulatorial no Posto de Saúde localizado no Campus Universitário da UFOP ou para o Pronto Socorro da Santa Casa de Misericórdia de Ouro Preto, caso necessário. Um possível risco relacionado à sua participação na pesquisa é em relação à alergia ou intolerância à própolis ou às questões higiênico-sanitárias das amostras que serão avaliadas. Para garantir sua segurança, os produtos utilizados na análise sensorial serão produzidos por indivíduos capacitados e em condições de higiene e segurança conforme preconizado pela RDC 216 (BRASIL, 2004).

Não haverá despesas na sua participação da pesquisa e, portanto, não haverá nenhum tipo de ressarcimento, pagamento ou gratificação financeira. Todos os dados coletados serão mantidos em sigilo respeitando a privacidade dos sujeitos da pesquisa e ficarão arquivados na ENUT/UFOP por cinco anos e, posteriormente, serão picotados e descartados. Os dados obtidos serão de uso específico para os propósitos da pesquisa. É seu direito recusar-se a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado. Os resultados da pesquisa, sendo favoráveis ou não, serão apresentados em forma de dissertação e serão divulgados em eventos científicos e na forma de publicações de artigos científicos em periódicos indexados na área, sempre preservando a identidade e a privacidade dos provadores participantes. Deixamos claro que caso você retire o seu consentimento após o início da coleta de dados, os dados já coletados serão descartados.

Nome e Assinatura do participante _____

Ouro Preto, 23 de Outubro de 2019


 Orientadora: Prof.ª Sônia Maria de Figueiredo
 (31) 3559-1844 - DEALI/ ENUT/ UFOP

G- QUESTIONÁRIO APLICADO NA ANÁLISE SENSORIAL

ANÁLISE SENSORIAL DE SUCO DE FRUTAS VERMELHAS SUPLEMENTADO COM PRÓPOLIS

POR FAVOR, RESPONDA AS PERGUNTAS ABAIXO:

Nome:

Data: / /

Sexo: Masculino Feminino

Idade: 18 a 24 25 a 35 36 a 45 46 a 55 56 a 65 acima de 65 anos

Renda Familiar Mensal:

Até 1 salário mínimo Até 3 salários mínimos Até 4 salários mínimos Até 5 salários mínimos

6 ou mais salários mínimos

Escolaridade:

1º Grau incompleto (Ensino Fundamental) 1º Grau completo (Ensino Fundamental) 2º Grau incompleto (Ensino Médio) 2º Grau completo (Ensino Médio) Superior incompleto Superior completo Mestrado Doutorado Pós – Doutorado

Se escolaridade maior que ensino superior. Qual curso você formou ou está cursando?

Nível de preocupação com a saúde:

Nenhuma Pouca Média Muita

Você pratica alimentação saudável no seu dia a dia?

Não quase nunca às vezes Sim na maioria das vezes

Você sabe o que é um alimento funcional?

Sim Não

Se sim, você acha importante incluir alimentos funcionais na sua alimentação?

Sim Não

Você conhece, consome frutas vermelhas?

Sim, conheço e consumo Sim, conheço mas não consumo Não conheço.

Você conhece, consome Própolis?

Sim, conheço e consumo Sim, conheço mas não consumo Não conheço.

Obrigada pela sua participação!

H- FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL

AVALIAÇÃO SENSORIAL DE SUCOS DE FRUTAS VERMELHAS COM PROPOLIS

Nome:

Sexo: F () M ()

Faixa etária: ___ 18 a 24 ___ 25 a 34 ___ 35 a 44 ___ 45 a 54 ___ 55 a 64 ___ > 65 anos

Por favor, prove as amostras e avalie o quanto você gostou ou desgostou em relação aos atributos aparência, sabor, aroma, cor e impressão global.

- 9- Gostei extremamente
 8- Gostei muito
 7- Gostei moderadamente
 6- Gostei ligeiramente
 5- Indiferente
 4- Desgostei ligeiramente
 3- Desgostei moderadamente
 2- Desgostei muito
 1- Desgostei extremamente

Amostra n°	Aparência	Sabor	Aroma	Cor	Impressão Global

Intenção de Compra	Amostras n°	Escreva o número correspondente
1-Certamente não compraria		
2-Provavelmente não compraria		
3-Não sei se compraria		
4-Provavelmente Compraria		
5-Certamente Compraria		

Comentários: _____

I-FICHA INFORMATIVA DAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS DAS FRUTAS VERMELHAS

FRUTAS VERMELHAS

As Frutas vermelhas ou "berries", como morango, açaí, amora, mirtilo, cranberry, uva, entre outras, são ótimas opções para serem incluídas na alimentação cotidiana, devido à características nutricionais muito interessantes que elas apresentam. Elas possuem baixa quantidade de calorias, bom teor de fibras, baixo índice e carga glicêmica, fontes de vitaminas e minerais, compostos bioativos que são antioxidantes e ajudam no funcionamento do corpo, além de serem muito saborosas!

Esse grupo de frutas é fonte importante de compostos fenólicos, flavonoides como a antocianina e o resveratrol, também encontrado em outros alimentos como vinho tinto, cacau, e chás. Esses compostos possuem potente ação antioxidante no organismo, ajudando a combater os radicais livres e o envelhecimento celular, melhorar o sistema imunológico, prevenir doenças crônicas, reduzir risco de doenças cardiovasculares e melhorar o funcionamento do intestino.



J-FICHA INFORMATIVA COM PROPRIEDADES FUNCIONAIS DA PRÓPOLIS VERDE

PRÓPOLIS VERDE



A própolis é uma substância resinosa coletada de diversas partes das plantas por abelhas e misturada à cera, pólen e secreções salivares. A própolis verde é produzida a partir de uma planta conhecida popularmente por alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia*). Ela é usada em vários lugares do mundo onde é indicada para melhorar a saúde e prevenir doenças, e suas propriedades biológicas são amplamente estudadas pelo meio acadêmico e científico. Conheça alguns dos benefícios da própolis:

- ✓ **Ação antibacteriana:** É indicada para tratar doenças como amidalite, faringite, laringite, gengivite, estomatite, sinusite, bronquite, pneumonia, gripe, rinite entre outras;
- ✓ **Ação antifúngica:** É indicada para auxiliar no tratamento de diversos tipos de fungos, como candidíase, micoses e frieiras;
- ✓ **Ação antiviral:** Além de ser muito indicada para o tratamento de bactérias, a própolis verde pode ser muito eficiente para combater alguns tipos de vírus (como os que causam herpes, gripes, conjuntivite e dores de garganta);
- ✓ **Ação antioxidante:** A própolis age contra os radicais livres que causam o envelhecimento das células;
- ✓ **Ação anticancerígena:** o Artepellin C é responsável pelos benefícios na prevenção e em tratamentos de câncer. De acordo com estudos, essa substância pode auxiliar na inibição do crescimento de células tumorais e no aumento do número total de linfócitos, que indicam a ativação do sistema imune.



